

**SKRIPSI SARJANA FARMASI**

**PEFORMA KATEKIN (*Uncaria gambir* Roxb.) DAN PROPOLIS PADA  
MENCIT DALAM TITER ANTIBODI DENGAN VAKSIN H5N1**



*Oleh:*

***Annisia Oksa Wella Putri***

***NIM:1711011037***

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG**

**2021**

**PEFORMA KATEKIN (*Uncaria gambir* Roxb.) DAN PROPOLIS PADA  
MENCIT DALAM TITER ANTIBODI DENGAN VAKSIN H5N1**

*Oleh :*



**PADANG**

**2021**

## PERNYATAAN ORISINILITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Annisia Oksa Wella Putri

No. BP 1711011037

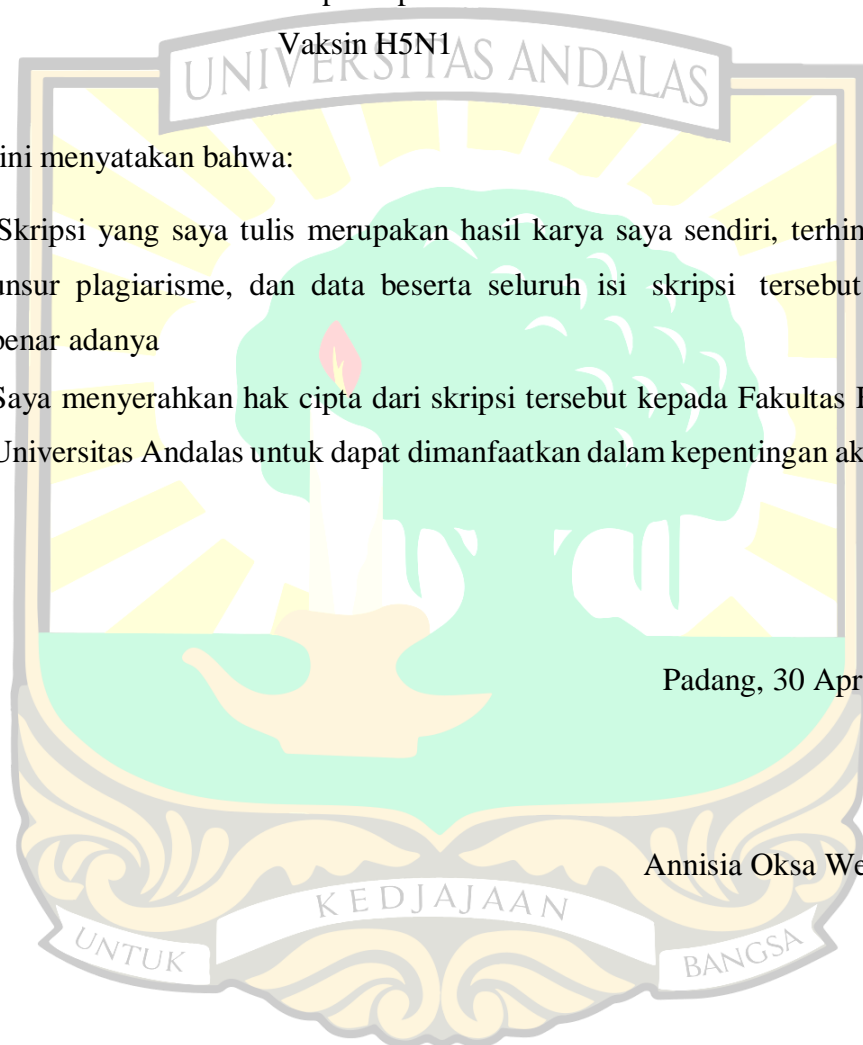
Judul Skripsi : Peforma Katekin (*Uncaria gambir* Roxb.) dan Propolis pada Mencit dalam Titer Antibodi dengan Vaksin H5N1

Dengan ini menyatakan bahwa:

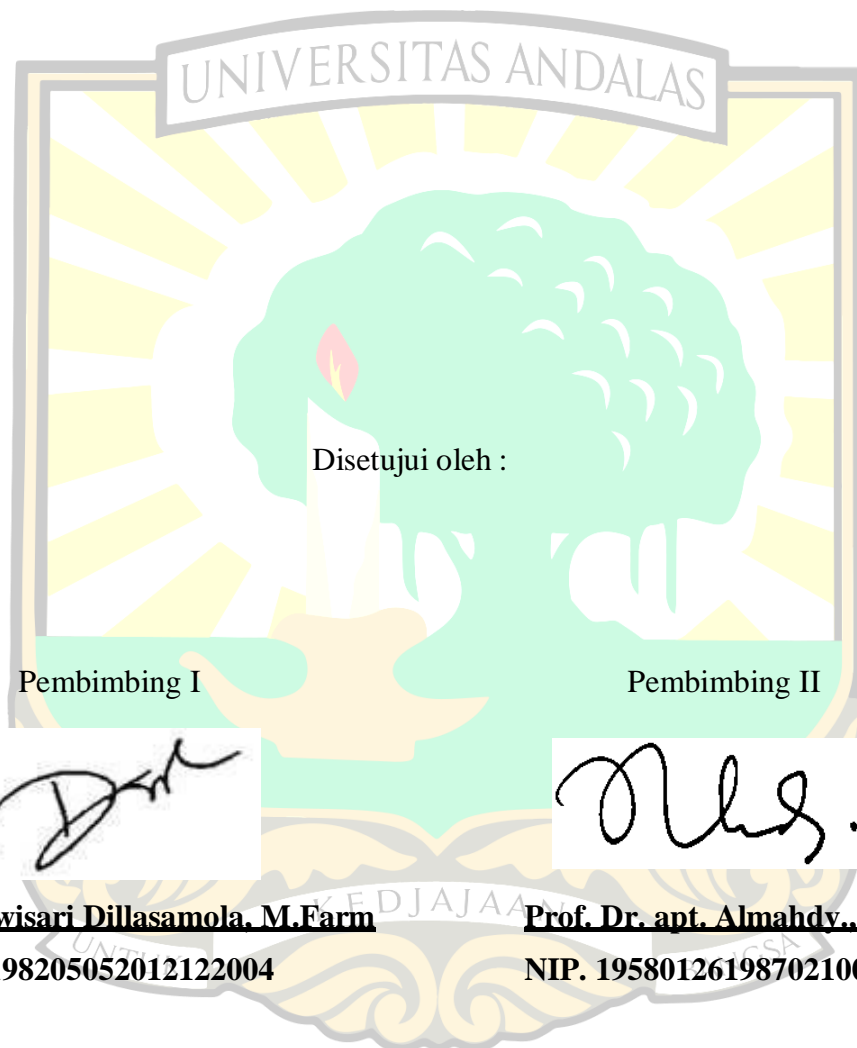
1. Skripsi yang saya tulis merupakan hasil karya saya sendiri, terhindar dari unsur plagiarisme, dan data beserta seluruh isi skripsi tersebut adalah benar adanya
2. Saya menyerahkan hak cipta dari skripsi tersebut kepada Fakultas Farmasi Universitas Andalas untuk dapat dimanfaatkan dalam kepentingan akademis

Padang, 30 April 2021

Annisia Oksa Wella Putri



**Skripsi ini diajukkan sebagai salah satu syarat untuk menempuh Seminar Hasil  
Penelitian Program Sarjana (S1) Farmasi pada Fakultas Farmasi  
Universitas Andalas  
Padang**








**Skripsi ini telah dipertahankan pada Seminar Hasil Penelitian**

**Fakultas Farmasi**

**Universitas Andalas**

**Padang**

**Pada tanggal : 18 Mei 2021**

No	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1	apt. Dedy Almasdy, M.Si, Ph.D  (Clin Pharm)	Ketua	
2	apt. Dwisari Dillsamola, M.Farm	Pembimbing 1	
3	Prof. Dr. apt. Almahdy A., M.Si	Pembimbing 2	
4	Prof. Dr. apt. Deddi Prima Putra	Anggota	
5	apt. Rahmi Yosmar, M.Farm	Anggota	

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamin, Segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi dengan judul **“PEFORMA KATEKIN (*Uncaria gambir* Roxb.) DAN PROPOLIS PADA MENCIT DALAM TITER ANTIBODI DENGAN VAKSIN H5N1”**. Skripsi ini disusun oleh penulis sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan program pendidikan Strata satu (S1) di Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang.

Penulisan skripsi ini tidak terlepas dari doa, bimbingan serta dukungan dari berbagai pihak yang telah memberikan dorongan dan motivasi kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini. Dalam skripsi ini, penulis menyadari bahwa dalam perencanaan, penulisan, pelaksanaan, dan sampai pada tahap penyelesaian melibatkan banyak pihak yang telah memberikan dorongan, bantuan dan motivasi kepada penulis. Untuk itu pada kesempatan kali ini izinkanlah penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Ibu apt. Dwisari Dillasamola M.Farm selaku pembimbing I dan Bapak Prof. Dr. apt. Almahdy selaku pembimbing II yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah berkenan meluangkan waktu, tenaga, memberikan bantuan, petunjuk, ilmu, nasehat, arahan serta bimbingan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
2. Ibu Prof. Dr. apt. Fatma Sri Wahyuni, Ph.D selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Andalas.
3. Ibu Prof. apt. Armenia, MS, Ph.D sebagai penasehat akademik yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah berkenan meluangkan waktu, tenaga, memberikan bantuan, petunjuk, ilmu, nasehat, arahan serta bimbingan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Bapak dan Ibu dosen pengajar, analis laboratorium dan seluruh civitas akademika Fakultas Farmasi Universitas Andalas yang telah membimbing dan membantu penulis selama mengikuti perkuliahan di Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang

5. Bapak Syafnir dan ibu Welyarnis selaku orang tua penulis, adik, serta seluruh keluarga tercinta yang selalu memberikan do'a, restu dan semangat kepada penulis dalam menempuh pendidikan, melakukan penelitian dan penulisan skripsi ini.
6. Rekan seperjuangan dalam penelitian Rafid, Bani, Hamimi di Laboratorium Imunologi dan Serologi, dan Laboratorium Farmakologi.
7. Sahabat terbaik tempat berkeluh kesah dan meminta saran terhadap masalah selama penelitian maupun diluar penelitian ordinary friends (Nina, Ayas, Pina, Kurnia), Ramza, Noveera, Bilqis, dan wanita tangguh (Mila, Cipa, Nyum, Naya, Maya).
8. Seluruh teman-teman, kakak-kakak, serta adik-adik mahasiswa Farmasi Universitas Andalas, khususnya angkatan 2017 (PHOSPHATE) yang selalu memberikan dukungan dan semangat untuk penulis.
9. Seterusnya kepada semua pihak yang telah membantu demi kelancaran penelitian dan penulisan skripsi ini.

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya atas semua bantuan dan dukungan yang telah diberikan. Semoga kebaikan semuanya menjadi amal shaleh dan bernilai pahala di sisi Allah SWT. Akhirnya dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran atas kekurangan dan ketidaksempurnaan skripsi ini. Semoga penelitian ini dapat bermanfaat dalam perkembangan ilmu pengetahuan, dan semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat serta karunia- Nya kepada kita semua.

Padang, 30 April 2021

Penulis

## ABSTRAK

### PEFORMA KATEKIN (*Uncaria gambir* Roxb.) DAN PROPOLIS PADA MENCIT DALAM TITER ANTIBODI DENGAN VAKSIN H5N1

Oleh :

ANNISIA OKSA WELLA PUTRI

NIM : 1711011037

(Program Studi Sarjana Farmasi)

Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) digunakan sebagai pengobatan tradisional untuk menyembuhkan penyakit disentri, luka bakar, sakit perut dan sakit gigi. Propolis juga bermanfaat berdasarkan penelitian medis untuk menyembuhkan luka dikulit, radang tenggorokan, kanker, TBC, dan kolesterol. Penelitian ini bertujuan untuk melihat adanya pengaruh dari gambir dan propolis yang disensitisasi dengan vaksin H5N1 dengan menggunakan metode titer antibodi. Dalam penelitian ini digunakan 20 ekor mencit jantan dan diberikan gambir terpurifikasi 200 mg/kgbb, gambir terpurifikasi 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb, vaksin H5N1, dan Na CMC 0,5%. Sediaan diberikan secara oral selama 14 hari berturut-turut. Pada hari ke dua puluh delapan ditentukan titer antibodi, persentase jenis, dan jumlah sel leukosit. Hasil penelitian menunjukkan kelompok Na CMC 0,5% adalah 1, vaksin H5N1 adalah 3,8, gambir terpurifikasi 200 mg/kgbb adalah 4,8, kombinasi gambir terpurifikasi 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb adalah 6. Dari 4 kelompok yang diberikan kombinasi gambir terpurifikasi 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb yang paling optimal dibandingkan dengan kelompok uji yang lain. Berdasarkan uji ANOVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji Duncan terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap titer antibodi, jumlah dan persentase jenis sel leukosit. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian gambir terpurifikasi dan propolis dapat meningkatkan titer antibodi, meningkatkan jumlah leukosit, dan meningkatkan persentase limfosit terhadap mencit putih jantan (*Mus musculus* L.).

Kata Kunci : *Uncaria gambir* Roxb, propolis, titer antibodi, leukosit, sensitisasi



## ABSTRACT

### PEFORMA KATEKIN (*Uncaria gambir* Roxb.) AND PROPOLIS ON MICE IN TITER ANTIBODIES WITH H5N1 VACCINE

By :

ANNISIA OKSA WELLA PUTRI

Student ID Number : 1711011037

(Bachelor of Pharmacy)

Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) is used as a traditional medicine to cure dysentery, burns, abdominal pain and toothache. Propolis is also useful based on medical research to heal skin wounds, laryngitis, cancer, tuberculosis, and cholesterol. This study aims to see the influence of gambir and propolis that are desensitized with H5N1 vaccine using titer antibody method. In this study used 20 men's mice and given mummified gambir 200 mg / kgbb, gambir verified 200 mg / kgbb + propolis 195 mg / kgbb, vaccine H5N1, and Na CMC 0.5%. Preparations are administered orally for 14 consecutive days. On the twenty-eighth day is determined titer antibodies, percentage type, and number of leukocyte cells. The results showed na cmc group 0.5% is 1, H5N1 vaccine is 3.8, gambir verified 200 mg/kgbb is 4.8, combination of gambir calcified 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb is 6. Of the 4 groups given a combination of 200 mg /kgbb + propolis 195 mg/kgbb calcified gambir the most optimal compared to other test groups. Based on the one-way ANOVA test and continued with Duncan's test there was a significant difference ( $p < 0.05$ ) to the titer of antibodies, the number and percentage of leukocyte cell types. From the results of the study can be concluded that the administration of muddy gambir and propolis can increase titer antibodies, increase the number of leukocytes, and increase the percentage of lymphocytes against male white mice (*Mus musculus* L.).

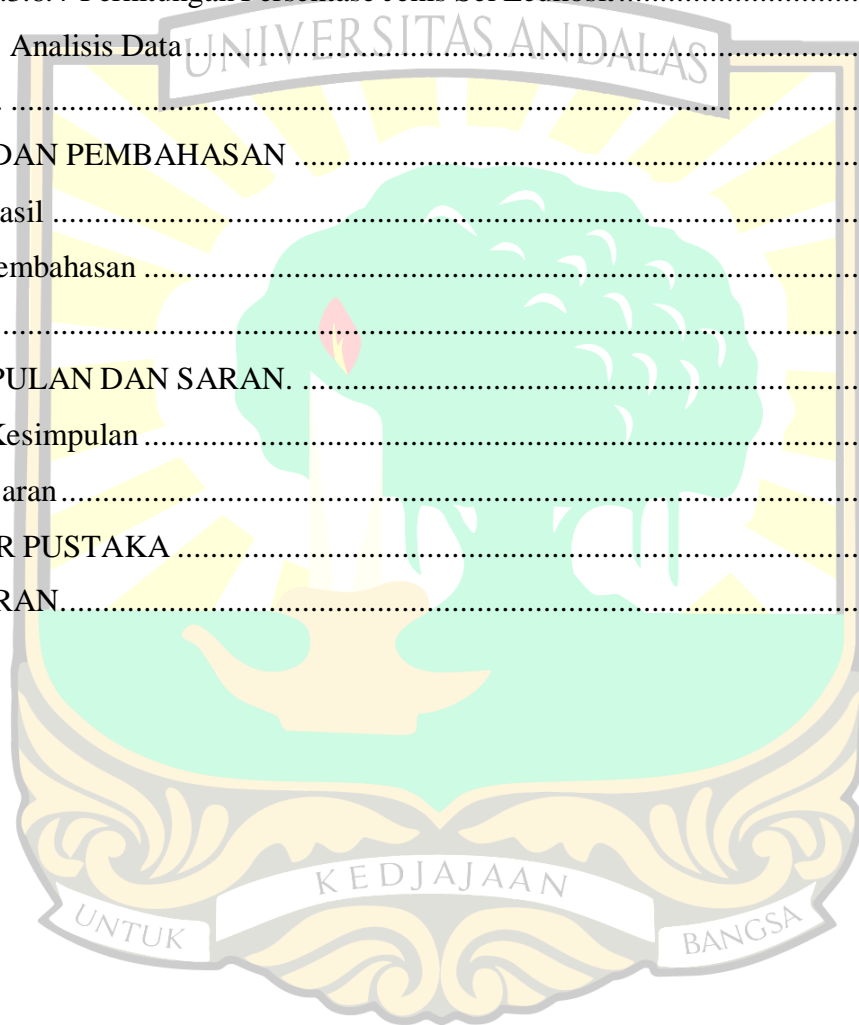
Keywords: *Uncaria gambir* Roxb, propolis, titer antibodies, leukocytes, sensitization

## DAFTAR ISI

PERNYATAAN ORISINILITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN PEMBIMBING.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN PENGUJI .....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRAK .....	vii
ABSTRACT .....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvi
BAB I .....	1
PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Hipotesa Penelitian .....	4
1.5 Manfaat Penelitian .....	4
BAB II.....	5
TINJAUAN PUSTAKA .....	5
2.1 Tinjauan Botani Katekin ( <i>Uncaria gambir</i> Roxb.) .....	5
2.1.1 Klasifikasi .....	5
2.1.2 Sinonim.....	5
2.1.3 Nama Daerah dan Nama Asing.....	6
2.1.4 Morfologi Tanaman.....	6
2.1.5 Penyebaran.....	6
2.1.6 Kandungan Kimia Pada Gambir.....	7
2.1.7 Manfaat Katekin dan Bioaktivitas .....	9
2.1.8 Gambir Terpurifikasi .....	10
2.2 Propolis .....	12

2.2.1 Sumber Propolis.....	12
2.2.2 Kandungan Propolis.....	13
2.2.3 Manfaat Propolis.....	13
2.3 Imunologi.....	14
2.3.1 Sistem Imun.....	14
2.3.2 Sistem Imun Non Spesifik.....	15
2.3.3 Sistem Imun Spesifik.....	16
2.3.4 Antibodi.....	18
2.3.5 Antigen dan Imunogen.....	19
2.4 Imunomodulator.....	20
2.4.1 Imunorestorasi.....	20
2.4.2 Imunosupresi.....	20
2.4.3 Imunostimulasi.....	20
2.5 Vaksinasi.....	21
2.5.1 Vaksin H5N1.....	21
2.5.2 Pengertian Avian Influenza H5N1.....	21
2.5.3. Morfologi Avian Influenza H5N1.....	21
2.5.4 Klasifikasi Avian Influenza H5N1.....	22
2.6 Mencit ( <i>Mus musculus L.</i> ).....	22
2.7 Uji <i>Haemagglutination Inhibition</i> (HI).....	23
2.8 Titer Antibodi.....	24
<b>BAB III.....</b>	<b>26</b>
<b>METODE PENELITIAN.....</b>	<b>26</b>
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	26
3.2 Alat dan Bahan.....	26
3.2.1 Alat.....	26
3.2.2 Bahan.....	26
3.2.3 Hewan Uji.....	27
3.3 Prosedur Kerja.....	27
3.3.1 Penyiapan Hewan Uji.....	27
3.3.2 Persiapan Gambir Terpurifikasi.....	27

3.3.3	Penentuan Dosis .....	27
3.3.4	Penyiapan Suspensi Gambir .....	28
3.3.5	Perlakuan Terhadap Hewan Uji.....	28
3.3.6	Pemeriksaan Titer Antibodi .....	29
3.3.6.1	Pembuatan Eritrosit Kambing .....	29
3.3.6.2	Pembuatan Titer Antibodi .....	29
3.3.6.3	Perhitungan Jumlah Total Sel Leukosit .....	29
3.3.6.4	Perhitungan Persentase Jenis Sel Leukosit.....	30
3.4	Analisis Data.....	30
BAB IV.	.....	31
HASIL DAN PEMBAHASAN .....		31
4.1	Hasil .....	31
4.2	Pembahasan .....	32
BAB V.....		38
KESIMPULAN DAN SARAN.....		38
5.1	Kesimpulan .....	38
5.2	Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA .....		39
LAMPIRAN.....		48

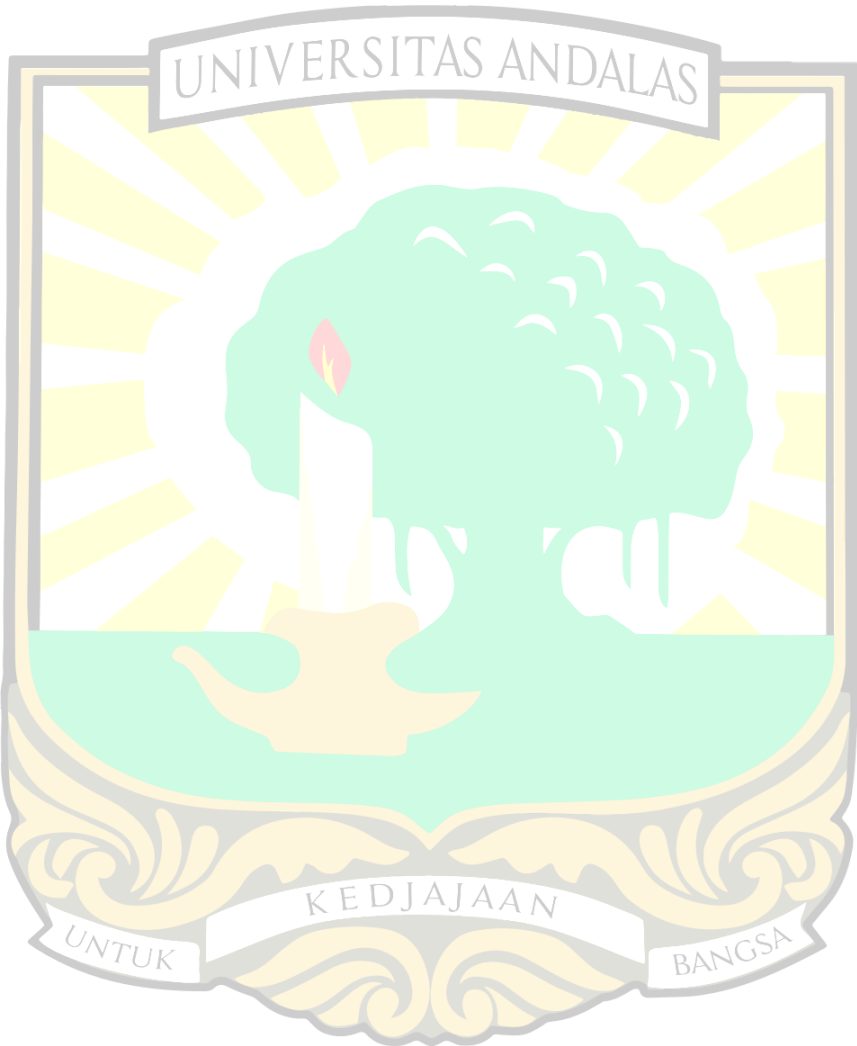


## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Gambir ( <i>Uncaria gambir</i> Roxb.) .....	5
Gambar 2. Struktur kimia katekin .....	8
Gambar 3. Sertifikat analisis gambir terpurifikasi.....	53
Gambar 4. Surat keterangan lolos kaji etik ( <i>Ethical clearance</i> ).....	54
Gambar 5. Grafik hasil penentuan titer antibodi dari serum mencit putih jantan.....	57
Gambar 6. Grafik persentase jenis leukosit pada mencit putih jantan.....	59
Gambar 7. Grafik total leukosit pada mencit putih jantan .....	67
Gambar 8. Serbuk gambir terpurifikasi.....	70
Gambar 9. Propolis .....	70
Gambar 10. Pemberian suspensi gambir terpurifikasi ( <i>Uncaria gambir</i> Roxb.) dan propolis pada hewan uji.....	70
Gambar 11. Hasil penentuan angka titer dengan blanko .....	70
Gambar 12. Hapusan darah untuk perhitungan persentase jenis leukosit .....	71
Gambar 13. Pengujian perhitungan total leukosit menggunakan alat hemasitometer .....	71
Gambar 14. Sel leukosit dalam kamar hitung hemositometer dilihat dengan mikroskop perbesaran 10x.....	71
Gambar 15. Sel neutrofil batang pada uji hapusan darah dilihat dengan mikroskop pada perbesaran 40x.....	71
Gambar 16. Sel limfosit pada uji hapusan darah dilihat dengan mikroskop pada perbesaran 40x.....	72
Gambar 17. Sel neutrofil segmen pada uji hapusan darah dilihat dengan mikroskop pada perbesaran 40x.....	72

Gambar 18. Sel eusinofil pada uji hapusan darah dilihat dengan mikroskop pada perbesaran 40x..... 72

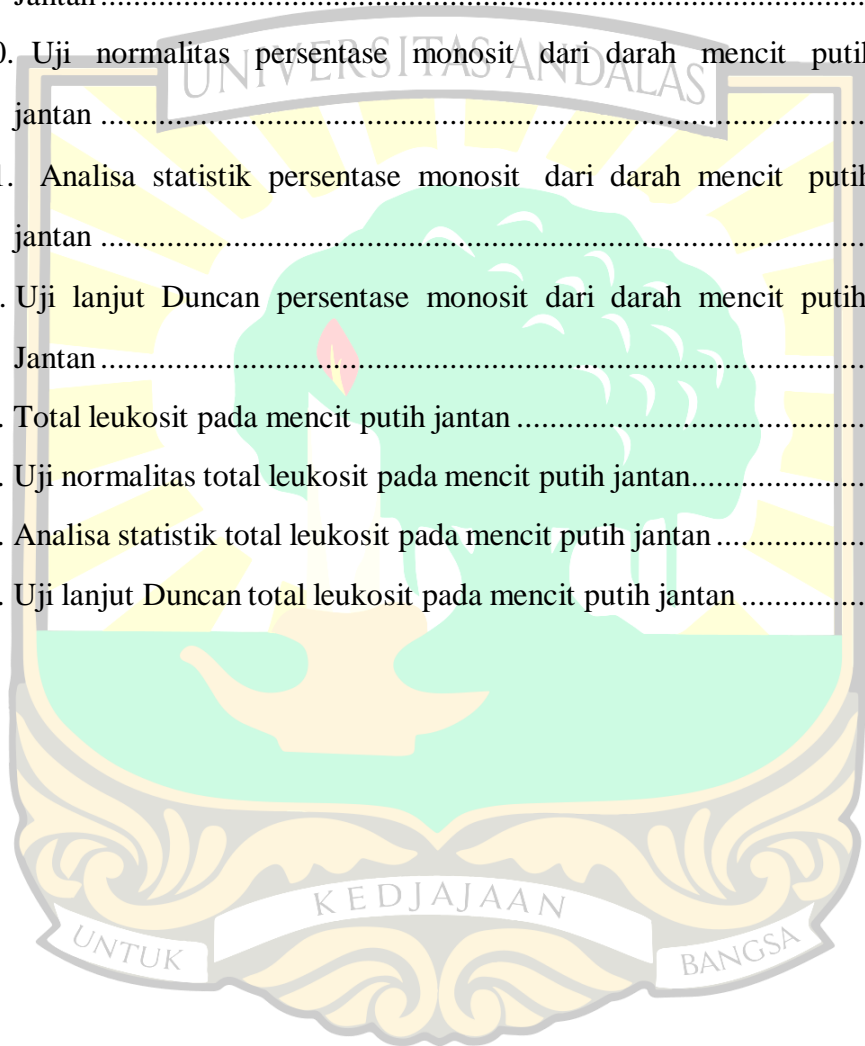
Gambar 19. Sel monosit pada uji hapusan darah dilihat dengan mikroskop perbesaran 40x..... 72



## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kandungan kimia gambir .....	8
Tabel 2. Spesifikasi gambir terpurifikasi.....	11
Tabel 3. Uji normalitas titer antibodi dari darah mencit putih jantan.....	55
Tabel 4. Analisa statistik titer antibodi dari serum mencit putih jantan.....	55
Tabel 5. Uji lanjut Duncan titer antibodi dari serum mencit putih jantan.....	56
Tabel 6. Hasil penentuan titer antibodi dari serum mencit putih jantan .....	57
Tabel 7. Persentase jenis leukosit pada mencit putih jantan .....	58
Tabel 8. Uji normalitas persentase limfosit dari darah mencit putih jantan .....	59
Tabel 9. Analisa statistik persentase limfosit dari darah mencit putih jantan .....	60
Tabel 10. Uji lanjut Duncan persentase limfosit .....	60
Tabel 11. Uji normalitas persentase neutrofil segmen dari darah mencit putih jantan .....	61
Tabel 12. Analisa statistik persentase neutrofil segmen dari darah mencit putih jantan .....	61
Tabel 13. Uji lanjut Duncan persentase neutrofil segmen dari darah mencit. putih jantan .....	62
Tabel 14. Uji normalitas persentase neutrofil batang dari darah mencit putih jantan .....	62
Tabel 15. Analisa statistik persentase neutrofil batang dari darah mencit putih jantan .....	63
Tabel 16. Uji lanjut Duncan persentase neutrofil batang dari darah mencit putih	

jantan .....	63
Tabel 17. Uji normalitas persentase eosinofil dari darah mencit putih jantan .....	64
Tabel 18. Analisa statistik persentase eosinofil dari darah mencit putih jantan .....	64
Tabel 19. Uji lanjut Duncan persentase eosinofil dari darah mencit putih Jantan .....	65
Tabel 20. Uji normalitas persentase monosit dari darah mencit putih jantan .....	65
Tabel 21. Analisa statistik persentase monosit dari darah mencit putih jantan .....	66
Tabel 22. Uji lanjut Duncan persentase monosit dari darah mencit putih Jantan .....	66
Tabel 23. Total leukosit pada mencit putih jantan .....	67
Tabel 24. Uji normalitas total leukosit pada mencit putih jantan.....	68
Tabel 25. Analisa statistik total leukosit pada mencit putih jantan .....	68
Tabel 26. Uji lanjut Duncan total leukosit pada mencit putih jantan .....	68





## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Penelitian Titer Antibodi.....	48
Lampiran 2. Data Hasil Penelitian.....	53
Lampiran 3. Hasil Titer Antibodi pada Mencit Putih Jantan.....	55
Lampiran 4. Persentase Jenis Leukosit pada Mencit Putih Jantan.....	58
Lampiran 5. Total Leukosit pada Mencit Putih Jantan.....	67
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian.....	70



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia sebagai salah satu negara dengan keanekaragaman hayati yang sangat melimpah dan merupakan peluang bagi para peneliti khususnya yang bergerak dalam bidang eksplorasi, inventarisasi dan perkembangan obat hayati dan nabati. Untuk menjelajah dan perkembangan obat hayati dan nabati dalam rangka menemukan obat bagi beberapa penyakit yang sampai saat ini belum ada obatnya (1).

Pemakaian obat tradisional masih banyak digunakan dalam meningkatkan kesehatan masyarakat di Indonesia. Meski sekarang sudah banyak orang menggunakan obat – obatan modern sebagai pelengkap tetapi obat tradisional masih mempunyai kedudukan khusus dalam masyarakat. Pengobatan secara tradisional berdasarkan pada upaya untuk mengembalikan dan memperkuat penyembuhan secara alami (2).

Pada dua dasa warsa terakhir, perhatian terhadap penggunaan obat-obat tradisional menunjukkan peningkatan, baik di negara berkembang maupun negara maju (3) . Organisasi kesehatan dunia (WHO) memperkirakan 60-80% populasi dunia mendapatkan perawatan medis dari tanaman herbal dan 65% dari penduduk negara maju telah menggunakan pengobatan tradisional (4).

Sistem imun merupakan suatu sistem yang berfungsi sebagai pencegah terjadinya kerusakan pada tubuh atau timbulnya penyakit (5). Fungsi utama sistem imunitas tubuh yaitu membedakan antara sel tubuh sendiri (*self*) dan sel yang berasal dari luar tubuh (*non-self*) (6). Bila sistem imun terpapar pada zat yang dianggap asing, maka ada dua jenis respon imun yang mungkin terjadi, yaitu respon imun nonspesifik dan respon imun spesifik. Respon imun nonspesifik umumnya merupakan imunitas bawaan (*innate immunity*) sedangkan respon imun spesifik merupakan respon didapat (*acquired*) atau sering disebut respon imun adaptif yang timbul terhadap antigen tertentu, karena tubuh pernah terpapar sebelumnya (7).

Imunitas adalah ketahanan tubuh atau resistensi tubuh terhadap suatu penyakit. Penyakit atau kuman ini berupa protein asing yang berbeda dari protein tubuh

manusia, dan sering disebut antigen. Antigen dianggap sesuatu yang asing, maka antigen ini harus disingkirkan, dinetralisir, atau dihancurkan (8).

Antibodi adalah bagian pertahanan tubuh yang digunakan untuk menghilangkan atau mengurangi zat asing yang masuk ke dalam tubuh. Mekanisme kerja antibodi dalam tubuh dimulai dengan diikatnya epitope (bagian antigen) oleh antibodi. Peningkatan respon terhadap antigen dilakukan dengan peningkatan titer antibodi (9). Titer antibodi adalah pengukuran tingkat kekebalan tubuh terhadap suatu penyakit yang beredar dalam darah. Titer biasanya dinyatakan dalam rasio, yang berapa kali bisa mengencerkan darah sampai tidak bisa menemukan antibodi lagi (10).

Pengendalian penyakit avian influenza melalui vaksinasi telah dilakukan, akan tetapi kasus penyakit avian influenza pada ternak unggas dan juga pada manusia masih selalu terjadi. Ini masih terjadi karena kegagalan vaksinasi. Kegagalan vaksinasi disebabkan berbagai faktor antara lain : faktor vaksinnya, pelaksanaannya (vaksinator), dan faktor hewannya (11). Vaksinasi adalah memasukkan antigen ke dalam tubuh organisme. Diharapkan muncul antibodi sehingga kebal terhadap suatu penyakit tertentu seperti jenis vaksin yang dipakai, yaitu vaksin H5N1 yang digunakan untuk vaksinasi pada unggas (12). Untuk menanggulangi hal tersebut, diberikan bahan yang bersifat sebagai imunostimulator, sehingga akan meningkatkan kekebalan (antibodi) pascavaksinasi (13) (14).

Imunomodulator merupakan substansi ataupun obat yang dapat memodulasi fungsi dan aktivitas sistem imun baik dengan cara merangsang ataupun memperbaiki fungsi sistem imun (15). Fungsi imunomodulator tersebut adalah memperbaiki sistem imun dengan cara mengembalikan fungsi sistem imun yang terganggu (imunorestorasi), menstimulasi sistem imun tersebut (imunostimulan) atau dengan menekan/menormalkan reaksi imun yang abnormal (imunosupresan) (7).

Propolis adalah bahan perekat atau resin yang dikumpulkan oleh lebah pekerja dari kuncup, kulit tumbuhan atau bagian-bagian lain dari tumbuhan (16). Resin atau getah inilah yang menjadi bahan dasar pembentuk propolis. Dengan bantuan air liur lebah, campuran ini dibuat menjadi lentur, inilah yang disebut propolis (16). Propolis

merupakan produk terpenting kedua setelah madu yang digunakan lebah sebagai komponen pertahanan, sistem imun eksternal dan antimikroba (17).

Propolis merupakan salah satu contoh imunomodulator alam yang banyak terdapat dan dibudidayakan di Indonesia. Secara kimia, propolis mengandung bahan kimia kompleks yang sangat kaya berbagai imunomodulator yang potensial berupa asam fenolat dan flavonoid yang memiliki banyak manfaat untuk meningkatkan aktivasi makrofag. *Cafeic Acid Phenethyl Ester* (CAPE) yang memiliki aktivitas sebagai imunomodulator juga terkandung didalamnya (18).

Salah satu bahan alami yang mempunyai sifat sebagai imunomodulator adalah tanaman gambir. Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) merupakan tumbuhan asli Asia Tenggara terutama pulau Sumatera dan dibudidayakan terutama di daerah Sumatera Barat (19). Bakhtiar (1991) menyatakan bahwa kandungan utama gambir adalah katekin (51%), zat penyamak (20-25%), asam kateku tanat, kuersetin, kateku merah, gambir floresen, abu, asam lemak, lilin, alkaloid, dan tanin. Sedangkan kandungan kimia gambir yang paling banyak dimanfaatkan adalah katekin dan tannin (20).

Penelitian yang berkaitan dengan aktivitas ekstrak gambir telah banyak dilakukan diantaranya gambir sebagai analgetik dan antiinflamasi (21), antimikroba (22), antinematoda (23) dan imunomodulator (24). Selain itu juga telah diteliti bahwa gambir dapat berfungsi sebagai antioksidan secara *in vivo* (25), efek toksik ekstrak gambir terhadap organ ginjal, hati dan jantung (26), antifeedan terhadap hama *Spodoptera litura* Fab. (27), dan sebagai antiseptik mulut (28). Dari aktivitas gambir tersebut sebagian besar disebabkan oleh katekin yang terkandung didalam gambir.

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai Performa katekin (*Uncaria gambir* Roxb.) dan propolis pada mencit dalam titer antibodi dengan vaksin H5N1. Dimana vaksin yang digunakan merupakan vaksin komersial yang mudah di dapatkan dipasaran.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ada pengaruh pemberian katekin (*Uncaria gambir* Roxb.) dan propolis terhadap titer antibodi mencit yang diberi antigen virus H5N1 ?

2. Apakah ada pengaruh pemberian katekin (*Uncaria gambir* Roxb.) dan propolis terhadap jumlah sel leukosit pada mencit yang diberi antigen virus H5N1 ?
3. Apakah ada pengaruh pemberian katekin (*Uncaria gambir* Roxb.) dan propolis terhadap persentase jenis sel leukosit pada mencit yang diberi antigen virus H5N1 ?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian katekin (*Uncaria gambir* Roxb.) dan propolis terhadap titer antibodi mencit yang diberi antigen virus H5N1.
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian katekin (*Uncaria gambir* Roxb.) dan propolis dapat meningkatkan jumlah sel leukosit pada mencit yang diberi antigen virus H5N1.
3. Untuk mengetahui pengaruh pemberian katekin (*Uncaria gambir* Roxb.) dan propolis dapat meningkatkan persentase jenis sel leukosit pada mencit yang diberi antigen virus H5N1.

### **1.4 Hipotesa Penelitian**

1. Pemberian katekin (*Uncaria gambir* Roxb.) dan propolis dapat meningkatkan aktivitas titer antibodi mencit yang diberi antigen virus H5N1.
2. Pemberian katekin (*Uncaria gambir* Roxb.) dan propolis dapat meningkatkan jumlah sel leukosit pada mencit yang diberi antigen virus H5N1.
3. Pemberian katekin (*Uncaria gambir* Roxb.) dan propolis dapat meningkatkan persentase jenis sel leukosit pada mencit yang diberi antigen virus H5N1.

### **1.5 Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai manfaat pemberian katekin (*Uncaria gambir* Roxb.) dan propolis terhadap titer antibodi mencit yang diberi antigen virus H5N1.

## BAB II TINJAUAN

### PUSTAKA

#### 2.1 Tinjauan Botani Katekin (*Uncaria gambir* Roxb.)

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Gentinales
Famili	: Rubiaceae
Genus	: <i>Uncaria</i>
Spesies	: <i>U. Gambir</i>
Nama Binomial	: <i>Uncaria gambir</i> Roxb (29).

##### 2.1.1 Klasifikasi



Gambar 1. Gambir(30).

##### 2.1.2 Sinonim

Beberapa sinonim atau nama lain dari gambir adalah : *Uncaria acida* Roxb, *Uncaria gambier* Thw, *Uncaria gambier* Wall, *Uncaria dasyoneura* Korth, *Nauclea gambir* Hunt, *Ourouparia gambir* Baill (31).

##### 2.1.3 Nama Daerah dan Nama Asing

Berikut adalah beberapa nama daerah dari gambir :

Sumatera	: Gambe (Aceh), Kacu (Gayo), Sontang (Batak), Gambe (Nias), Gambie (Minangkabau), Pagilom dan Sepelet (Lampung).
Jawa	: Santun (Jawa), Ghambir (Madura).
Nusa Tenggara	: Tagambe (Bima), Gamur (Sumba).
Kalimantan	: Kelare (Dayak), Abi (Kayan).
Sulawesi	: Gambere (Sangir). Gambele (Majene).
Maluku	: Gabi (Halmahera), Gambe (Ternate) (32).

Adapun nama gambir di beberapa negara adalah :

- Inggris : *Gambier, White cutch, Pale cateche.*  
Malaysia : *Gambir, Gambier, Kancu.*  
China : *Eer cha.*  
Perancis : *Catechu pallidum, Terra japonica, Gambier.*  
Jerman : *Catechu.*  
Portugal : *Katechu, gambir-catech.*  
Italia : *Catecu.*  
Spanyol : *Catecu* (33).

#### 2.1.4 Morfologi Tanaman

Gambir (*Uncaria gambir*) merupakan tanaman perdu, termasuk salah satu jenis tanaman famili Rubiaceae (kopi-kopian). Bentuk keseluruhan tanaman ini seperti pohon bougenvil, yaitu merambat dan berkayu (29).

Menurut Soedibyo (1998), gambir (*Uncaria gambir*) termasuk ke dalam famili Rubiaceae (kopi-kopian). Gambir merupakan tanaman perdu dengan tinggi 1-3 m. Batangnya tegak, bulat, percabangan sympodial, warna coklat pucat. Daunnya tunggal, berhadapan, berbentuk lonjong, tepi bergerigi, pangkal bulat, ujung meruncing, panjang 8-13 cm, lebar 4-7 cm, dan berwarna hijau. Bunga majemuk, bentuk lonceng, diketiak daun, panjang kurang 5 cm, mahkota 5 helai berbentuk lonjong, warna ungu. Buahnya berbentuk polong semu berpenampang hingga 2 cm dan penuh dengan biji-bijian halus yang berukuran  $\pm 1-2$  mm. Pada bagian luarnya terdapat sayap yang memungkinkan biji gambir tersebar karena angin (29).

#### 2.1.5 Penyebaran

Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) merupakan tumbuhan asli Asia Tenggara terutama pulau Sumatera dan dibudidayakan terutama di daerah Sumatera Barat (19).

Sumatera Barat dikenal sebagai daerah penghasil gambir, daerah yang paling banyak menghasilkan gambir adalah Kabupaten Lima Puluh Kota, Kecamatan Koto XI Tarusan Desa, Siguntur Muda, Kabupaten Pesisir Selatan (30). Saat ini diinformasikan

bahwa gambir tersebar di Malaysia (34) . Gambir tumbuh pada area terbuka di dalam hutan, kawasan hutan yang lembab, area terbuka bekas peladangan atau pinggir hutan pada ketinggian 200-900 meter di atas permukaan laut (35).

### 2.1.6 Kandungan Kimia Pada Gambir

Komponen utama gambir adalah *catechin* (asam catechin atau asam catechu) dan *catechin tannat* (*catechin anhydride*). Gambir juga mengandung sedikit *quercetine*, yaitu bahan pewarna yang memiliki warna kuning. *Catechin* bila mengalami pemanasan cukup lama atau pemanasan dengan larutan bersifat basa dengan mudah akan menjadi *catechin tannat*, karena kondensasi sendiri dan mudah larut dalam air panas (29).

Ekstrak (getah) dari daun dan ranting mengandung asam katechu tannat (tannin), katekin, pirokatekol, fluorescein, lilin, minyak lemak. Komponen utama gambir adalah katekin (7-33%) , asam katechu tannat (20-50%), dan pirokatekol (20-30%) (36). Adanya perbedaan kadar katekin pada gambir muda memiliki rendemen ekstrak lebih tinggi daripada daun tua (37).

Komponen yang terdapat dalam gambir yaitu *catechin* 7-33%, *red catechu* 3-5%, *quersetin* 2-4%, *fixed oil* 1-2%, lilin 1-2% dan sedikit alkaloid (38). Katekin ( $C_{15}H_{14}O_6$ ) merupakan ekstrak dari gambir yang berpotensi sebagai antinflamasi, antioksidan, antibakteri, antitumor, dan antivirus (39). Katekin terdiri dari katekin (C), epikatekin (EC), epikatekin galat (ECG), epigalokatekin (EGC) dan epigalokatekin galat (EGCG) (40).

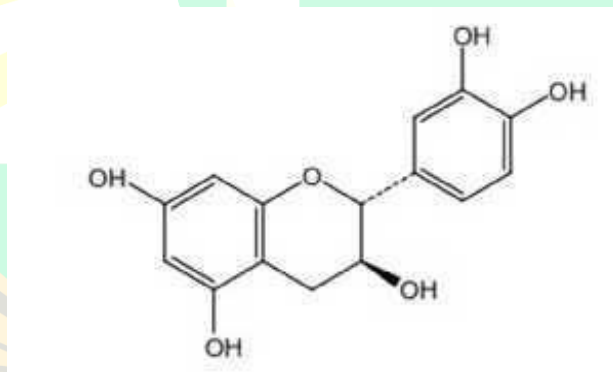
No	Nama Komponen	Persentase (%)
1	Catechin	7-33
2	Asam Catechu Tannat	20-55
3	Pyrocatechol	20-30
4	Gambir flouresensi	1-3
5	Catechu merah	3-5



6	Quersetin	2-4
7	Fixed oil	1-2
8	Lilin	1-2
9	Alkaloid	< 1

Tabel 1. Kandungan kimia gambir (41).

Katekin biasanya disebut juga dengan catechoat dengan rumus kimia ( $C_{15}H_{14}O_6$ ) tidak berwarna, dan dalam keadaan murni sedikit tidak larut dalam air dingin tetapi sangat larut dalam air panas, larut dalam alkohol dan etil asetat, hampir tidak larut dalam kloroform, benzen dan eter. Katekin merupakan senyawa polifenolik yang memiliki sifat tidak stabil jika disimpan terlalu lama, mudah teroksidasi oleh cahaya dan panas. Senyawa ini akan mudah terdegradasi jika berada pada pH lebih dari 6,5 dan merupakan senyawa yang sangat reaktif (42).



Gambar 2. Struktur kimia katekin (43).

Kandungan katekin total dari ekstrak gambir yang ada di Indonesia sangat bervariasi, berkisar antara 40 - 80%. Akan tetapi berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) untuk gambir dengan nomor SNI 01-3391-2000, kadar katekin total dalam gambir 40 - 60%, nilai patokan SNI kandungan katekin total gambir ini diambil dari kadar katekin total gambir yang umum di Payakumbuh, karena produk gambir dunia sekitar 90% berasal dari Payakumbuh (38).

Taniguchi *et al* (2008) menemukan 9 jenis katekin pada gambir, yakni, (+)-catechin, (-)-epicatechin Gambiriin A1, Gambiriin A2, Gambiriin B1, Gambiriin B2, Catechin-(4 $\alpha$ -8)-ent-epicatechin, Gambirflavan D1 dan Gambirflavan D2. Gambir selain mengandung (+)-katekin juga mengandung epikatekin gallat dan epigallokatekin gallat yang bersifat imunomodulator (44).

### 2.1.7 Manfaat Katekin dan Bioaktivitas

Salah satu tumbuhan yang memiliki antioksidan alami adalah gambir. Gambir merupakan hasil ekstraksi dari daun tanaman gambir (*Uncaria gambir* Roxb) yang mengandung senyawa polifenol. Senyawa polifenol yang terdapat diekstrak gambir ini adalah katekin yang berperan sebagai senyawa antimikroba dan antioksidan (43).

Heitzman (2004) melaporkan bahwa spesies gambir banyak digunakan sebagai obat tradisional termasuk untuk pengobatan luka dan tukak, demam, sakit kepala, penyakit gastrointestinal, dan infeksi akibat bakteri/jamur (45). Fungsi lain gambir adalah sebagai campuran obat, seperti sebagai luka bakar, obat kumur-kumur, obat sariawan, serta obat sakit kulit (dibalurkan) (37).

Di Indonesia gambir sering digunakan sebagai makanan pelengkap makanan, penyamak kulit dan pengobatan tradisional. Seiring dengan kemajuan teknologi saat ini gambir banyak dipergunakan secara luas dalam industri farmasi, kosmetik, pangan, tekstil serta tinta (46). Manfaat gambir secara tradisional adalah sebagai pelengkap makan sirih dan obat-obatan, seperti di Malaysia gambir digunakan untuk obat luka bakar, disamping rebusan daun muda dan tunasnya digunakan sebagai obat diare dan disentri serta obat kumur-kumur pada sakit kerongkongan. Secara modern gambir banyak digunakan sebagai bahan baku industri farmasi dan makanan, diantaranya bahan baku obat penyakit hati dengan paten "*catergen*", bahan baku permen yang melegakan kerongkongan bagi perokok di Jepang karena gambir mampu menetralkan nikotin. Sedangkan di Singapura gambir digunakan sebagai bahan baku obat sakit perut dan sakit gigi (47).

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Biswas (2002) terhadap senyawa ketekin total yang diisolasi dari tanaman *Azadirachta indica* (mimba)

mempunyai efek imunomodulator didapatkan kadar katekin besar dari 2,5%. Sedangkan penentuan kadar katekin total gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) oleh Angraini *et al* (2011) dijumpai kadar katekin total daun gambir sebesar 13,7% maka potensi gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) untuk imunomodulator jauh lebih besar dibandingkan *Azadirachta indica* (mimba) dengan rasio perbandingan (13,7 : 2,5) (48) (49).

Efek imunomodulator tablet hisap kombinasi ekstrak etanol 70% Daun Sirih (*Piper betle*.L) dan Gambir (*Uncaria gambir*. Roxb) terhadap orang sehat selama 7 hari. Hasil pemeriksaan terhadap CD4 memberikan hasil terjadinya peningkatan CD4 secara bermakna dibandingkan dengan kontrol normal diperoleh hasil uji T berbeda secara bermakna dibandingkan dengan kontrol normal ( $p \leq 0,05$ ). Penelitian ini menunjukkan bahwa tablet hisap daun sirih dan gambir juga punya potensi untuk melawan virus, yaitu dengan meningkatkan kadar CD4 (50).

Efek imunomodulator kombinasi katekin dari fase etil asetat gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) dan eugenol dengan metode bersihan karbon secara *in vivo*. Disimpulkan bahwa pada kombinasi katekin dari fase etil asetat gambir dan eugenol (perbandingan 1:2) dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB merupakan imunomodulator kuat (46).

Uji efek imunomodulator ekstrak air kombinasi daun sirih (*Piper betle*) dan gambir (*Uncaria gambir* Roxb) dengan pengukuran aktivitas dan kapasitas fagositosis bakteri *Staphylococcus epidermidis* serta pengaruhnya terhadap perubahan kadar enzim asam fosfatase pada sel makrofag peritonium mencit secara *in vivo*. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak daun sirih dan gambir memiliki efek imunomodulator pada dosis 200mg/kgBB (51).

### **2.1.8 Gambir Terpurifikasi**

Gambir terpurifikasi adalah ekstrak gambir yang mengandung  $\geq 90\%$  (+)-katekin dengan spesifikasi yang telah memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia. Spesifikasi gambir terpurifikasi adalah sebagai berikut.

Tabel 2. Spesifikasi Gambir Terpurifikasi (52).

Pengujian	Metode	Unit	Spesifikasi Persyaratan	Hasil
Warna	SNI 01-3391-2000		Cokelat muda sampai cokelat kekuningan	Cokelat muda
Bentuk	SNI 01-3391-2000			Serbuk
Kadar (+) - Catechin	SNI 01-3391-2000 Farmakope Herbal Indonesia Ed. I	%	Min 60% Min 90%	91,8%
Kadar air	SNI 01-3391-2000 dan SNI 01-2891-1992 Farmakope Herbal Indonesia Ed. I	%	Maks 14%	9,1%
Kadar abu	Farmakope Herbal Indonesia Ed. I	%	Maks 0,5%	0,3%
Kadar abu tidak larut asam	Farmakope Herbal Indonesia Ed. I	%	Maks 0,1%	0,07%
Bahan air tidak larut air	SNI 01-3391-2000	%	Maks 7%	0,4%
Bahan tak larut alkohol	SNI 01-3391-2000	%	Maks 12%	0,2%

\*) dihitung atas dasar berat kering

<b>Batch#</b>	<b>01</b>
Dikeluarkan	SEPT 2017
Diuji Kembali	SEPT 2020

## 2.2 Propolis

### 2.2.1 Sumber Propolis

Propolis merupakan zat resin yang berasal dari cairan pepohonan, dikumpulkan oleh lebah madu (*Apis mellifera* L.) untuk membangun dan memelihara sarangnya. Propolis telah diakui manfaatnya sebagai bahan pemelihara kesehatan dan obat alami yang aman sejak zaman Yunani dan Romawi kuno atau sekitar tahun 300 SM (53). Sifatnya pekat, bergetah, berwarna cokelat kehitaman mempunyai bau yang khas, dan rasa pahit. Lebah menggunakan bahan propolis untuk pertahanan sarang, mengkilatkan bagian dalam sarang dan menjaga suhu lingkungan. Bahan-bahan yang terkandung dalam propolis sangat kompleks, dan lebih dari 200 komponen telah teridentifikasi (54).

Salah satu jenis lebah yang mampu menghasilkan propolis dalam jumlah banyak yaitu jenis *Trigona* spp. Lebah madu ini termasuk kelompok serangga bangsa (ordo) *Hymenoptera* (bersayap bening) yang membesarkan anak-anaknya dengan serbuk sari dan madu (55). *Trigona* merupakan *Stingless bee*, mereka tidak memiliki sengat untuk mempertahankan diri, beberapa spesies *Trigona* mempertahankan koloninya dengan gigitan (56).

*Trigona* dapat ditemukan di Negara tropis seperti Malaysia, Filipina dan Indonesia, juga dapat ditemukan di Australia. *Trigona* menghasilkan madu yang rasanya asam. Orang Jawa menyebutnya madu lenceng sedangkan orang Sunda menyebutnya teuweul (55). Lebah *Trigona* menghasilkan lebih sedikit madu dan lebih sulit untuk diekstrak, namun jumlah propolis yang dihasilkan lebih banyak dibandingkan jenis lebah lainnya (56).

### 2.2.2 Kandungan Propolis

Menurut Wade (2005), propolis mengandung senyawa fenolik dan flavonoid untuk menghambat pelepasan histamine dengan cara stabilisasi selaput sel lipid. Komposisi kimia propolis, yaitu resin (45-55%) grup komponen flavonoid, asam fenolat dan esternya, lilin dan asam lemak (25-53%) grup komponen sebagian besar dari lilin lebah dan beberapa dari tanaman, minyak essential (10%) grup komponen senyawa volatile, protein (5%) grup komponen berasal protein kemungkinan berasal dari pollen dan amino bebas, senyawa organik lain dan mineral (5%) grup komponen 14 macam mineral (Fe dan Zn) sisanya seperti (Cs, Hg, La, dan Sb), dan senyawa organik lain seperti keton, laktan, kuinon, asam benzoate dan esternya, vitamin (B3) serta gula (57).

### 2.2.3 Manfaat Propolis

Propolis merupakan antibiotik karena mempunyai kandungan flavonoid, yaitu bahan aktif yang berfungsi sebagai antiperadangan dan antivirus. Ekstrak propolis dapat memacu aktifitas makrofag sehingga meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Propolis juga dapat berperan sebagai antitumor. Propolis dapat merangsang sistem kekebalan secara langsung dan melepaskan unsur yang merespon imunitas seluler melalui mekanisme fagositosis (6).

Krell (1996) menyatakan bahwa propolis dapat berfungsi memperbaiki kondisi patologi bagian tubuh yang sakit, bekerja sebagai antioksidan dan antibiotoik, serta meningkatkan sistem kekebalan tubuh baik humoral maupun seluler karena mengandung flavonoid sekitar 15% (57). Menurut Wade (2005) flavonoid merupakan antioksidan dan antibiotik yang berfungsi menguatkan dan mengantisipasi kerusakan pembuluh darah dan merupakan bahan aktif yang berfungsi sebagai antiperadangan dan antivirus (6).

Propolis merupakan salah satu contoh imunomodulator alam yang banyak terdapat dan dibudidayakan di Indonesia. Secara kimia, propolis mengandung bahan kimia kompleks yang sangat kaya berbagai imunomodulator yang potensial berupa asam fenolat dan flavonoid yang memiliki banyak manfaat untuk meningkatkan aktivasi makrofag. *Cafeic Acid Phenethyl Esther* (CAPE) yang memiliki aktivitas sebagai imunomodulator juga terkandung didalamnya (18).

## 2.3 Immunologi

### 2.3.1 Sistem Imun

Sistem imun dapat didefinisikan sebagai suatu proses dan mekanisme pertahanan tubuh atau disebut juga sistem limforetikular. Mekanisme pertahanan ini dibagi menjadi dua kelompok fungsional, yaitu pertahanan non spesifik dan spesifik. Pertahanan non spesifik meliputi kulit dan membran mukosa, mekanisme pertahanan ini merupakan bawaan (*innate immunity*) artinya pertahanan tersebut secara alamiah ada dan tidak adanya dipengaruhi secara intrinsik oleh kontak dengan agen infeksi sebelumnya (58).

Respon imun diperantarai oleh berbagai sel dan molekul terlarut yang disekresikan oleh sel-sel tersebut. Sel-sel utama yang terlibat dalam reaksi imun adalah limfosit (sel B, sel T, dan sel NK), sel fagosit (neutrofil, eosinofil, monosit dan makrofag), sel asesori (basofil, sel mast, dan trombosit), sel-sel jaringan. Bahan terlarut yang disekresi dapat berupa antibodi, komplemen, mediator radang, dan sitokin. Sel-sel lain dalam jaringan walaupun bukan merupakan bagian utama dari respon imun juga dapat berperan serta dengan memberi isyarat pada limfosit atau berespon terhadap sitokin yang dilepaskan oleh limfosit atau makrofag (59).

Respon imun bergantung pada kemampuan sistem imun untuk mengenali molekul asing (antigen) yang terdapat pada patogen yang akan memberikan reaksi yang tepat untuk menyingkirkan sumber antigen tersebut. Untuk memberikan respon imun ini, di dalam tubuh terdapat sistem limforetikuler. Sistem ini letaknya tersebar diseluruh tubuh, misalnya didalam sumsum tulang, kelenjar limfe, limpa, thymus, sistem saluran nafas, saluran cerna dan organ-organ lain. Rangsangan terhadap sel-sel tersebut terjadi apabila ke dalam tubuh masuk suatu zat yang oleh sel atau jaringan dianggap asing (60).

Fungsi utama sistem imunitas tubuh yaitu membedakan antara sel tubuh sendiri (*self*) dan sel yang berasal dari luar tubuh (*non-self*). Kemampuan untuk membedakan antara sel tubuh sendiri dengan sel yang berasal dari luar tubuh sangat penting dalam mempertahankan tubuh dari serangan mikroorganisme patogen ataupun keberadaan sel-sel yang tidak dikehendaki (61).

### 2.3.2 Sistem Imun Non Spesifik

Sistem imun non-spesifik merupakan pertahanan terdepan dalam menghadapi serangan berbagai mikroba dan dapat memberikan respon langsung (62).

Komponen-komponen utama sistem imun bawaan (non-spesifik) adalah pertahanan fisik dan kimiawi seperti epitel dan substansi antimikroba yang diproduksi pada permukaan epitel : berbagai jenis protein dalam darah termasuk di antaranya komponen-komponen sistem komplemen, mediator inflamasi lainnya dan berbagai sitokin, sel-sel fagosit yaitu sel-sel polimorfonuklear dan makrofag serta sel *natural killer* (NK). Salah satu upaya tubuh untuk mempertahankan diri terhadap masuknya antigen misalnya antigen bakteri adalah menghancurkan bakteri bersangkutan secara nonspesifik dengan proses fagositosis. Dalam hal ini leukosit yang termasuk fagosit memegang peran penting, khususnya makrofag demikian pula neutrofil dan monosit (63).

Salah satu upaya tubuh dalam mempertahankan diri terhadap masuknya benda asing (antigen) seperti antigen bakteri adalah menghancurkan bakteri tersebut secara nonspesifik dengan proses fagositosis, tanpa memperdulikan perbedaan-perbedaan kecil yang terdapat diantara substansi asing itu. Dalam proses ini leukosit yang termasuk fagosit memegang peran yang sangat penting, khususnya makrofag dan juga neutrofil serta monosit (63).

Terdapat beberapa pertahanan tubuh yang dapat dilakukan berdasarkan dengan proses sistem imun non spesifik tersebut, yaitu :

1. Pelindung Fisik : kulit dan mukosa dapat menghambat masuknya mikroorganisme. Kulit yang utuh menjadi salah satu garis pertahanan pertama karena memiliki sifat yang permeabel terhadap infeksi berbagai bentuk organisme.
2. Pelindung biologis : sekresi lisozim oral dalam tubuh.
3. Pelindung kimiawi : seperti pH asam dalam lambung, asam laktat dan sekresi sebasea dalam mempertahankan pH kulit dan menjadikanya tetap rendah sehingga sebagian besar mikroorganisme tidak mampu bertahan hidup dalam kondisi tersebut.



4. Mekanisme fisik yang mengeluarkan bakteri : aliran urin melalui saluran kemih, adanya reflex batuk, dan kerja mikrosilia mikroorganisme yang masuk melalui saluran nafas kemudian diangkut keluar oleh gerakan silia yang melekat pada sel epitel dan menurunkan resiko terjadinya multiplikasi bakteri.
5. Kompetisi dengan flora komensal : kolonisasi dengan flora bakteri normal pada bagian tubuh tertentu dapat mencegah kolonisasi mikroorganisme patogen yang masuk kedalam tubuh (64).

### **2.3.3 Sistem Imun Spesifik**

Sistem imun spesifik berbeda dibandingkan non-spesifik karena mempunyai kemampuan untuk mengenal benda yang dianggap asing bagi dirinya. Benda asing yang pertama kali terpapar dengan tubuh segera dikenal oleh sistem imun spesifik dan menimbulkan sensitisasi. Jika terpapar ulang, antigen tersebut akan dikenal lebih cepat dan kemudian dihancurkan (62). Berbeda dengan respon imun non spesifik yang sel-selnya dalam menghadapi antigen asing tidak memerlukan reseptor khusus, maka dalam respon imun spesifik ini diperlukan sel khusus (spesifik) dalam menghadapi antigen asing (9).

Terdapat empat ciri-ciri respon imun spesifik yang membedakannya dengan respon imun non-spesifik, yaitu:

1. Spesifisitas, respon imun dapat bereaksi seluruhnya dengan antigen yang identik atau dengan antigen yang sama seperti antigen terdahulu yang memicu terjadinya respon imun.
2. Heterogenitas, berbagai jenis sel dipengaruhi untuk berinteraksi dengan respon yang berbeda-beda, sehingga akan dihasilkan produk populasi sel yang berbeda pula sesuai dengan antigen yang berbeda.
3. Memiliki daya ingat atau memori, dengan cara melakukan proliferasi dan diferensiasi sel-sel imun yang telah disensitisasi bila terjadi pemaparan berikutnya terhadap antigen yang sama, dimana efeknya akan mempercepat dan memperbesar respon imun spesifik.

4. Pengenalan self-nonsel antigen, sistem imun spesifik hanya bereaksi terhadap antigen yang berasal dari luar tubuh dan tidak akan berpengaruh dan memberikan respon terhadap antigen yang berasal dari dalam tubuh sendiri (5).

Limfosit merupakan sel yang memainkan peranan penting dalam respon imun spesifik, karena sel ini mampu mengenali setiap antigen yang masuk ke dalam tubuh, baik yang terdapat pada intraseluler maupun ekstraseluler. Respon imun spesifik dimulai dengan aktivitas makrofag APC yang memproses antigen menimbulkan interaksi sistem imun spesifik. Kemudian sistem imun berproliferasi dan berdiferensiasi sehingga menjadi sel memiliki kompetensi imunologik dan mampu bereaksi dengan antigen (63).

Sistem imun spesifik terbagi menjadi 3, yaitu:

1. Sistem imun spesifik humoral

Pada sistem imun spesifik humoral, yang paling berperan yaitu limfosit B atau sel B. Sel B berasal dari sumsum tulang dan sel B akan berdiferensiasi ketika dirangsang oleh benda asing dan berkembang menjadi sel plasma yang memproduksi antibodi. Antibodi ini berfungsi sebagai pertahanan terhadap infeksi ekstraselular, virus, dan bakteri serta menetralkan toksinnya (62).

2. Sistem imun spesifik selular

Pada sistem imun spesifik selular, yang paling berperan yaitu limfosit T atau sel T. sel T berasal dari sumsum tulang dan berdiferensiasi di dalam kelenjar timus. Fungsi utama sistem imun spesifik selular ini adalah pertahanan terhadap bakteri yang hidup intraselular, virus, jamur, parasit dan keganasan (62).

3. Interaksi antara sistem imun humoral dan sistem imun selular

Interaksi ini disebut *antibody dependent cell mediated cytotoxicity* (ADCC). Hal ini terjadi karena sitolisis baru terjadi apabila dibantu oleh antibodi. Dalam hal ini antibodi berfungsi melapisi antigen sasaran (opsonisasi), sehingga sel NK (*natural killer*) yang mempunyai reseptor terhadap fragmen Fc antibodi tersebut dapat melekat pada sel atau antigen sasaran. Pengikatan sel NK melalui reseptornya pada kompleks

antigen-antigen mengakibatkan sel NK dapat menghancurkan sel sasaran. Penghancuran sel sasaran itu terjadi melalui pelepasan berbagai enzim, sitolisin, *reactive oxygen intermediates* dan sitokin, langsung pada sel sasaran (63).

#### 2.3.4 Antibodi

Antibodi atau immunoglobulin merupakan substansi pertama yang diidentifikasi sebagai molekul dalam serum yang mampu menetralkan sejumlah mikroorganisme penyebab infeksi. Molekul ini disintesis oleh sel B dalam 2 bentuk yang berbeda, yaitu sebagai reseptor permukaan (untuk mengikat oksigen), dan sebagai antibodi yang disekresikan ke dalam cairan ekstraseluler. Hingga sekarang dikenal 5 kelas utama immunoglobulin (Ig), yaitu IgG, IgA, IgM, IgD, IgE (63).

##### a. Ig G

IgG di dalam serum orang dewasa normal merupakan 75% dari immunoglobulin total, dan dijumpai dalam bentuk monomer. IgG merupakan immunoglobulin utama yang dibentuk atas rangsangan antigen. IgG dapat menembus plasenta dan masuk ke dalam peredaran darah janin. IgG paling mudah berdifusi ke dalam jaringan ekstraseluler dan melakukan aktivitas antibodi di jaringan. IgG pulalah yang umumnya melapisi mikroorganisme sehingga partikel itu lebih mudah difagositosis (63).

##### b. Ig A

Kelas immunoglobulin kedua terbanyak dalam serum adalah IgA yaitu 15% dari kadar immunoglobulin total. IgA terutama berfungsi dalam cairan sekresi dan diproduksi dalam jumlah besar oleh sel plasma dalam jaringan limfoid yang terdapat sepanjang saluran cerna, saluran nafas, dan saluran urogenital, karena itu IgA dapat dijumpai dalam saliva, air mata, kolostrum, dan juga dalam sekret bronkus, vagina, dan prostat (63).

##### c. Ig M

IgM merupakan immunoglobulin dengan ukuran paling besar. IgM terutama terdapat intravaskular dan merupakan 10% dari immunoglobulin total dalam serum.

IgM merupakan kelas imunoglobulin yang pertama dibentuk atas rangsangan antigen, tetapi respon IgM umumnya pendek yaitu hanya beberapa hari untuk kemudian menurun. Karena IgM tidak dapat menembus plasenta, adanya antibodi kelas IgM dalam darah bayi baru lahir menunjukkan bahwa IgM dibentuk oleh bayi sebagai respon terhadap infeksi (63).

d. Ig D

Konsentrasi IgD dalam serum hanya sedikit. IgD dapat dijumpai pada permukaan sel B, terutama pada sel B neonatus dalam jumlah lebih banyak dibandingkan konsentrasi dalam serum. Karena itu IgD diduga merupakan reseptor antigen pertama pada permukaan sel B, dan bahwa IgD berperan dalam mengawali respon imun. IgE dijumpai dalam serum dengan kadar amat rendah, dan hanya 0,0004% dari kadar imunoglobulin total. Selain itu IgE dapat dijumpai dalam cairan sekresi. Salah satu sifat penting dari IgE adalah kemampuannya melekat secara erat pada permukaan mastosit atau basofil melalui reseptor Fc. IgE dikenal sebagai reagen pada reaksi hipersensitivitas tipe segera (*immediate type*) (63).

### 2.3.5 Antigen dan Imunogen

Antigen adalah suatu substansi atau suatu zat asing yang berpotensi dan mampu merangsang timbulnya respons imun yang dapat dideteksi, respon tersebut dapat berupa respons imun seluler, respons imun humoral atau respons interaksi antara respons imun seluler dengan humoral. Karena sifat tersebut, maka antigen dapat disebut juga imunogen. Imunogen yang paling poten umumnya merupakan golongan makromolekuler protein, polisakarida atau polimer sintetik yang lain seperti poli vinil pirolidon (PVP) (65).

Imunogenisitas atau kemampuan dari imunogen dalam merangsang terbentuknya antibodi bergantung dari antigennya sendiri, bagaimana cara masuknya, individu yang menerima antigen tersebut, dan kepekaan metode yang dilakukan dalam upaya mendeteksi adanya respons imun (65).

## 2.4 Imunomodulator

Imunomodulator adalah substansi ataupun obat yang dapat memodulasi fungsi dan aktivitas sistem imun baik dengan cara merangsang ataupun memperbaiki sistem imun (15). Obat golongan imunomodulator bekerja menurut tiga cara, yaitu imunorestorasi, imunostimulasi dan imunosupresi. Imunorestorasi dan imunostimulasi disebut imunopotensiasi atau *up regulation* sedangkan imunosupresi disebut juga *down regulation* (5).

### 2.4.1 Imunorestorasi

Imunorestorasi ialah suatu cara untuk mengembalikan fungsi sistem imun yang terganggu dengan memberikan berbagai komponen sistem imun, seperti imunoglobulin dalam bentuk *immune serum globulin (ISG)*, *hyperimmune serum globulin (HSG)*, plasma dan transplantasi sumsum tulang, jaringan hati, timus, *plasmapheresis* (penghilangan plasma) dan *leukopheresis* (penghilangan leukosit) (5).

### 2.4.2 Imunosupresi

Imunosupresi merupakan suatu tindakan untuk menekan respon imun. Kegunaannya di klinik terutama pada transplantasi organ tubuh dalam usaha mencegah reaksi penolakan dan pada penyakit autoimun untuk menghambat pembentukan antibodi. Imunosupresan umumnya tidak ditujukan terhadap antigen spesifik, contohnya adalah steroid, azatioprin, siklofosfamid (5).

### 2.4.3 Imunostimulasi

Imunostimulasi adalah cara memperbaiki fungsi sistem imun dengan menggunakan bahan yang merangsang sistem imun. Imunostimulan adalah bahan obat yang dapat menstimulasi sistem imun nonspesifik pada sistem pertahanan tubuh. Bahan (imunostimulator) yang dibagi menjadi dua yaitu biologi dan sintetik. Imunostimulator biologi antara lain hormon timus, interferon, *antibody*. Imunostimulator sintetik seperti levamisol, isoprinosin, dan muramil *dipeptide* (5).

## 2.5 Vaksinasi

Vaksinasi adalah memasukkan antigen kedalam tubuh organisme (misalkan hewan ayam) diharapkan muncul antibodi sehingga ayam akan kebal terhadap suatu penyakit tertentu seperti jenis vaksin yang dipakai untuk vaksinasi (66).

Vaksinasi merupakan salah satu cara untuk mengurangi penyebaran virus ini, dimana host yang mempunyai titer kekebalan dapat menetralisasi jumlah virus yang masuk. Program vaksinasi yang sesuai dengan subtipe virus kasus lapang dilaporkan dapat menahan kematian dan sekresi virus (67).

### 2.5.1 Vaksin H5N1

Vaksin merupakan bahan antigenik yang digunakan untuk menghasilkan kekebalan aktif terhadap suatu penyakit sehingga dapat mencegah atau mengurangi pengaruh infeksi oleh mikroorganisme alami atau liar (68).

Vaksin Avian Influenza monovalen mengandung antigen virus influenza dengan level rendah atau antigen yang telah dilemahkan dari *starin* virus influenza dimana memiliki karakteristik yang sama untuk menanggulangi wabah serta dikombinasikan dengan adjuvan minyak dalam air, minyak emulsi, sterol serta *tocopherol*. Vaksin bivalen mengandung 2 *strain* virus avian influenza, sebagai contoh *strain* pertama memiliki hemaglutinin *subtype* H5 maka *strain* kedua menggunakan hemaglutinin *subtype* H7 dan salah satunya memiliki neuraminidase *subtype* N4 atau neuraminidase *subtype* N1 (68).

### 2.5.2 Pengertian Avian Influenza H5N1

Virus influenza merupakan virus RNA termasuk dalam famili *Orthomyxoviridae* (69).

### 2.5.3. Morfologi Avian Influenza H5N1

Bentuk dan ukuran virus influenza bersifat *pleiomorfik* (bentuk dan ukuran berubah-ubah), berbentuk filamen atau *sferoid* (bola) dengan diameter 80-120 nm (70).

Virus yang ditumbuhkan secara *in vitro*, karena pertumbuhannya yang cepat, sehingga lebih banyak berbentuk *sferoid* (bola) dengan diameter dan panjang yang konstan (71).

Virus influenza mempunyai amplop yang dilapisi protein matriks dengan glikoprotein integral yang menjulur keluar membentuk duri (*spike*) di permukaan *virion*. Virus yang berbentuk filamen lebih infeksius dan lebih banyak mengandung RNA dibanding virus berbentuk *sferoid* (72).

Asam nukleat virus ini berantai tunggal, terdiri dari 8 segmen gen yang mengkode sekitar 11 jenis protein. Virus influenza mempunyai selubung/simpai yang terdiri dari kompleks protein dan karbohidrat. Virus ini mempunyai tonjolan (*spikes*) yang digunakan untuk menempel pada reseptor yang spesifik pada sel-sel hospesnya pada saat menginfeksi sel. Terdapat 2 jenis *spikes* yaitu yang mengandung hemagglutinin (HA) dan yang mengandung neuraminidase (NA), yang terletak dibagian terluar dari *virion* (69).

#### **2.5.4 Klasifikasi Avian Influenza H5N1**

Virus ini dibagi menjadi influenza tipe A, B dan C berdasarkan perbedaan antigenik pada nukleoprotein (NP) dan matriks (M) (73). Namun, dari ketiga tipe tersebut hanya tipe A yang berpotensi menimbulkan pandemik (74). Influenza A dan B memiliki kemiripan biologis, antigenik, genetik dan struktur, namun cakupan hospes (*host range*), pola strategi dan evolusi kode genetiknya bervariasi (75). Influenza A dapat menginfeksi berbagai hewan dan manusia, serta dibagi menjadi beberapa subtipe antigenik. Influenza B hanya menginfeksi manusia dan tidak ditemukan menginfeksi hewan secara alamiah, serta tidak dibagi menjadi subtipe-subtipe antigenik. Virus Influenza B hanya bersirkulasi pada manusia, dan biasanya tidak menyebabkan penyakit sesakit akibat Influenza A. Sedangkan Influenza C, jarang ditemukan walaupun dapat menyebabkan infeksi pada manusia dan binatang. Jenis virus influenza B dan C jarang sekali atau tidak menyebabkan wabah pandemik (69).

#### **2.6 Mencit (*Mus musculus L.*)**

Klasifikasi dari mencit (*Mus musculus L.*) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia  
Filum : Chordata  
Sub filum : Vertebrata  
Kelas : Mamalia  
Ordo : Rodentia  
Famili : Muridaega  
Genus : Mus  
Spesises : *Mus musculus* L. (76).

Mencit (*Mus musculus* L.) adalah hewan pengerat (rodentia) yang sering digunakan sebagai hewan percobaan . Pemilihan mencit sebagai hewan percobaan karena cepat berkembang biak, mudah dipelihara dalam jumlah banyak, variasi genetiknya cukup besar, serta sifat anatomis dan fisiologisnya telah terkarakterisasi dengan baik. Organ reproduksi mencit jantan hampir sama dengan manusia (77).

Berat badan mencit jantan dewasa adalah 20-40 gram, sedangkan mencit betina dewasa berkisar antara 18-35 gram. Kematangan seksual antara mencit jantan dan betina berbeda. Mencit jantan mencapai kematangan seksual dalam usia 5-7 minggu, sedangkan pada mencit betina dalam usia 3 minggu. Dalam satu hari, seekor mencit dewasa membutuhkan 15 gram makanan dan 15 mL minuman per 100 gram berat badan (78).

## **2.7 Uji Haemagglutination Inhibition (HI)**

Uji *Haemagglutination Inhibition* (HI) adalah metode yang digunakan untuk mengetahui aktivitas imunoglobulin dalam serum hewan coba setelah pemberian ekstrak. Pengujian terhadap serum hewan coba ini dilakukan dengan menambahkan antigen yang sama. Interaksi antara antigen dengan antibodi menyebabkan terjadinya reaksi sekunder, yaitu berupa aglutinasi atau presipitasi sebab antigen merupakan partikel-partikel kecil yang tidak larut (79). Prinsip dari uji hemaglutinasi adalah hambatan aglutinasi sel darah merah oleh virus akibat terikatnya virus tersebut oleh antibodi spesifik (80).



Dasar uji *Haemagglutination Inhibition* (HI) adalah adanya antibodi yang mampu menghambat proses hemaglutinasi oleh virus. Jumlah antibodi yang mencukupi dalam serum darah, mampu membentuk kompleks dengan virion yang dapat menyebabkan hemaglutinasi terhambat dan eritrosit akan terlihat mengendap di dasar sumuran microplate. Bila jumlah antibodi tidak mencukupi maka eritrosit akan diaglutinasikan oleh virus dan terlihat adanya aglutinasi pada dasar sumuran microplate (81).

Uji *Haemagglutination Inhibition* (HI) dilakukan di microplate. Secara singkat, metode kerja uji HI adalah pengenceran bertingkat serum sampel hingga pengenceran terbesar yang masih sanggup menghambat aglutinasi sel darah merah (82). Pengamatan aktivitas immunoglobulin dilakukan dengan melihat aglutinasi yang terjadi dan dihitung sebagai titer antibodi yaitu pengenceran tertinggi dari serum darah hewan coba yang masih menunjukkan reaksi aglutinasi positif pada sumur mikrotitrasi (83).

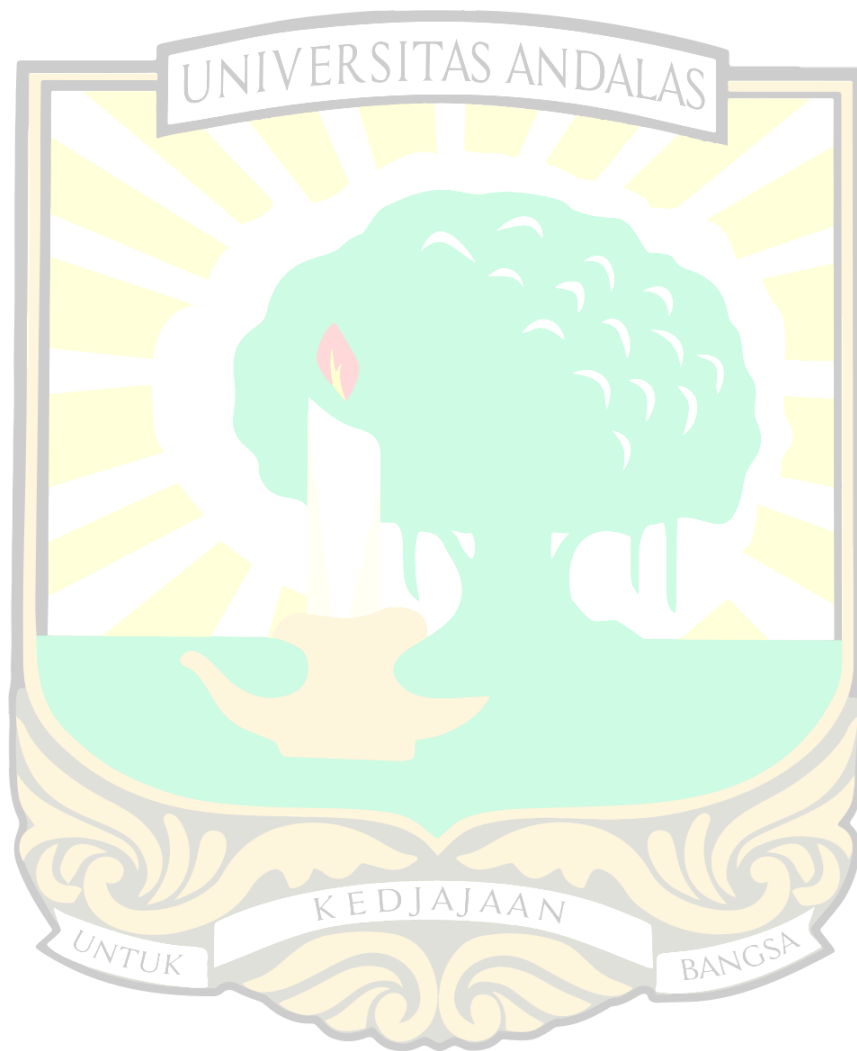
Hasil akhir dari uji hemaglutinasi dapat ditentukan dengan melihat pola pengendapan sel darah merah pada dasar well plate. Apabila sel darah merah membentuk titik berwarna merah pada pusat sumur dan terlihat bening uji dinyatakan negatif. Sel yang teraglutinasi akan menyebar pada cairan didalam sumuran (83). Hasil yang didapat diformulasikan sehingga diketahui titer antibodinya sehingga dapat dibandingkan dengan standar titer protektif (82).

## **2.8 Titer Antibodi**

Titer antibodi merupakan ukuran jumlah unit antibodi per unit volume serum. Pemeriksaan titer antibodi dilakukan untuk mengetahui kemampuan protein serum yang mengandung antibodi untuk menggumpalkan dan menghancurkan antigen yang masuk ke dalam tubuh (7). Titer antibodi biasanya dinyatakan sebagai hasil perbandingan terbalik dengan pengenceran serum pada tabung reaksi terakhir pada seri pengenceran yang meningkat yang menunjukkan proses penggumpalan. Proses penggumpalan dan penghancuran yang dilakukan oleh serum merupakan respon kekebalan humoral dan dinyatakan dalam satuan serum agglutination unit (SAU) (84).

Respon imun spesifik dapat berupa respon imun seluler dan respon imun humoral. Penilaian titer antibodi merupakan pengujian terhadap respon imun humoral yang melibatkan pembentukan antibodi. Peningkatan nilai titer antibodi terjadi karena peningkatan aktivitas sel Th yang menstimulasi sel B untuk pembentukan antibodi dan peningkatan aktivitas sel B dalam pembentukan antibodi (85). Angka titer dihitung dengan rumus (1) :

$^2\text{Log Pengenceran}$



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Februari sampai dengan April 2021 di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Imunologi dan Serologi Fakultas Farmasi, Universitas Andalas

#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **3.2.1 Alat**

Alat yang digunakan adalah gelas ukur (Pyrex), jarum sonde (Terumo) , pipet tetes, spatel, gunting bedah, timbangan analitik (Ohaus), mikroskop optilab (Olympus), laptop, kamar hitung *Hemocytometer Improved Neubeur*, lumpang dan alu, kertas perkamen, kaca objek (Deckglaser), cover glass, tabung reaksi (Iwaki), rak tabung reaksi, *centrifuge* (Oregon), timbangan hewan, mikropipet, tip, plat tetes, kandang mencit, vial, tempat makan dan minum mencit, *handscoon*, masker (Sensi), jas laboratorium.

##### **3.2.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan adalah gambir terpurifikasi (Andalas Sitawa Fitolab Nomor Batch : PE-001), vaksin caprivac Al-K (PT. BSP, Padang No.Batch : VF09B30), Propolis dengan merk Melia Propolis (PT. Melia Sehat Sejahtera), Natrium carboxy methyl cellulose (NaCMC 0,5%), aquadest (Dwipraga Chemical), pewarna Giemsa (Merck), NaCl fisiologis (Andeska Laboratory), larutan Turk, larutan Giemsa 10%, Na<sub>2</sub>EDTA, darah kambing, mencit putih jantan.

### 3.2.3 Hewan Uji

Hewan yang digunakan adalah mencit putih jantan sebanyak 20 ekor dengan berat badan 20-30 g, umur 2-3 bulan. Hewan ini belum pernah digunakan untuk percobaan serta menunjukkan perilaku normal.

## 3.3 Prosedur Kerja

### 3.3.1 Penyiapan Hewan Uji

Hewan yang digunakan adalah mencit putih jantan sebanyak ekor yang berumur 2-3 bulan dengan berat 20-30g dan belum pernah mengalami perlakuan terhadap obat. Sebelum digunakan sebagai hewan percobaan, mencit diadaptasi terlebih dahulu selama 7 hari untuk penyesuaian lingkungan. Hewan yang digunakan adalah hewan dalam keadaan sehat, mempunyai tingkah laku normal, dan tidak mengalami perubahan berat badan lebih dari 10% (86) . Hewan uji ini dikelompokkan menjadi 4 kelompok yang terdiri dari 5 ekor mencit dalam satu kelompok.

### 3.3.2 Persiapan Gambir Terpurifikasi

Gambir terpurifikasi diperoleh dari PT. Fitolab Padang Indonesia, Padang, Sumatera Barat.

### 3.3.3 Penentuan Dosis

Dosis yang diberikan pada hewan uji adalah larutan gambir terpurifikasi menggunakan 1 varian dosis 200mg/kgBB (75). Volume penyuntikan 1% dari berat badan mencit. Hal ini sesuai dengan rumus :

$$\% v = \frac{V}{BB} \times 100\%$$
$$\% v = \frac{V}{20 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$1 \% = \frac{v}{20 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$v = 0.2 \text{ m}$$

### 3.3.4 Penyiapan Suspensi Gambir

Larutan uji dengan dosis 200mg/kgBB dibuat dengan cara mensuspensikan 200 mg katekin dengan 50 mg NaCMC yang dikembangkan dengan air panas 1 ml, kemudian digerus dan ditambahkan kedalam katekin yang telah ditimbang, digerus homogen dan dicukupkan volume dengan air panas sampai volume 10 ml.

### 3.3.5 Perlakuan Terhadap Hewan Uji

Mencit sehat dengan berat badan 20-25 g, berjumlah 20 ekor dan dibagi secara acak masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor dengan pemberian dosis katekin 200mg/kgBB dan dosis propolis 195mg/kgBB (51) (87). Pemberian perlakuan dilakukan 1 kali sehari.

- a. Kelompok I : merupakan kelompok mencit yang tidak diberikan perlakuan, diberikan Na CMC 0,5% selama 14 hari.
- b. Kelompok II : merupakan kelompok mencit yang diberi Na CMC selama 14 hari dan pada hari ke -15 diberi vaksin H5N1.
- c. Kelompok III : merupakan kelompok mencit yang diberi suspensi katekin selama 14 hari, dan pada hari ke-15 diberi vaksin H5N1.
- d. Kelompok IV : merupakan kelompok mencit yang diberi suspensi katekin dan propolis selama 14 hari, dan pada hari ke-15 diberi vaksin H5N1.

Pemberiaan sediaan dilakukan secara peroral dengan alat sonde mencit dengan panjang 3 cm dan volume pemberian 0,2 mL/20 gram BB mencit dan pemberian vaksin H5N1 disuntikkan secara intra muscular (pada otot paha) dengan dosis 0,05 mL/ekor. Setelah 2 minggu pascavaksinasi mencit dikorbankan dengan memotong vena bagian leher.

### **3.3.6 Pemeriksaan Titer Antibodi**

#### **3.3.6.1 Pembuatan Eritrosit Kambing**

Darah kambing dicuci dengan larutan NaCl fisiologis (1:1) masing-masing sebanyak 5 mL dan diaduk homogen kemudian disentrifus dengan kecepatan 2000 rpm selama 15 menit, dibuang supernatannya, diulangi 3 kali dengan menambahkan 5 mL NaCl fisiologis setiap pengulangan. Setelah didapatkan, eritrosit kambing dengan vaksin selama 30 menit, kemudian dibuat suspensi 5% diambil 0,2 mL eritrosit kambing yang telah diinkubasi lalu dicukupkan dengan NaCl fisiologis hingga volume suspensi 4 mL.

#### **3.3.6.2 Pembuatan Titer Antibodi**

Setelah 24 jam setelah hari terakhir pemberian sediaan lakukan pemeriksaan titer antibodi pada mencit, ambil darah dengan cara memotong vena bagian leher, biarkan selama 30 menit, lalu disentrifus dengan kecepatan 2000 rpm selama 15 menit. Bagian serumnya disiapkan 10 buah tabung reaksi, dimasukkan larutan NaCl fisiologis 0,2 mL pada masing-masing tabung. Pada tabung pertama ditambahkan 0,2 mL serum, dikocok sampai homogen. 0,2 mL larutan pada tabung pertama pindahkan kedalam tabung kedua kemudian dikocok dan pipet 0,2 mL larutan pada tabung kedua dan dipindahkan kedalam tabung ketiga, kemudian dikocok sampai homogen. Lakukan hal ini sampai pada tabung reaksi kesepuluh. Pada tabung kesepuluh, 0,2 mL larutan dibuang sehingga hasil pengenceran dari serum yaitu  $1/2$ ,  $1/4$ ,  $1/8$ ,  $1/16$ ,  $1/32$ ,  $1/64$ ,  $1/128$ ,  $1/256$ ,  $1/512$ , dan  $1/1024$ . 0,1 ml suspensi eritrosit kambing 5% dimasukkan kedalam masing-masing tabung reaksi tersebut disentrifus dengan kecepatan 2000 rpm selama 5 menit, diamati penggumpalan yang terjadi (1) . Angka titer ditentukan dengan pengenceran tertinggi yang dimana darah masih dapat beraglutinasi dengan eritrosit kambing.

#### **3.3.6.3 Perhitungan Jumlah Total Sel Leukosit**

Darah mencit diambil dari vena ekor dengan menggunakan pipet leukosit hingga tanda 0,5 lalu tambahkan larutan turk hingga tanda 11. Lalu kocok beberapa

waktu, kemudian buang 3-5 tetes pertama kemudian tetesi ke kamar hitung haemocytometer kemudian periksa di bawah mikroskop dengan perbesaran lemah (88).

### 3.3.6.4 Perhitungan Persentase Jenis Sel Leukosit

Dilakukan pembuatan hapusan darah untuk perhitungan persentase leukosit dengan cara ambil darah mencit dari vena ekor, kemudian tetesi darah pada kaca objek dan gunakan kaca objek lain untuk meratakan apusan, tunggu hingga mengering. Setelah kering ditetesi dengan metanol sehingga melapisi seluruh apusan (5 menit). Tetesi larutan Giemsa 10% kemudian diamkan selama 20 menit. Cuci dengan aquadest, tetesi minyak imersi lalu amati dibawah mikroskop (88). Dihitung jumlah sel eusinofil, neutrofil batang, limfosit, dan monosit di bawah mikroskop perbesaran 1000x (89).

$$\text{Persentase jenis sel leukosit} = \frac{N}{t} \times 100$$

Keterangan:

N : Jumlah sel eusinofil/neutrophil batang/ neutrophil segmen/  
limfosit/ monosit

t : Jumlah sampel leukosit

### 3.4 Analisis Data

Dari hasil yang diperoleh dari penelitian ini akan dianalisis dengan analisa varian (ANOVA) satu arah, karena variable bebas dan variable terikat yang dianalisa satu. Hasil uji ANOVA akan berbeda secara nyata apabila didapatkan secara statistik  $P < 0,05$ . Analisa data dilanjutkan dengan Uji Duncan, menggunakan *Software Statistik SPSS 26,0 for Windows Evaluation*, tujuannya untuk mengetahui kebermaknaan perbedaan hasil dari masing – masing kelompok perlakuan.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Hasil

Pada penelitian mengenai peforma katekin (*Uncaria gambir* Roxb.) dan propolis pada mencit dalam titer antibodi dengan vaksin H5N1. Parameter yang dilihat adalah jumlah sel leukosit, persentase jenis sel leukosit dan titer antibodi. Hasil dari ketiga parameter tersebut adalah sebagai berikut :

1. Hasil rata-rata titer antibodi pada kelompok Na CMC 0,5% adalah 1, kelompok vaksin H5N1 adalah 3,8, kelompok katekin 200 mg/kgbb adalah 4,8, kelompok kombinasi katekin 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb adalah 6. Peningkatan paling optimal angka titer antibodi terdapat pada kelompok kombinasi katekin 200mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb.
2. Hasil perhitungan didapatkan jumlah sel leukosit pada kelompok Na CMC 0,5% adalah 7.150/ $\mu$ L, kelompok vaksin H5N1 adalah 8.490/  $\mu$ L , kelompok katekin 200mg/kgbb adalah 9.210/  $\mu$ L, kelompok kombinasi katekin 200mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb adalah 10.710/  $\mu$ L.
3. Hasil rata-rata persentase jenis sel leukosit, yaitu sel limfosit pada kelompok Na CMC 0,5 % adalah 33,4%, kelompok vaksin H5N1 adalah 33,8%, kelompok katekin 200 mg/kgbb adalah 38,6%, serta kelompok kombinasi katekin 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb adalah 41,2%. Hasil rata-rata persentase sel neutrofil segmen pada kelompok Na CMC 0,5% adalah 27,8% , kelompok vaksin H5N1 adalah 28,8%, kelompok katekin 200 mg/kgbb adalah 32,2% , serta kelompok kombinasi katekin 200 mg/kgBB + propolis 195 mg/kgbb adalah 36,0% . Hasil rata-rata persentase sel neutrofil batang pada kelompok Na CMC 0,5% adalah 24,0% , kelompok vaksin H5N1 adalah 23,2%, kelompok katekin 200 mg/kgbb adalah 16,8% , serta kelompok kombinasi katekin 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb adalah 12,8% . Hasil rata-rata persentase sel eusinofil pada kelompok Na CMC 0,5% adalah 5,2% , kelompok vaksin H5N1 adalah 7,8% , kelompok katekin 200 mg/kgbb adalah 5,6% , serta



kelompok kombinasi katekin 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb adalah 4,6% . Hasil rata-rata persentase sel monosit pada kelompok Na CMC 0,5% adalah 9,2% , kelompok vaksin H5N1 adalah 8,0%, kelompok katekin 200 mg/kgbb adalah 6,8% , serta kelompok kombinasi katekin 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb adalah 5,6% .

#### 4.2 Pembahasan

Telah dilakukan penelitian peforma katekin (*Uncaria gambir* Roxb.) dan propolis pada mencit dalam titer antibodi dengan vaksin H5N1 yang dilakukan dengan metode titer antibodi. Pada penelitian ini juga dilakukan perhitungan jumlah sel leukosit, dan persentase jenis sel leukosit.

Gambir yang digunakan dalam penelitian ini merupakan gambir terpurifikasi yang mengandung (+)-katekin  $\geq 90\%$  yang telah memiliki *certificate of analysis*. Propolis yang digunakan dengan merk Melia Propolis dan vaksin yang digunakan dengan merk Caprivac Avian Influenza.

Metoda yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode titer antibodi, alat yang digunakan dalam pengujian adalah *centrifuge*. Dalam prosesnya, *centrifuge* menggunakan prinsip rotasi atau perputaran tabung yang berisi larutan agar dapat dipisahkan berdasarkan massa jenisnya. Gaya sentrifugal adalah gaya yang terjadi akibat adanya putaran, arah gayanya adalah dari titik pusat putaran keluar menuju jari- jari luar. Pemisahan menggunakan gaya ini pada penerapannya biasanya dikenakan pada pemisahan fasa padat dengan fasa cair yang tercampur. Cairan ini merupakan cairan tubuh contohnya darah, serum, air, bahan reaksi, atau campuran dari kedua zat dengan zat tambahan lain (90).

Pada pengujian ini menggunakan mencit putih jantan dengan umur 2-3 bulan dan memiliki berat badan 20-35 g. Mencit putih jantan dipilih karena cepat berkembang biak, sifat anatomis dan fisiologisnya telah terkarakterisasi dengan baik, mudah dalam penanganannya dan sistem imun mencit putih jantan tidak dipengaruhi oleh hormon estrogen yang ada pada mencit betina (77). Hewan percobaan yang digunakan telah

memenuhi persetujuan etik oleh Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas dengan nomor persetujuan 236/UN.16.2/KEP-FK/2021.

Hewan percobaan diaklimatisasi dalam ruangan penelitian selama satu minggu. Aklimatisasi hewan percobaan bertujuan untuk membiasakan hewan uji dengan lingkungannya serta menghindari stress selama perlakuan berlangsung. Hewan percobaan yang memiliki perilaku menyimpang harus dipisahkan agar tidak mempengaruhi kondisi hewan percobaan lainnya (91).

Hewan uji dikelompokkan menjadi empat kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor mencit. Masing-masing kelompok diberi perlakuan yang berbeda. Kelompok I, yaitu kelompok kontrol yang diberi Na CMC 0,5%, kelompok II diberi vaksin H5N1, kelompok III diberi suspensi katekin 200mg/kgbb, dan kelompok IV diberi kombinasi suspensi katekin 200mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb. Pemilihan 1 variasi dosis gambir 200 mg/kgbb pada penelitian ini karena sudah dilakukan penelitian sebelumnya yang memiliki efek imunomodulator (51).

Gambir terpurifikasi tidak larut sempurna di dalam air sehingga sediaan uji yang diberikan kepada hewan percobaan dibuat dalam bentuk suspensi dengan menggunakan Na CMC. Na CMC digunakan sebagai zat pensuspensi dengan konsentrasi 0,5% karena memiliki sifat stabil (*inert*), tidak mengiritasi, tidak toksik, tidak mempengaruhi zat aktif, memiliki kejernihan yang tinggi dan resistensinya baik terhadap mikroba (92). Sediaan uji disiapkan baru setiap hari dengan *Volume of Administration* (VAO) 1% dari berat badan hewan uji. Sedangkan untuk rute pemberian sediaan menurut BPOM, pada dasarnya pemberian sediaan uji harus sesuai dengan cara pemberian atau pemaparan yang diterapkan pada manusia, oleh karena itu, rute oral dipilih untuk penelitian ini.

Pada penelitian ini, rata-rata angka titer antibodi mencit mengalami peningkatan, kecuali pada kelompok kontrol yang diberi Na CMC 0,5%. Angka titer antibodi kelompok kontrol Na CMC 0,5% adalah 1, kelompok vaksin H5N1 adalah 3,8, kelompok suspensi katekin 200 mg/kgbb adalah 4,8 dan kelompok kombinasi katekin 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb adalah 6. Rata-rata angka titer antibodi

mencit yang paling tinggi ditunjukkan oleh kelompok kombinasi suspensi katekin 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb yang berarti kelompok kombinasi ini mengalami efek peningkatan titer antibodi paling baik dibandingkan dengan kelompok Na CMC 0,5%.

Hasil uji statistik ANOVA satu arah menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap angka titer antibodi untuk setiap kelompok. Untuk melihat letak perbedaan tersebut analisis statistik ini dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan dimana hasilnya menunjukkan kelompok Na CMC 0,5% sebagai kontrol negatif terletak pada kolom *subset* pertama dan kelompok kombinasi katekin dan propolis terletak pada kolom *subset* ketiga, artinya ada pengaruh pemberian kombinasi gambir terpurifikasi dan propolis terhadap peningkatan titer antibodi.

Perhitungan total leukosit dilakukan menggunakan alat hemasitometer. Dilakukan pengambilan darah melalui vena ekor mencit, darah dihisap menggunakan pipet leukosit hingga tanda “0,5” lalu ditambahkan larutan turk hingga tanda “11” larutan turk berfungsi untuk mengencerkan dan melisiskan darah selain sel leukosit sehingga memudahkan penghitungan jumlah total leukosit (88). Perhitungan total leukosit menunjukkan nilai leukosit mengalami peningkatan pada semua kelompok dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, yaitu kelompok yang hanya diberikan Na CMC 0,5%. Hasil perhitungan didapatkan total leukosit kelompok Na CMC 0,5% adalah 7.150/ $\mu$ L, kelompok vaksin H5N1 adalah 8.490/ $\mu$ L, kelompok katekin 200 mg/kgbb adalah 9.210/ $\mu$ L, dan kelompok kombinasi katekin 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb adalah 10.710/ $\mu$ L. Peningkatan paling optimal terdapat pada kelompok kombinasi katekin 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb.

Peningkatan total leukosit menunjukkan sistem pertahanan tubuh secara alamiah (93). Hasil uji statistik ANOVA satu arah menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap jumlah total leukosit untuk setiap kelompok perlakuan. Untuk melihat letak perbedaan tersebut dilakukan uji lanjut Duncan dimana hasil menunjukkan kelompok Na CMC 0,5% terletak pada kolom *subset* pertama dan kelompok kombinasi katekin dan propolis terletak pada kolom *subset* ketiga, artinya ada pengaruh pemberian kombinasi katekin dan propolis terhadap peningkatan jumlah total leukosit.

Perhitungan persentase jenis sel leukosit, yaitu limfosit, neutrofil segmen, neutrofil batang, eosinofil dan monosit menciit. Perhitungan persentase jenis sel leukosit dengan metode hapusan darah, setelah diambil darah menciit dari vena ekor selanjutnya diwarnai dengan menggunakan Giemsa. Giemsa hanya memperlihatkan limfosit, neutrofil batang, neutrofil segmen, eosinofil, dan monosit. Sel basofil tidak dapat dilihat karena sel larut dalam pewarna Giemsa (94).

Penghitungan leukosit dapat dilakukan dengan cara *cross sectioned* atau penghitungan leukosit yang dimulai dari bagian tepi ulasan darah di pengamatan mikroskop hingga diperoleh 100 sel leukosit dan dinyatakan dalam persen (%) (95).

Menurut Fitria dan Nurrahman (2015) dalam penelitiannya disebutkan bahwa suspensi propolis mampu meningkatkan jumlah leukosit pada tikus (96). Berdasarkan penelitian Hendry (2020) menunjukkan bahwa SNEDDS propolis memiliki efektivitas sebagai imunostimulan yang lebih baik dibandingkan suspensi propolis dalam meningkatkan jumlah leukosit pada tikus, serta pada kelompok SNEDDS propolis mengalami peningkatan limfosit sebesar 35,32% pada SNEDDS propolis menunjukkan efek imunostimulan terhadap limfosit yang lebih baik dibandingkan dengan suspensi propolis (97).

Hasil rata-rata persentase sel limfosit pada kelompok Na CMC 0,5% adalah 33,4%, kelompok vaksin H5N1 adalah 33,8%, katekin 200 mg/kgbb adalah 38,6%, serta kelompok kombinasi katekin 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb adalah 41,2%. Dari hasil perhitungan persentase sel limfosit tertinggi pada kelompok kombinasi katekin 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb, yaitu 41,2%. Peningkatan persentase jenis sel limfosit menunjukkan kombinasi katekin dengan propolis dapat meningkatkan respon imun spesifik pada menciit putih jantan. Data masing-masing jenis leukosit menunjukkan bahwa semua data berdistribusi normal ( $P > 0,05$ ) dan homogen ( $P > 0,05$ ). Oleh karena itu dapat dianalisis parametrik dengan menggunakan ANOVA satu arah signifikansi ( $P < 0,05$ ) dan dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan untuk melihat perbedaan nyata masing-masing kelompok dari letak *subset* yang berbeda.

Proliferasi limfosit mampu ditingkatkan oleh senyawa flavonoid yang terdapat dalam tumbuhan sebagaimana penelitian yang telah dilakukan oleh Saifulhaq (2009). Limfosit salah satu sel target dari imunomodulator karena mempunyai peran sebagai induktor paraimunitas terutama dalam membantu dalam menstimulasi mekanisme pertahanan seluler. Pertahanan seluler inilah yang bertugas membasmi antigen yang masuk kedalam tubuh (98). Pada penelitian ini diketahui bahwa katekin (*Uncaria gambir* Roxb.) dan propolis dapat berefek sebagai imunomodulator, yaitu imunostimulan. Hal tersebut karena adanya kandungan flavonoid berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh bahwa gambir memiliki kandungan senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid dapat meningkatkan produksi IL-2 dan meningkatkan proliferasi limfosit. Proliferasi limfosit T dirangsang oleh antigen, terutama diatur oleh pengaruh IL-2 terhadap reseptor IL-2 yang dimiliki pada selnya (98).

Penambahan bahan yang bersifat sebagai imunostimulator dapat meningkatkan respon pada limfosit dan merangsang pembelahan sel sehingga terjadi proliferasi. Devagaran & Diantini (2012) salah satu senyawa yang memiliki kemampuan dapat meningkatkan sistem imun adalah senyawa flavonoid (99). Mekanisme flavonoid sebagai imunomodulator, yaitu dapat meningkatkan sistem imun dengan cara memicu proliferasi limfosit, meningkatkan jumlah sel T dan meningkatkan aktivitas IL-2 (100).

Hasil uji statistik analisis varian ANOVA satu arah, diketahui bahwa persentase jenis sel leukosit setiap kelompok Na CMC 0,5%, vaksin H5N1, katekin 200 mg/kgbb, dan katekin 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb berbeda nyata ( $P < 0,05$ ). Untuk melihat perbedaan nyata masing-masing kelompok dilakukan uji lanjut Duncan. Dari hasil uji lanjut Duncan terlihat bahwa masing-masing kelompok berada pada *subset* yang berbeda, dilihat dari letak *subset* bahwa untuk kelompok Na CMC 0,5% terletak pada kolom *subset* pertama dan kelompok kombinasi katekin 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb terletak pada kolom *subset* kedua, artinya ada pengaruh pemberian kombinasi gambir terpurifikasi dan propolis terhadap persentase jenis sel limfosit.

Ditinjau dari parameter uji yaitu titer antibodi, pengaruh terhadap persentase sel leukosit dan peningkatan total sel leukosit darah dapat disimpulkan bahwa

kombinasi katekin dan propolis ini mempunyai efek imunostimulan terhadap mencit putih jantan.



## BAB V

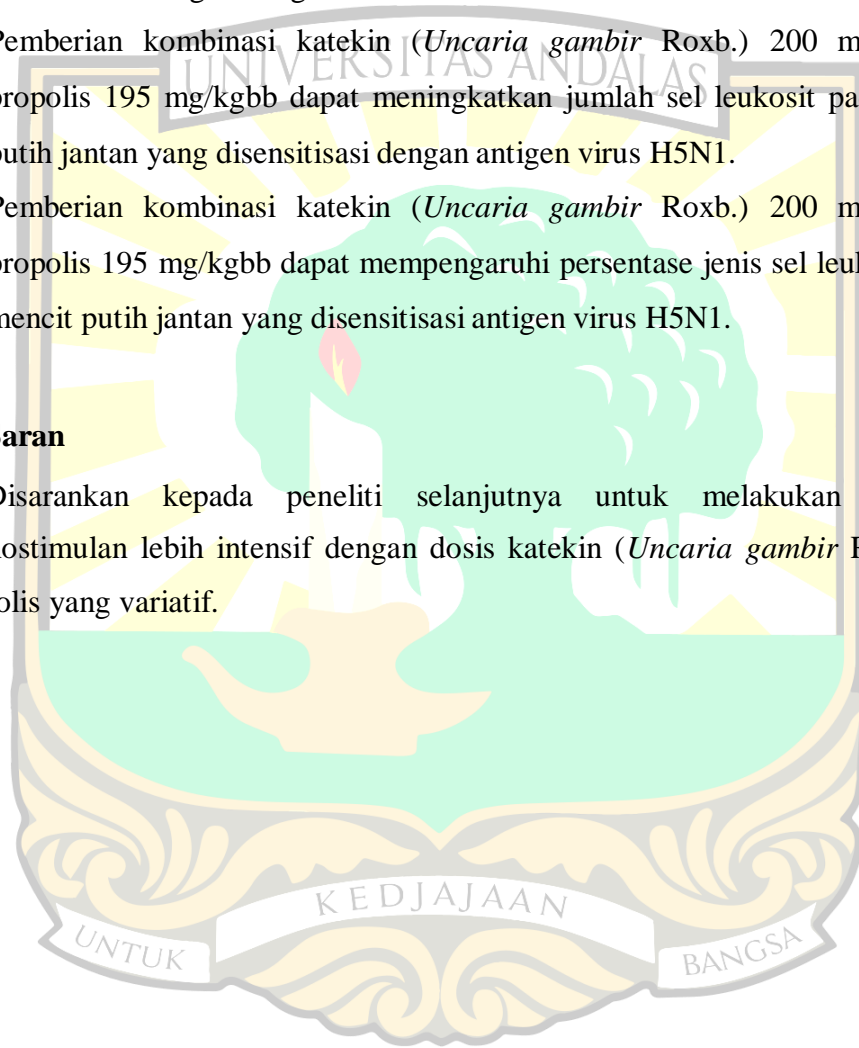
### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

1. Pemberian kombinasi katekin (*Uncaria gambir* Roxb.) 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb dapat meningkatkan titer antibodi mencit yang disensitiasi dengan antigen virus H5N1.
2. Pemberian kombinasi katekin (*Uncaria gambir* Roxb.) 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb dapat meningkatkan jumlah sel leukosit pada mencit putih jantan yang disensitiasi dengan antigen virus H5N1.
3. Pemberian kombinasi katekin (*Uncaria gambir* Roxb.) 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb dapat mempengaruhi persentase jenis sel leukosit pada mencit putih jantan yang disensitiasi antigen virus H5N1.

#### 5.2 Saran

Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk melakukan uji efek imunostimulan lebih intensif dengan dosis katekin (*Uncaria gambir* Roxb.) dan propolis yang variatif.



## DAFTAR PUSTAKA

1. Aldi Y, Suhatri S. Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa* Linn.) terhadap Titer Antibodi dan Jumlah Sel Leukosit pada Mencit Putih Jantan. *Sci J Farm dan Kesehat.* 2015;1(1):35.
2. Donatus I. Peranan Farmakologi Dalam Pengembangan Obat Tradisional. Fak Farm Gajah Mada, Jogjakarta. 1983;
3. BPOM RI. Kebijakan Obat Tradisional Nasional. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. 2007. 9–30 p.
4. World Health Organization (WHO). World Health Day, Combat Antimicrobial Resistance. 2010;1–11.
5. Baratawidjaja KG. *Imunologi Dasar* Jakarta: Universitas Indonesia. 2009.
6. Wade C. *Can Bee Propolis Rejuvenate The Immune System.* 2005;
7. Subowo. *Imunologi Klinik Edisi Ke-2.* Jakarta : CV Sagung Seto. 2009.
8. P. D. Hasdianah, Peristowati SI. *Imunologi diagnosa dan teknik biologi molekuler*, Edisi 1, Yogyakarta: Nuha Medika. 2014.
9. Subowo. *Imunobiologi.* Edisi 2. Jakarta: CV Sagung Seto. 2009. 43, 89–93, 164–165 p.
10. S. Emantoko. Antibodi rekombinan: perkembangan terbaru dalam teknologi antibody. *J Unitas.* 2001;2,9, 29–43.
11. Rahardjo y. *Avian Influenza, Pencegahan, Pengendalian dan Pemberantasan : Hasil Investasi kasus Lapangan (Dilengkapi SK Mentan dan SK Dirjen Bina Produksi Peternakan).* C. A. Nidom. Jakarta : Gita Pustaka. 2004.
12. Patti J. Miller P.J., Claudio L. Afonso C.L., John El Attrache J.E., Dorsey K. Effects of Newcastle disease virus vaccine antibodies on the shedding and transmission of challenge viruses. *Developmental & Comparative Immunology.* 2013;41(4):505–13.
13. Abbas, A.K., dan Litchman AH. *Cellular and Molecular Immunology.* 6th ed. WB Saunders Company Saunders, Philadelphia. 2007. 19–347 p.



14. Baratawidjaja, K.G. RI. *Imunologi Dasar* ed 9. Jakarta : Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2010. 27–217 p.
15. Baratawidjaja, G. K., dan Rengganis I. *Imunologi Dasar*. Jakarta: Badan Penerbit FK UI. 2012. 29, 116–129, 371, 517 p.
16. Suseno D. *Aktivitas Antibakteri Propolis Trigona spp. Pada Dua Konsentrasi Berbeda Terhadap Cairan Rumen Sapi*. Skripsi: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB : Bogor. 2009;
17. Abidin S. *Peran Propolis Trigona sp. Asal Padeglang Terhadap Tiga Bakteri Asam Laktat*. Skripsi: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB, Bogor. 2010;
18. Challem J. *Tuberculosis, Medical Journals Document Value of Bee Propolis, Honey and Royal Jelly, The Nutrition Reporter*. 2004;
19. Badan POM RI. *Acuan Sediaan Herbal Vol.5*. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Jakarta. 2010;
20. Bakhtiar A. *Manfaat Tanaman Gambir, Makalah Penataran Petani dan Pedagang Pengumpul Gambir di Kecamatan Pangkalan Kab. 50 Kota*. Padang. 1991.
21. Sari G. . *Uji Efek Analgetik dan Antiinflamasi Ekstrak Kering Air Gambir Secara In Vivo*. Universitas Islam Syarif Hidayatullah. 2010;
22. Chosdu R. *Uji Ekstrak Daun Gambir (Uncaria Gambir (Hunter) Roxb), Awet Radiasi Terhadap Kemampuannya Sebagai Anti Mikroba*. In: *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXVI*. Padang: Kelompok Kerja Tumbuhan Obat Indonesia. 2005;2–3.
23. Alen Y et al. *Isolasi Senyawa Bioaktif Antinematoda Bursa Pelenchus Xylophilus Dari Ekstrak Gambir*. In: *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXVI*. Padang: Kelompok Kerja Tumbuhan Indonesia. 2005;
24. Amalia A. *Uji Efek Imunomodulator Ekstrak Etanol Gambir (Uncaria gambir R.) terhadap Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Peritonium Mencit secara In Vivo*. Skripsi Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN. Jakarta. 2009;

25. Almahdy. Pengaruh Ekstrak Gambir (*Uncaria gambier* Roxb). terhadap Fetus dari Mencit Hamil yang Diinduksi Alkohol. *Majalah Farmasi Indonesia*, 21(2). 2010;115–20.
26. Armenia., Siregar, A. dan Arifin H. Toksisitas Ekstrak Gambir (*Uncaria gambier*, Roxb) Terhadap Organ Ginjal, Hati dan Jantung Mencit. In: *Prosiding Seminar Nasional XXVI Tumbuhan Obat Indonesia*. 2004.
27. Handayani, D., Ranova, R. H, B, Farlian, A. A da. A. Pengujian Efek Antifeedan dari Ekstrak dan Fraksi Daun *Uncaria Gambir* (Hunter) Roxb.Terhadap Hama *Spodoptera Litura* Fab. In: *Prosiding Seminar Nasional XXVI Tumbuhan Obat Indonesia*. 2004.
28. Lucida, H.Bakhtiar,A. dan Putri A. Formulasi Sediaan Antiseptik Mulut dari Katekin Gambir, Padang : Universitas Andalas. 2007;
29. Nainggolan P. Teknologi Perbenihan Tanaman Gambir (*Uncaria gambier* Roxb). Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sumatera Utara. 2013.
30. R Syamsul Hidayati RMN. *Kitab Tumbuhan Obat*. Jakarta: Agriflo ( Penebar Swadaya Grup ). 2015;
31. Index Kewensis (IK) 2.0. Royal Botanic Gardens 1997 [Internet]. Available from <https://www.britannica.com>.
32. Aisman. *Kajian Sosio-Tekno-Ekonomi Komoditi Gambir* (Fak. Pertanian; UNAND, Sumatra Barat. 1999;
33. Heyne K. *Tumbuhan Berguna Indonesia Vol III*. Jakarta: Departemen Kehutanan RI; 1987;1767.
34. Dayar Arbain, Amri Bakhtiar DPPN. *Review Tumbuhan Obat Sumatera*. Padang: UPT Sumber Daya Hayati Sumatera Universitas Andalas, 628 - 630. 2014;
35. Heyne K. *Tumbuhan Berguna Indonesia Vol III*. Jakarta: Departemen Kehutanan RI. 1987;
36. Ferdinal N. A Simple Purification Method of Catechin from Gambier. *Int J Adv Sci Eng Inf Technol*. 2014;4(6):441.
37. Hilpiani D. Uji Toksisitas Akut Isol Katekin Gambir (*Uncaria Gambier* R) Dari

- Fase Etil Asetat Terhadap Mencit Putih Jantan Secara Vivo. Skripsi. Jakarta UIN Syarif Hidayatulah.
38. Amos. Kandungan Katekin Gambir Sentra Produksi di Indonesia. *J Stand.* 2010;12(3):149–55.
  39. Nakagawa K, Fujii S, Ohgi A, Uesato S. Antioxidative activity of 3-O-octanoyl-(+)-catechin, a newly synthesized catechin, in vitro. *J Heal Sci.* 2005;51(4):492–6.
  40. Zaveri NT. Green tea and its polyphenolic catechins: Medicinal uses in cancer and noncancer applications. *Life Sci.* 2006;78(18):2073–80.
  41. Sabarni. Teknik Pembuatan Gambir (*Uncaria gambir* Roxb) Secara Tradisional : *Journal of Islamic Science and Technology.* 2015;1.
  42. Yeni G, Syamsu K, Mardliyati E, Muchtar H. Determination of Process Technology on Making of Pure Gambier and Standardized Catechin from Raw Gambier. *J Litbang Ind.* 2017;7(1):1–10.
  43. Lucida H, Amri Bakhtiar dan Wina Astarti Putri. Formulasi sediaan antiseptik mulut dari katekin gambir Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Andalas Padang. 2006;
  44. Taniguchi S., K. Kuroda, N. Yoshikado, K.I. Doi, M. Tanabe, T. Shibata TY, Hatano T. New Dimeric Flavans From Gambir, an Extract of *Uncaria gambir*. Japan: The Japan Institute of Heterocyclic Chemistry, Okayama University. 2008. 1–11 p.
  45. Heitzman ME, Neto CC, Winiarz E, Vaisberg AJ, Hammond GB. Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Uncaria* (Rubiaceae). *Phytochemistry.* 2005;66(1):5–29.
  46. Muchtar, H., Yusmeiarti, Yeni G. Pengaruh jenis absorban dalam proses isolasi katechin gambir. *J. Ris. Ind.* 2, 14–23. 2008;
  47. Suherdi, A. Denian . HS. Budidaya dan pasca panen gambir serta permasalahannya. Padang: Biro Bina Pengembangan Sarana Perekonomian, Dati/Sumbar. 1991;
  48. Biswas K., I. Chattopadhyay RKB and UB. Biological Activities and Medicinal

- Properties of Neem (*Azadirachta indica*). *J Curr Sci*. 2002;82:1336–45.
49. Angraini T., A.Tai. TY and TI. Antioxidative Activity and Catechin Content Of Four Kinds of *Uncaria gambir* Extracts from West Sumatra, Indonesia. *African J Biochem Res*. 2011;5(1):33–8.
50. Fatimah, M.Y. Musdja, F. Sulistiawati. Formulasi Tablet Hisap Kombinasi ekstrak etanol 70% Daun Sirih (*Piper betle*, L) dan Gambir (*Uncaria gambir*, Roxb) dengan variasi konsentrasi Maltodekstrin sebagai Pengikat Menggunakan Metode Cetak langsung dan Uji Efek Imunomodulator, Skripsi Jakarta : UI. 2010;
51. Aminah N. Uji efek imunomodulator ekstrak air kombinasi daun sirih (*piper betle*) dan gambir (*uncaria gambir hnuter*) Roxb) dengan pengukuran aktivitas dan kapasitas fagositosis serta pengaruhnya terhadap perubahan kadar enzim asam fosfatase pada sel makrofag periton. 2010;
52. AS F. Certificate of Analysis Gambir Terpurifikasi. Indonesia: 01/PE-FP/2017. 2017.
53. Omene C, Kalac M, Wu J, Marchi E F, K OO. Propolis and its Active Component, Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE), Modulate Breast Cancer Therapeutic Targets via an Epigenetically Mediated Mechanism of Action. *J Cancer Sci Ther*. 2013;5 (10):334–42.
54. Kaihena M. Propolis sebagai imunostimultor terhadap infeksi *Micobacterium tuberculosis*. Ambon, Maluku. FMIPA Universitas Pattimura. 2013;69–80.
55. Suranto A. Dahsyat Propolis Untuk Menggempur Penyakit. Agromedia Pustaka : Jakarta. 2010.
56. Adiprabowo H. Potensi Antibakteri Campuran Propolis *Trigona spp* dan Garam Kelapa Terhadap *Streptococcus mutans*. Skripsi: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB, Bogor. 2008;
57. Krell R. Value-Added Products From Beekeeping; FAO Agricultural Services Bulltein No. 124. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome. 1996.
58. Bratawijaya KG. Imunogi Dasar, edisi ke-6, Fakultas Kedokteran Universitas

- Indonesia. Jakarta. 2004;
59. Wahab SA dan JM. Sistem Imun, Imunisasi dan Penyakit Imun, Widya Medika. Jakarta. 2002;
  60. Imunologi Diagnosis dan Prosedur Laboratorium Ed 5. Jakarta: Universitas Indonesia.
  61. Radji M. Imunologi & Virologi. PT. ISFI : Penerbitan Jakarta. 2015;
  62. Baratawidjaja KG RI. Imunologi Dasar Edisi 11. Jakarta: Badan Penerbit FKUI. 2014;
  63. Kresno BS. Imunologi: Diagnosis dan Proses Laboratorium. Edisi Kelima. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2010. 4–9, 12–15, 33–36 p.
  64. Haeria DNH. Uji Efek Imunomodulator Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum basilicum*. L) Dengan Parameter Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Pada Mencit (*Mus musculus*) Jantan. *J Farm Galen*. 2017;4(1).
  65. Zabriskie JB. *Essential Clinical Immunology* New York: Cambridge University Press. 2009.
  66. Janet Welter, Jill Taylor, James Tartaglia, Enzo Paoletti and CB. Infection in Infant Ferrets with and without Maternal Antibody Protection, Using Recombinant Attenuated Poxvirus Vaccines. *American Society for Microbiology Journal of Virology*. 2015;89.
  67. Welter, J., Taylor, J., Tartaglia, J., Paoletti, E. and Stephensen CB. Vaccination against Canine Distemper Virus. *American Society for Microbiology Journal of Virology*. 2000;74 : (14):6358–67.
  68. Hermawan Paundra. Perbandingan Respons Imun Seluler Peripheral Blood Mononuclear Cell Terhadap Vaksin Avian Influenza Subtipe H5N1 Monovalen Dan Bivalen Pada Ayam Petelur. Surabaya : Universitas Airlangga. 2010;
  69. Horimoto T, Kawaoka Y. Pandemic threat posed by avian influenza A viruses. *Clin Microbiol Rev*. 2001;14(1):129–49.
  70. Harris A, Cardone G, Winkler DC, Heymann JB, Brecher M, White JM, et al. Influenza virus pleiomorphy characterized by cryoelectron tomography. *Proc*

- Natl Acad Sci U S A. 2006;103(50):19123–7.
71. Whittaker GR. Intracellular trafficking of influenza virus: Clinical implication for molecular medicine. *Expert Reviews in Molecular Medicine*. <http://www.expertreviews.org/>. 2001;
  72. Roberts PC CR. Host cell dependence of viral morphology. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;(95):5746–51.
  73. Payungporn S, Phakdeewirot P, Chutinimitkul S, Theamboonlers A, Keawcharoen J, Oraveerakul K, et al. Single-Step Multiplex Reverse Transcription–Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) for Influenza A Virus Subtype H5N1 Detection. *Viral Immunol* [Internet]. 2004 Dec;17(4):588–93. Available from: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/vim.2004.17.588>
  74. Liu J. Avian Influenza-A Pandemic Waiting to Happen?. *J Microbiol Immunol Infect*. 39:4-10. 2005;
  75. Murphy BR & Webster R. Orthomyxoviruses. In *Fields Virology*. 3rd ed. Edited by BN Fields, DM Knipe & PM Howley. Philadelphia : Lippincott-Raven. 1996;
  76. Soesilo. *Hewan Vetebrata*. Gajah Mada Press : Yogyakarta. 1995;
  77. Smith J M. *Pemeliharaan, Pembiakan, dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia. 1988;
  78. Malole M PC. *Penggunaan Hewan-hewan Percobaan di Laboratorium*. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB. 1989;
  79. Baratawidjaja, K.G & Rengganis I. *Imunologi Dasar Edisi 8*. Jakarta : Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2006;
  80. Syukron, M,U., I.N. Suartha dan NSD. Serodeteksi Penyakit Tetelo Pada Ayam di Timor Leste. *Indonesia Medicus Veterinus*. 2013;Vol 2(3):360–8.
  81. Fenner, F.J., E.P.J. Gibbs., F.A. Murphy. *RRM and D. Veterinary Virology 2nd Ed. 2*. Semarang: IKIP Semarang Press. 1995.
  82. Selleck PA. *Reliable and Repeatable Hemagglutinin Inhibition Assays*. Jakarta: Offlu. 2008.

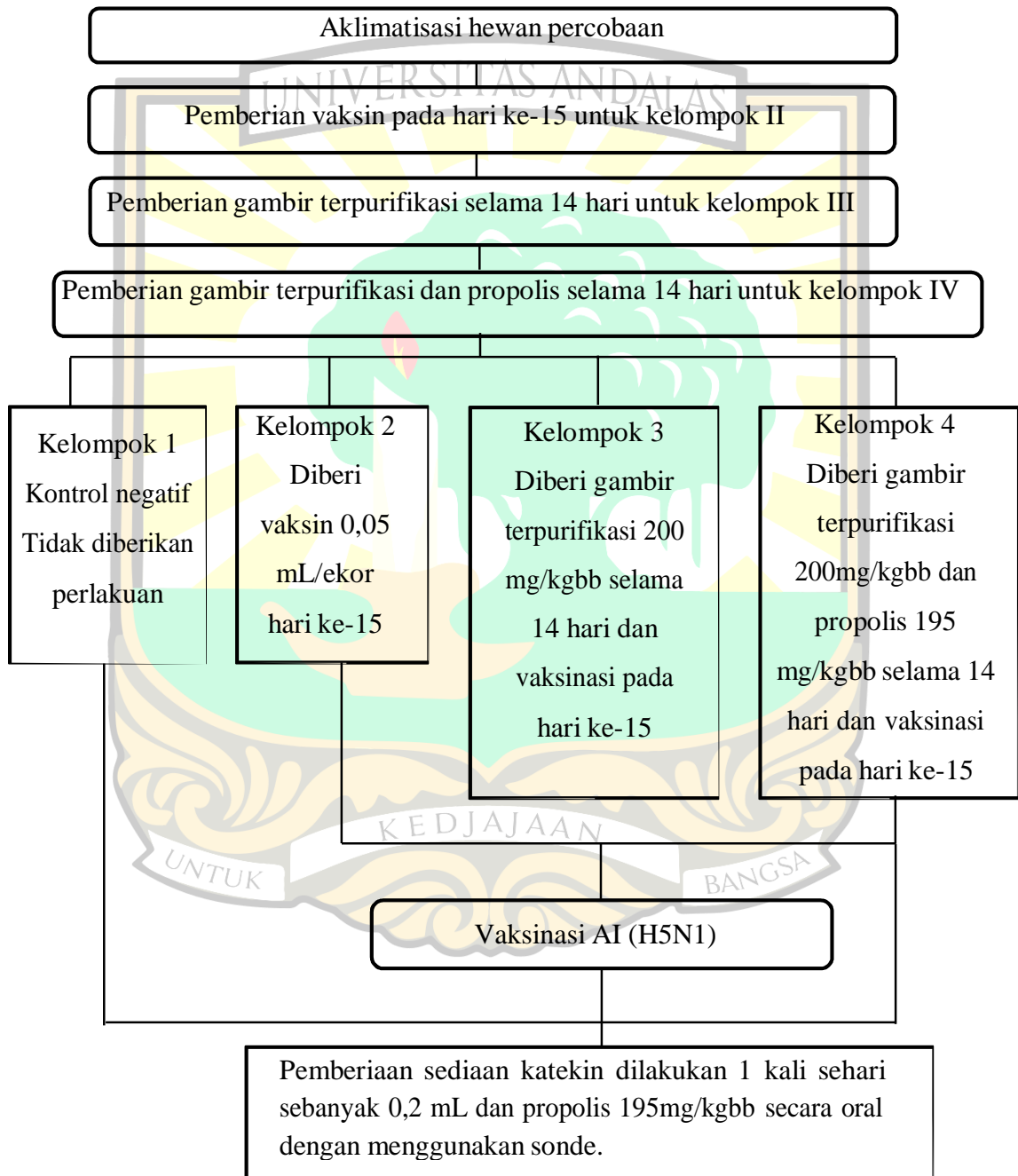
83. Utami YP. Uji Efek Immunostimulan Kombinasi Ekstrak Mahkota Bunga Kasumba Truate (*Carthamus tinctorius L.*) dan ekstrak Umbi Bawang Dayak pada Mencit (*Mus musculus*). *JST Kesehatan*. 2016;6:179–84.
84. Suriasih, K., N. Sucipta dan MH. “Potensi dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat (BAL) Isolat Kefir dan Biji Kefir Sebagai Immunomodulator pada Hewan Coba”. Udayana University Press. Bali. 2015;
85. Roitt I. *Imunologi*. Edisi 8. Jakarta: Penerbit Widya Medika. Penterjemah: Alida, H., Liliana, K., Samsuridjal, D., Siti, B. K., dan Yoes, P. D. 2002. 16–18 p.
86. Vogel HG. *Drug Discovery and Evaluation, Pharmacological Assay*. Springer. 2002.
87. Fitria L, Nurrahman Marwayana O. Potensi Propolis Sebagai Immunomodulator Pada Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar yang diinduksi Penisilin-G. *Biog J Ilm Biol*. 2015;3(2):124–31.
88. Moyes CD & P. *Principles of animal physiology*. San Francisco : Pearson/Benjamin Cummings. 2008;754.
89. Aldi Y, Dewi ON UR. Uji Immunomodulator Dan Jumlah Sel Leukosit Dari Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum basilicum L.*) Pada Mencit Putih Jantan. *Sci J Farm dan Kesehat*. 2016;6 (2):139.
90. Sebastiana Paulina Paga, Her Gumiwang Ariswati TH. Evaluasi Parameter PID Pada Perancangan Kendali Centrifuge Dengan Sistem Umpan Balik. In: *rosiding Seminar Nasional Kesehatan ISSN: 2656-8624 Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Surabaya*. 2020. p. 1–8.
91. Almahdy A. *Teratologi Eksperimental*. Padang : Universitas Andalas Press. 2012;
92. SP RR. *Handbook of Pharmaceutical Excipients* [Internet]. 6th ed. USA: Pharmaceutical Express. Available from: [www.jchunmer.wordpress.com](http://www.jchunmer.wordpress.com). 2009.
93. Alfitasari DA, Kusuma AM HZ. Aktivitas Immunodulator Ekstrak Etanol Umbi Bawang Merah (*Allium cepa L.*) terhadap Respon Imun Non Spesifik pada

- Mencit Jantan Galur BALB/C dengan Metode Carbon Clearance. *Biosfera*. 2017;34(2):75.
94. Aldi Y, Dillasamola D YG. Immunomodulator Activity of Ethanol Extract of Tapak Liman Leaves (*Elephantopus scaber* Linn.). *Pharmacogn J*. 2019;11(6):1419–27.
95. Nugroho R. Mengenal Mencit Sebagai Hewan Laboratorium. Samarinda: Universitas Mulawarman. 2018;
96. Fitria, L., Nurrahman M. Potensi Propolis sebagai Imunomodulator pada Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar yang Diinduksi Penisilin-G. *Biog J Ilm Biol* 3. 2015;124–31.
97. Pohara Hendry Aditya. Aktivitas Imunostimulan SNEDDS Propolis Terhadap Parameter Jumlah Leukosit, Neutrofil, dan Limfosit Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. Skripsi: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia : Yogyakarta. 2020;
98. Saifulhaq M. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Mahkota Dewa dosis Bertingkat terhadap Proliferasi Limfosit Lien pada Mencit BALB/C. *Biomedika*. 2009;1(2):33.
99. Devagaran, T. & Diantini A. Senyawa Imunomodulator Dari Tanaman. Bandung. *Devag Student e- J*. 2012;
100. Jiao Y. ,Wen J. Y. Influence of Flavonoid of *Astragalus membranaceus* Stem and Leaves on the Function of Cell Mediated Immunity in Mice. *Chinese J Integr Tradit West Med Heilongjian Univ*. 1999;19 (6):356–8.

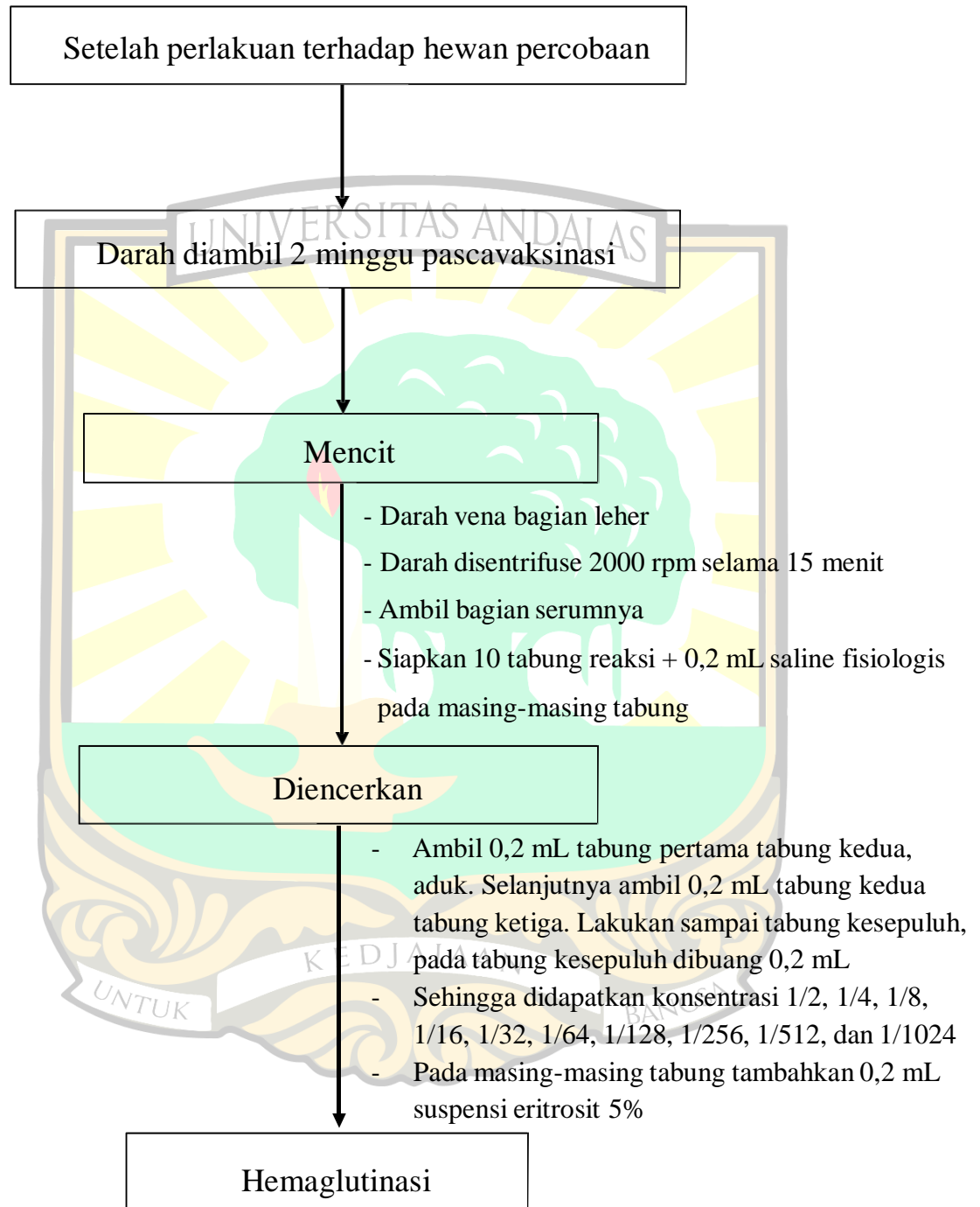


## LAMPIRAN

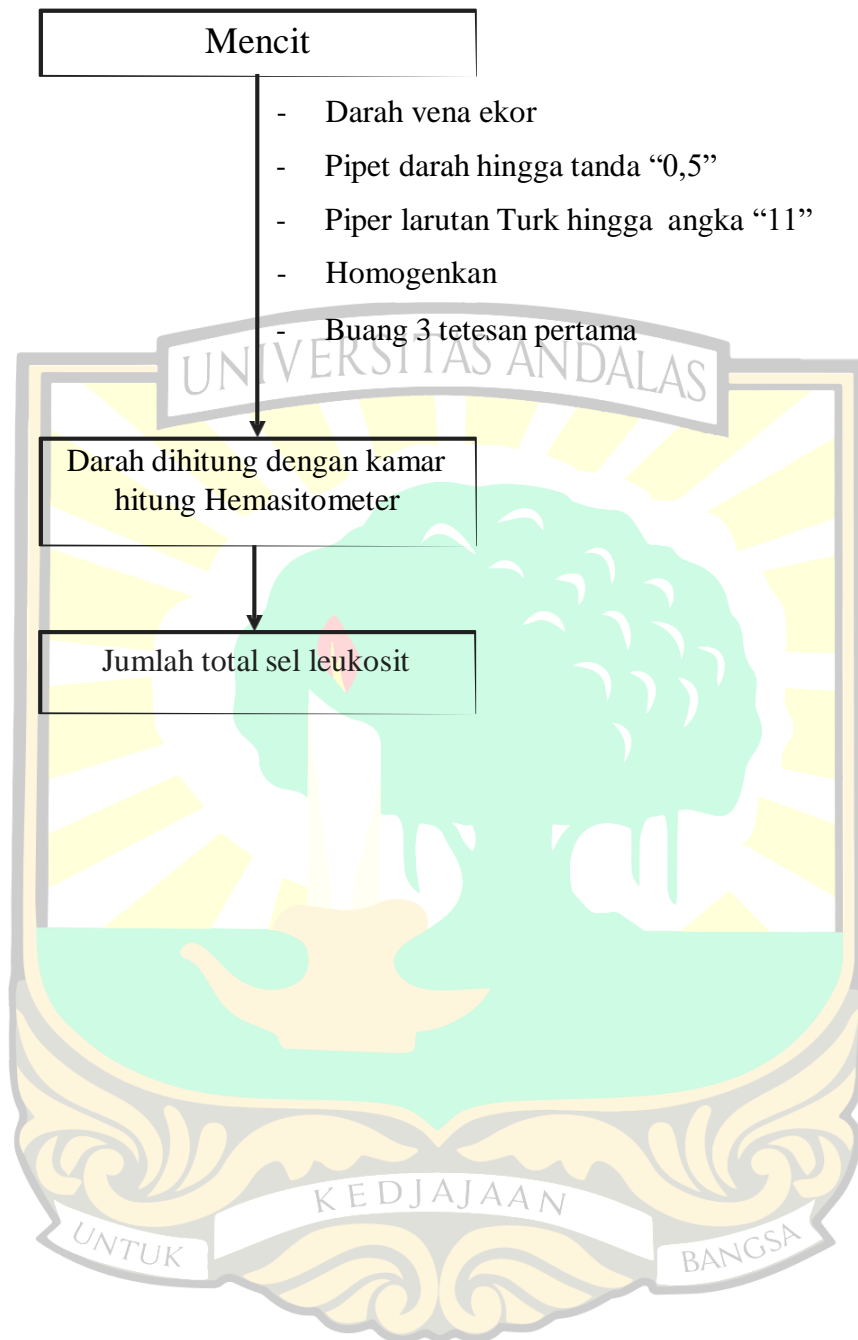
Lampiran 1. Skema kerja penelitian titer antibodi, hapusan darah, hemasitometer dan pembuatan suspensi eritrosit kambing 5%.



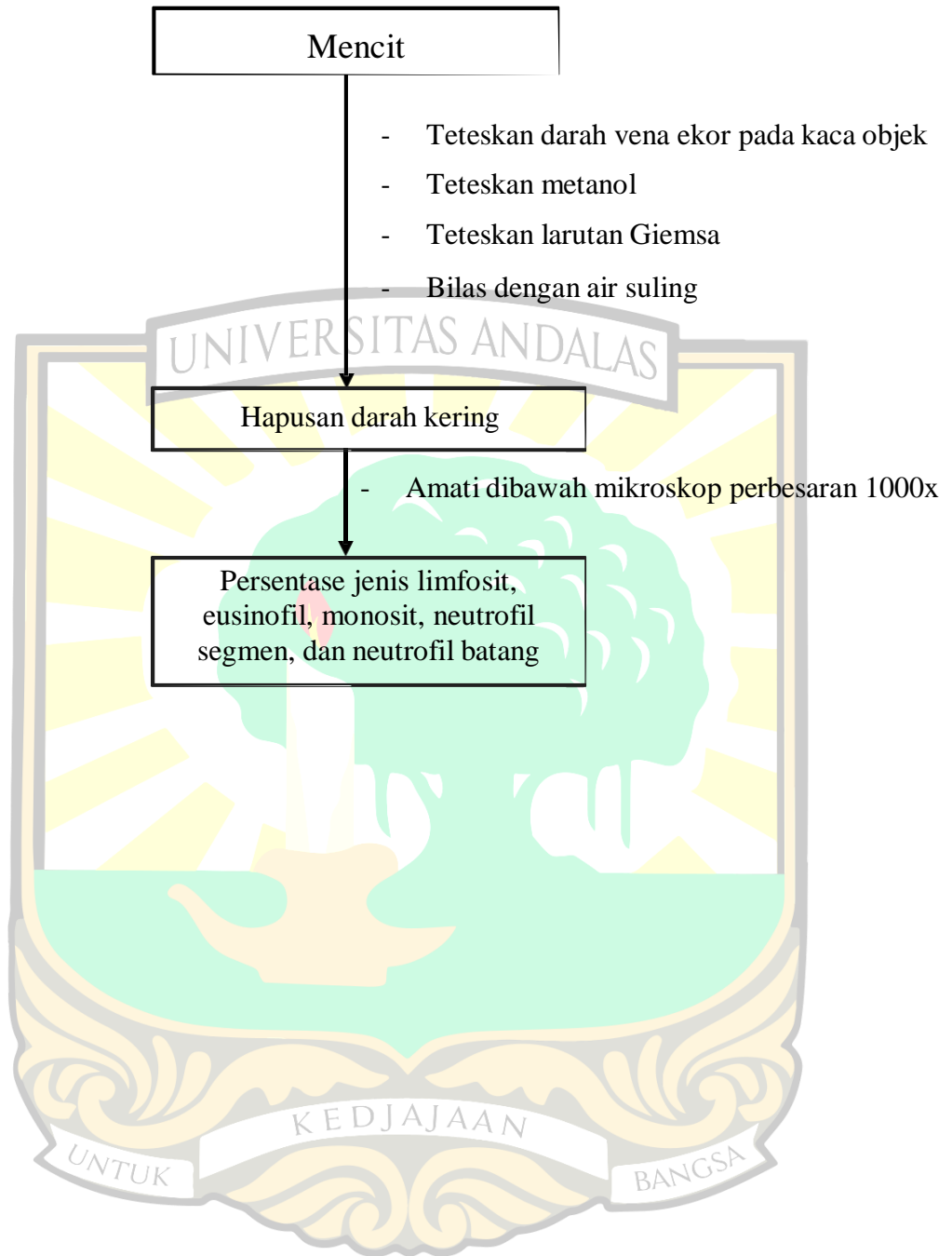
Lampiran 1. (lanjutan)



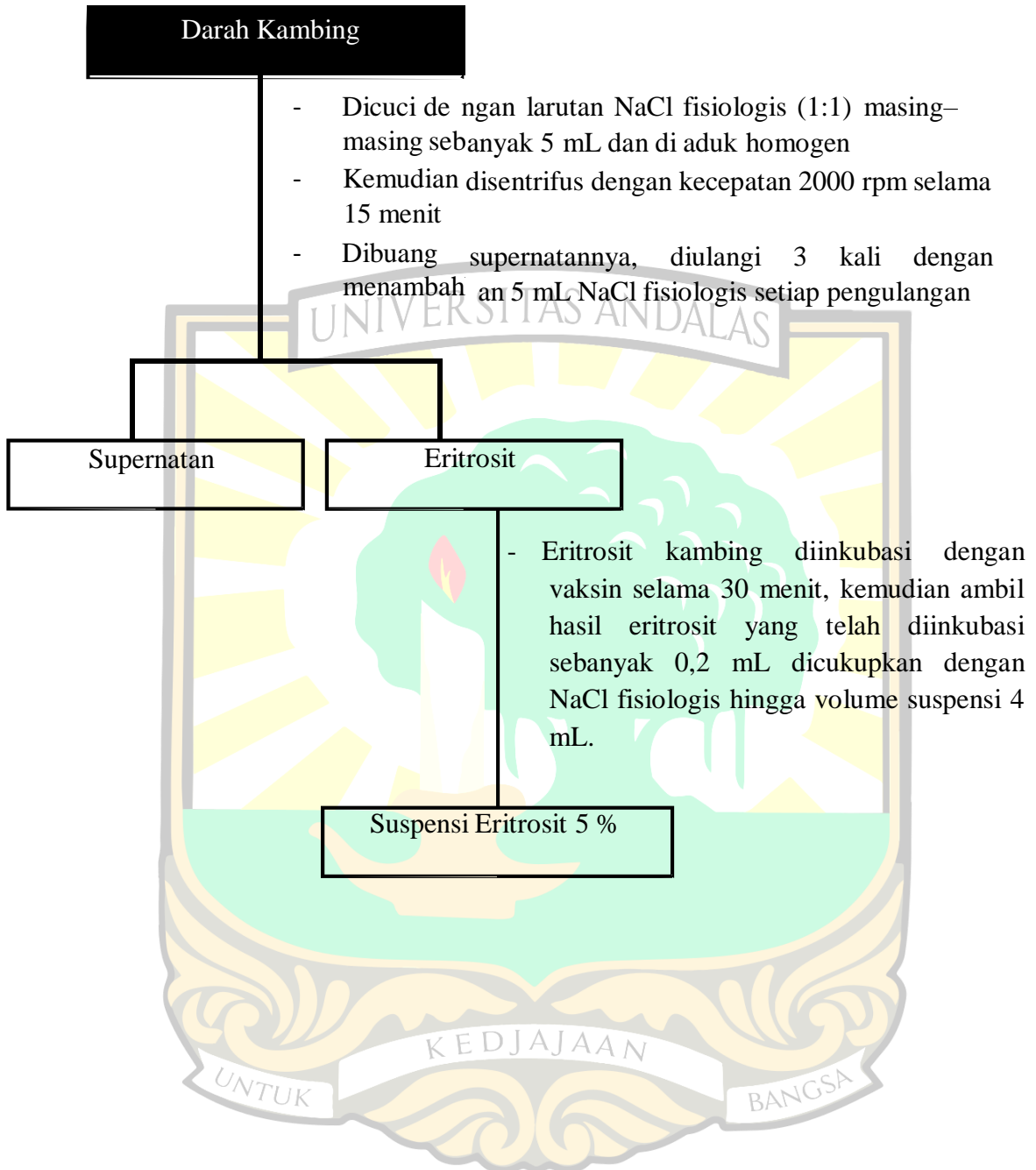
Lampiran 1. (lanjutan)



Lampiran 1. (lanjutan)



Lampiran 1. (lanjutan)



Lampiran 2. Data Hasil Penelitian



# CERTIFICATE OF ANALYSIS

No : 01/PE-FP/2017

<b>GAMBIR TERPURIKASI [<math>\geq 90\%</math> (+)-Catechin]</b>	<b>PRODUCT CODE : PE-001</b>
---	------------------------------

<b>BATCH#</b>	01
<b>DIKELUARKAN</b>	SEPT 2017
<b>DIUJI KEMBALI</b>	SEPT 2020



PERHITUNGAN	METODE	UNIT	SPEKIFIKASI PERSTARATAN	HASIL
Warna	SNI 01-3391-2000		Cokelat muda sampai cokelat kekuningan	Cokelat muda
Bentuk	SNI 01-3391-2000			Berbuk
Kadar (+)-Catechin	SNI 01-3391-2000 Farmakope Herbal Indonesia Ed. I	%	Min 60% Min 90%	91.6%
Kadar Air	SNI 01-3351-2000 & SNI 01-2891-1992 Farmakope Herbal Indonesia Ed. I	%	Maks 14%	9.1%
Kadar Abu	Farmakope Herbal Indonesia Ed. I	%	Maks 0,5 %	0.3%
Kadar Abu Tidak Larut Asam	Farmakope Herbal Indonesia Ed. I	%	Maks 0.1%	0.07%
Bahan tak larut air*	SNI 01-3391-2000	%	Maks 7%	0.4%
Bahan tak larut alkohol*	SNI 01-3391-2000	%	Maks 12%	0.2%

\*% dihitung atas dasar berat kering

Penyimpanan : Simpan pada temperature 25°C ditempat yang terlindung dari cahaya dan kelembaban

Kondisi Pengiriman : Temperatur kamar

Fengesahan :



Kontak :

andalasfitolab@gmail.com



Produce by:  
PT. Andalus Sitawa Fitolab, Jln. Raya Ulu Gadut No. 10C/D, Padang (25164), Indonesia  
Phone : +62 85263 908435, Email: andalusfitolab@gmail.com  
Webshop : andalusfitolab.com

Dipindai dengan CamScanner

Gambar 3. Certificate of analysis gambir terpurifikasi



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS ANDALAS  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
KOMISI ETIK PENELITIAN

Alamat : Kampus Universitas Andalas, Limau Manis Padang Kode Pos 25163  
Telepon : 0751-31746, Faksimile : 0751-32838, Dekan : 0751-39844  
Laman ; <http://fk.unand.ac.id> e-mail : [dekanat@fk.unand.ac.id](mailto:dekanat@fk.unand.ac.id)

**KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK**  
**DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL**

No : 236/UN.16.2/KEP-FK/2021

Tim Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, dalam upaya melindungi Hak Azazi dan Kesejahteraan Subjek Penelitian kedokteran/kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol penelitian dengan judul :

*The Research Ethics Committee of Medical Faculty Andalas University, in order to protect human rights and welfare of medical/health research subject, has carefully reviewed the research protocol entitled :*

**Peforman Katekin (*Uncaria gambir* Roxb.) dan Propolis pada Mencit dalam Titer Antibodi dengan Vaksin H5N1**


Nama Peneliti Utama : Annisia Oksa Wella Putri  
*Principal Researcher*

Nama Institusi : Universitas Andalas  
*Institution*

**Protokol Penelitian tersebut dapat disetujui pelaksanaannya.**  
*and approved the research protocol.*


Padang, 15 Maret 2021

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas  
*Dean of Medical Faculty Andalas University*



Dr. dr. Afriwardi, SH, Sp.KO, MA  
NIP-196704211997021001

Ketua  
*Chairman*



Dr. dr. Yuliarni Syafrita, SpS (K)  
NIP 196407081991032001

**Keterangan/notes:**

Keterangan lolos kaji etik ini berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan.

*This ethical approval is effective for one year from the due date.*

Jika ada kejadian serius yang tidak diinginkan (KTD) harus segera dilaporkan ke Komisi Etik Penelitian.

*If there are Serious Adverse Events (SAE) should be immediately reported to the Research Ethics Committee.*

Gambar 4. Surat keterangan lolos kaji etik (*Ethical clearance*)

Lampiran 3. Hasil Titer Antibodi pada Mencit Putih Jantan

Tabel 3. Uji normalitas angka titer antibodi dari darah mencit putih jantan setelah pemberian sediaan uji selama 14 hari

	Kelompok Uji	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Titer Antibodi	Na CMC 0,5 % (Kontrol)	.300	5	.161	.883	5	.325
	Vaksin H5N1	.231	5	.200	.881	5	.314
	Katekin 200 mg/kgbb	.231	5	.200	.881	5	.314
	Katekin 200 mg/kgbb+ propolis 195 mg/kgbb	.241	5	.200	.821	5	.119

Tabel 4. Analisa statistik angka titer antibodi dari darah mencit putih jantan setelah pemberian sediaan uji selama 14 hari menggunakan ANOVA 1 arah

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	68.200	3	22.733	31.356	.000
Within Groups	11.600	16	.725		
Total	79.800	19			

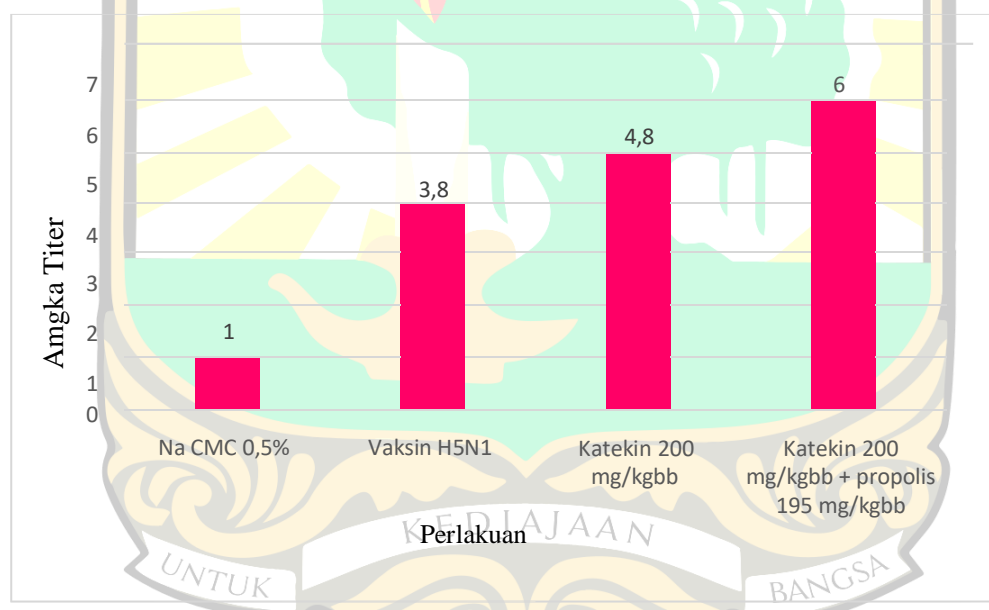


Tabel 5. Uji lanjut Duncan angka titer antibodi dari darah mencit putih jantan setelah pemberian sediaan uji selama 14 hari

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Na CMC 0,5 % (Kontrol)	5	1.00		
Vaksin H5N1	5		3.80	
Katekin 200mg/kgbb	5		4.80	
Katekin 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb	5			6.00
Sig.		1.000	.082	1.000

Tabel 6. Hasil penentuan titer antibodi dari serum mencit putih jantan

Mencit	Na CMC 0,5 %		Vaksin H5N1		Katekin 200mg/kgbb		Katekin 200mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb	
	<sup>2</sup> Log 1	0	<sup>2</sup> Log 8	3	<sup>2</sup> Log 16	4	<sup>2</sup> Log 64	6
1	<sup>2</sup> Log 1	0	<sup>2</sup> Log 8	3	<sup>2</sup> Log 16	4	<sup>2</sup> Log 64	6
2	<sup>2</sup> Log 2	1	<sup>2</sup> Log 8	3	<sup>2</sup> Log 32	5	<sup>2</sup> Log 32	5
3	<sup>2</sup> Log 4	2	<sup>2</sup> Log 32	5	<sup>2</sup> Log 64	6	<sup>2</sup> Log 128	7
4	<sup>2</sup> Log 1	1	<sup>2</sup> Log 16	4	<sup>2</sup> Log 32	5	<sup>2</sup> Log 32	5
5	<sup>2</sup> Log 2	1	<sup>2</sup> Log 16	4	<sup>2</sup> Log 16	4	<sup>2</sup> Log 128	7
Rata-rata	1		3,80		4,80		6,00	
± SD	0,70		0,83		0,83		1,00	

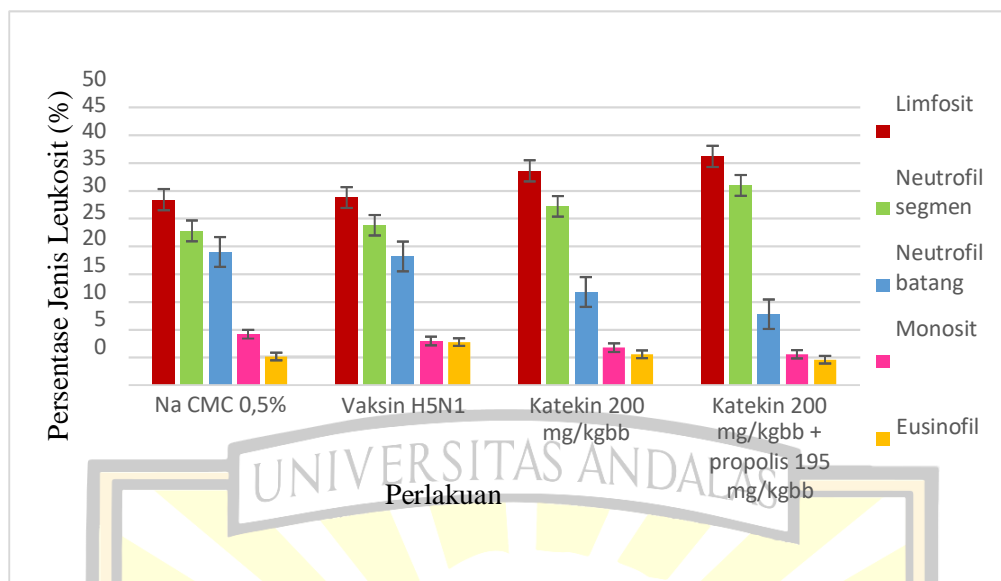


Gambar 5. Grafik hasil penentuan titer antibodi dari serum mencit putih jantan

Lampiran 4. Persentase Jenis Leukosit pada Mencit Putih Jantan

Tabel 7. Persentase jenis leukosit pada mencit putih jantan

Perlakuan	Mencit	Jenis Leukosit (%)				
		Limfosit	Neutrofil Batang	Neutrofil Segmen	Monosit	Eusinofil
Na CMC 0,5% (Kontrol)	1	32	22	28	12	6
	2	29	30	28	9	5
	3	34	24	30	8	3
	4	35	23	24	11	7
	5	37	23	29	6	5
Rata-rata		33,40	24,40	27,80	9,20	5,20
± SD		3,05	2,34	2,28	2,38	1,48
Vaksin H5N1	1	34	21	30	8	7
	2	31	26	26	9	8
	3	36	23	28	7	6
	4	33	24	29	6	8
	5	35	22	31	10	10
Rata-rata		33,80	23,20	28,80	8,00	7,80
± SD		1,92	1,92	1,92	1,58	1,48
Katekin 200 mg/kgbb	1	40	15	32	7	6
	2	37	16	35	6	6
	3	36	19	32	5	8
	4	39	19	32	7	3
	5	41	15	30	9	5
Rata-rata		38,60	16,80	32,20	6,80	5,60
± SD		2,07	2,04	1,78	1,48	1,81
Katekin 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb	1	39	12	38	6	5
	2	41	11	40	4	4
	3	40	13	36	5	6
	4	42	14	34	8	3
	5	44	14	32	5	5
Rata-rata		41,20	12,80	36,00	5,60	4,60
± SD		1,92	1,30	3,16	1,57	1,14



Gambar 6. Grafik persentase jenis leukosit pada mencit putih jantan

Tabel 8 . Uji normalitas persentase limfosit dari darah mencit putih jantan setelah pemberian sediaan uji selama 14 hari

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Limfosit	Na CMC 0,5%	.178	5	.200	.981	5	.940
	Vaksin H5N1	.141	5	.200	.979	5	.928
	Katekin 200 mg/kgbb	.180	5	.200	.952	5	.754
	Katekin 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb	.141	5	.200	.979	5	.928

Tabel 9. Analisa statistik persentase limfosit dari darah mencit putih jantan setelah pemberian sediaan uji selama 14 hari menggunakan ANOVA 1 arah

Limfosit	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	215.750	3	71.917	13.698	.000
Within Groups	84.000	16	5.250		
Total	299.750	19			

Tabel 10. Uji lanjut Duncan persentase limfosit setelah pemberian sediaan uji selama 14 hari

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Na CMC 0,5%	5	33.40	
Vaksin H5N1	5	33.80	
Katekin 200 mg/kgbb	5		38.60
Katekin 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb	5		41.20
Sig.		.786	.092

Tabel 11. Uji normalitas persentase neutrofil segmen dari darah mencit putih jantan setelah pemberian sediaan uji selama 14 hari

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Neutrofil Segmen	Na CMC 0,5%	.335	5	.069	.860	5	.228
	Vaksin H5N1	.141	5	.200	.979	5	.928
	Katekin 200 mg/kgbb	.345	5	.053	.863	5	.238
	Katekin 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb	.136	5	.200	.987	5	.967

Tabel 12. Analisa statistik persentase neutrofil segmen dari darah mencit putih jantan setelah pemberian sediaan uji selama 14 hari menggunakan ANOVA 1 arah

Neutrofil segmen	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	206.800	3	68.933	12.477	.000
Within Groups	88.400	16	5.525		
Total	295.200	19			

Tabel 13. Uji lanjut Duncan persentase neutrofil segmen dari darah mencit putih jantan setelah pemberian sediaan uji selama 14 hari

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Na CMC 0,5%	5	27.80		
Vaksin H5N1	5	28.80		
Katekin 200 mg/kgbb	5		32.20	
Katekin 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb	5			36.00
Sig.		.511	1.000	1.000

Tabel 14. Uji normalitas persentase neutrofil batang dari darah mencit putih jantan setelah pemberian sediaan uji selama 14 hari

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Neutrofil Batang	Na CMC 0,5%	.300	5	.161	.813	5	.103
	Vaksin H5N1	.141	5	.200	.979	5	.928
	Katekin 200 mg/kgbb	.258	5	.200	.782	5	.057

	Katekin 200mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb	.221	5	.200	.902	5	.421
--	---	------	---	------	------	---	------

Tabel 15. Analisa statistik persentase neutrofil batang dari darah mencit putih jantan setelah pemberian sedian uji selama 14 hari menggunakan ANOVA 1 arah

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	428.800	3	142.933	37.863	.000
Within Groups	60.400	16	3.775		
Total	489.200	19			

Tabel 16. Uji lanjut Duncan persentase neutrofil batang dari darah mencit putih jantan setelah pemberian sedian uji selama 14 hari

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Katekin 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb	5	12.80		
Katekin 200 mg/kgbb	5		16.80	
Vaksin H5N1	5			23.20
Na CMC 0,5%	5			24.00
Sig.		1.000	1.000	.524



Tabel 17. Uji normalitas persentase eusinofil dari darah mencit putih jantan setelah pemberian sediaan uji selama 14 hari

Eusinofil	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
	Na CMC 0,5%	.246	5	.200	.956	5	.777
	Vaksin H5N1	.246	5	.200	.956	5	.777
	Katekin 200 mg/kgbb	.213	5	.200	.963	5	.826
	Katekin 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb	.237	5	.200	.961	5	.814

Tabel 18. Analisa statistik persentase eusinofil dari darah mencit putih jantan setelah pemberian sediaan uji selama 14 hari menggunakan ANOVA 1 arah

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	29.200	3	9.733	4.326	.021
Within Groups	36.000	16	2.250		
Total	65.200	19			

Tabel 19. Uji lanjut Duncan persentase eosinofil dari darah mencit putih jantan setelah pemberian sediaan uji selama 14 hari

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Katekin 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb	5	4.60	
Na CMC 0,5%	5	5.20	
Katekin 200 mg/kgbb	5	5.60	
Vaksin H5N1	5		7.80
Sig.		.333	1.000

Tabel 20. Uji normalitas persentase monosit dari darah mencit putih jantan setelah pemberian sediaan uji selama 14 hari

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Monosit	Na CMC 0,5%	.175	5	.200	.974	5	.899
	Vaksin H5N1	.136	5	.200	.987	5	.967
	Katekin 200mg/kgbb	.246	5	.200	.956	5	.777
	Katekin 200mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb	.254	5	.200	.914	5	.492

Tabel 21. Analisa statistik persentase monosit dari darah mencit putih jantan setelah pemberian sediaan uji selama 14 hari menggunakan ANOVA 1 arah

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	36.000	3	12.000	3.780	.032
Within Groups	50.800	16	3.175		
Total	86.800	19			

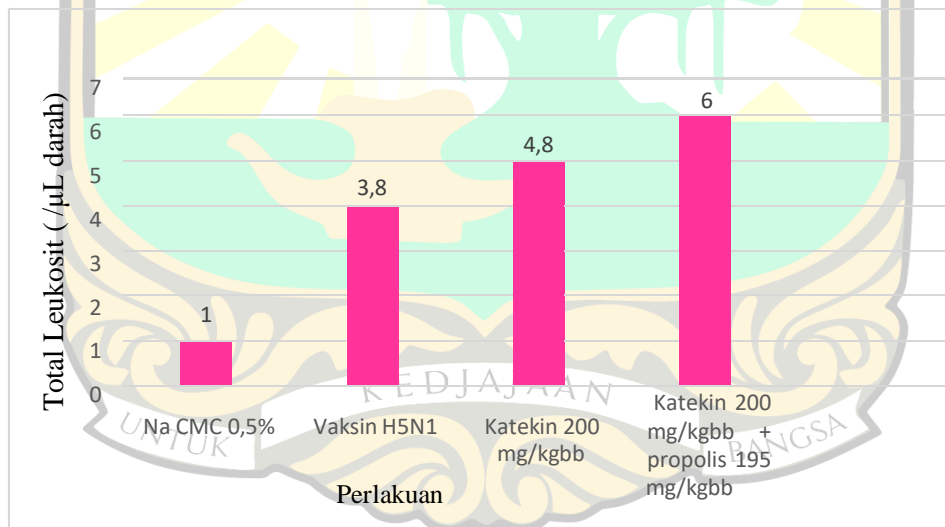
Tabel 22. Uji lanjut Duncan persentase monosit dari darah mencit putih jantan setelah pemberian sediaan uji selama 14 hari

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Katekin 200mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb	5	5.60	
Katekin 200 mg/kgbb	5	6.80	6.80
Vaksin H5N1	5	8.00	8.00
Na CMC 0,5 %			9.20
Sig.		.059	.059

Lampiran 5. Total Leukosit pada Mencit Putih Jantan

Tabel 23. Total leukosit pada mencit putih jantan

Mencit	Total leukosit ( $\mu\text{L}$ darah)			
	Na CMC 0,5%	Vaksin H5N1	Katekin 200 mg/kgbb	Katekin 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb
1	5.650	8.550	7.950	9.150
2	6.750	8.250	8.850	10.250
3	7.850	8.450	8.750	10.950
4	7.550	8.950	9.550	11.450
5	7.950	8.250	10.950	11.750
Rata-rata	7.150	8.490	9.210	10.710
$\pm$ SD	961,769	288,097	1126,055	1040,673



Gambar 7. Grafik total leukosit pada mencit putih jantan

Tabel 24. Uji normalitas total leukosit pada mencit putih jantan setelah pemberian sediaan uji selama 14 hari

		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Total Leukosit	NaCMC 0,5%	.261	5	.200	.870	5	.266
	Vaksin H5N1	.218	5	.200	.871	5	.269
	Katekin 200 mg/kgbb	.225	5	.200	.943	5	.687
	Katekin 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb	.191	5	.200	.940	5	.664

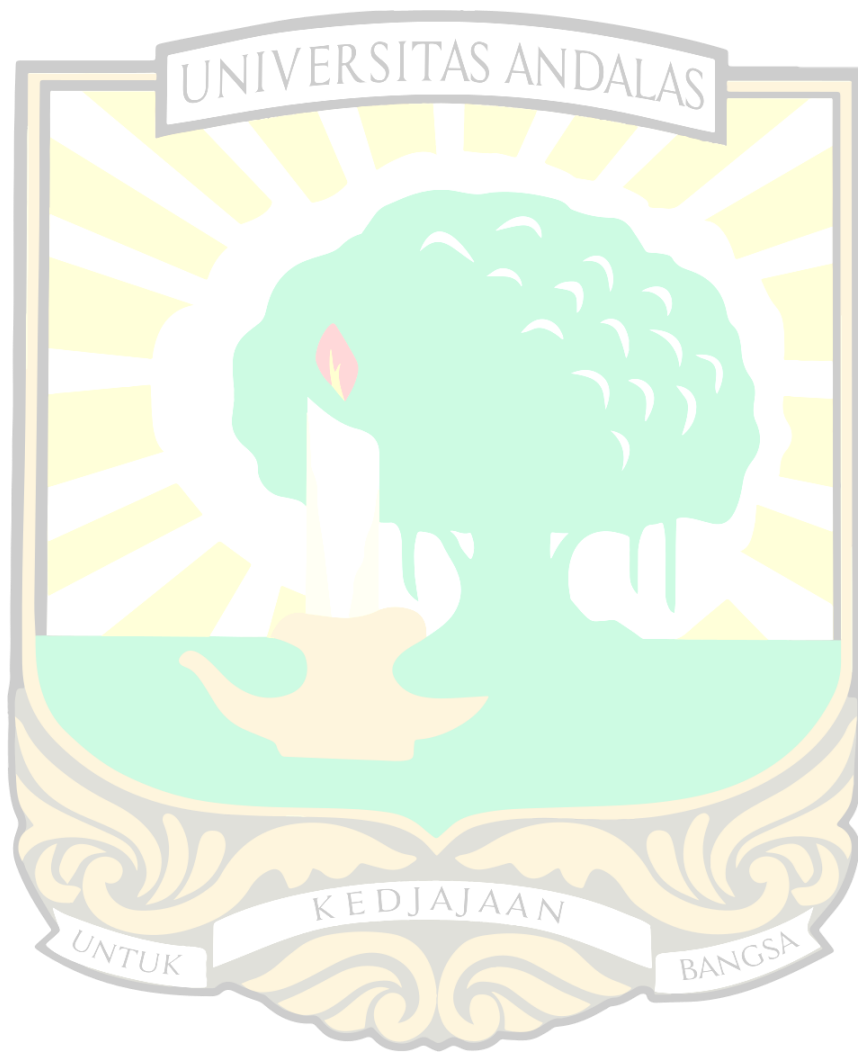
Tabel 25. Analisa statistik total leukosit pada mencit putih jantan setelah pemberian sediaan uji selama 14 hari menggunakan ANOVA 1 arah

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	33012000.000	3	11004000.000	13.104	.000
Within Groups	13436000.000	16	839750.000		
Total	46448000.000	19			





Tabel 26. Uji lanjut Duncan total leukosit pada mencit putih jantan setelah pemberian sediaan uji selama 14 hari

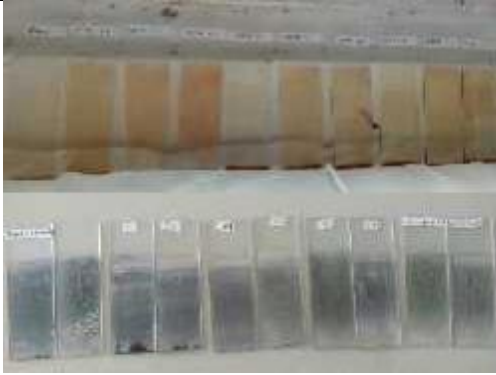


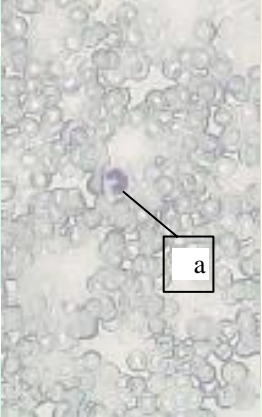
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
NaCMC 0,5%	5	7150.00		
Vaksin H5N1	5		8490.00	
Katekin 200 mg/kgbb	5		9210.00	

Katekin 200 mg/kgbb + propolis 195 mg/kgbb	5			10710.00
Sig.		1.000	.232	1.000

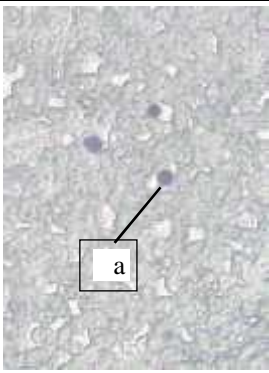

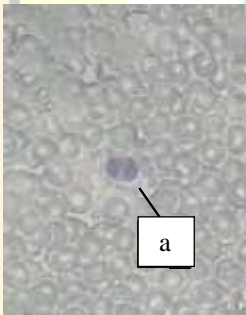
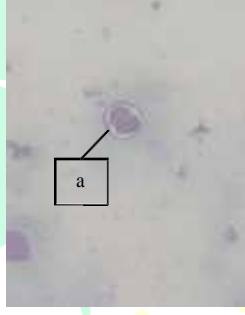


Lampiran 6 . Dokumentasi Penelitian

	
<p>Gambar 8. Serbuk Gambir Terpurifikasi</p>	<p>Gambar 9. Propolis</p>
	
<p>Gambar 10. Pemberian suspensi gambir terpurifikasi (<i>Uncaria gambir</i> Roxb.) dan propolis pada hewan uji</p>	<p>Gambar 11. Hasil penentuan angka titer dengan blanko</p>

	
<p>Gambar 12. Hapusan darah untuk perhitungan persentase jenis leukosit</p>	<p>Gambar 13. Pengujian perhitungan total leukosit menggunakan alat hemasitometer</p>
	
<p>Gambar 14. Sel leukosit dalam kamar hitung hemositometer dilihat dengan mikroskop perbesaran 10x</p>	<p>Gambar 15. Sel neutrofil batang pada uji hapusan darah dilihat dengan mikroskop pada perbesaran 40x</p>



	
<p>Gambar 16. Sel limfosit pada uji hapusan darah dilihat dengan mikroskop pada perbesaran 40x</p>	<p>Gambar 17. Sel neutrofil segmen pada uji hapusan darah dilihat dengan mikroskop pada perbesaran 40x</p>
	
<p>Gambar 18. Sel eusinofil pada uji hapusan darah dilihat dengan mikroskop pada perbesaran 40x</p>	<p>Gambar 19. Sel monosit pada uji hapusan darah dilihat dengan mikroskop pada perbesaran 40x</p>