

**SKRIPSI**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK TANAMAN LIDAH ULAR  
(*Oldenlandia corymbosa* Linn) TERHADAP AKTIVITAS  
PEMBENTUKAN ANTIBODI DENGAN ANTIGEN NEWCASTLE  
DISEASE PADA AYAM PEDAGING**



OLEH :

LULUK DWI ERNAWATI

SURABAYA - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

**SURABAYA**

**1993**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK TANAMAN LIDAH ULAR (*Oldenlandia  
corymbosa* Linn.) TERHADAP AKTIVITAS PEMBENTUKAN  
ANTIBODI DENGAN ANTIGEN NEWCASTLE DISEASE  
PADA AYAM PEDAGING**

**Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan**

**pada**

**Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga**



**oleh**

**LULUK DWI ERNAWATI**

**068711316**

**menyetujui**

**Konisi Pembimbing**

**Emile Bambang S.T., MS, Drh**

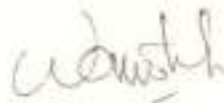
**Pembimbing Pertama**

**Rahayu Ernawati, MSc, Drh**

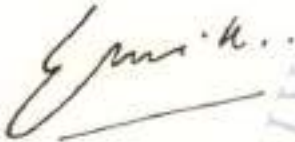
**Pembimbing kedua**

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan.

menyetujui,  
Panitia Penguji



(Nanik Sianita, S.U., Drh.)  
Ketua



(Erni Rosilawati, M.S., Drh)  
Sekretaris



(Susilohadi W.T., M.S., Drh)  
Anggota



(Emile Bambang S.T, M.S., Drh)  
Anggota



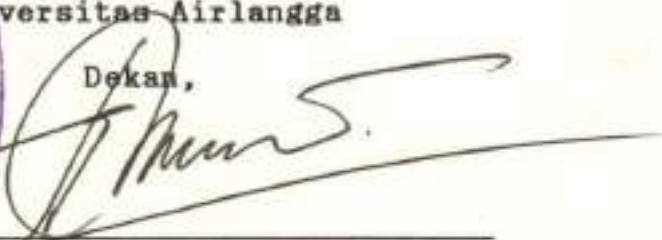
(Rahayu Ernawati, M.Sc, Drh)  
Anggota

Surabaya, 10 April 1993

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



(Dr. H. Rochiman Sasmita, M.S., Drh.)  
NIP. 130 350 738



PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK TANAMAN LIDAH ULAR (*Oldenlandia corymbosa* Linn.) TERHADAP AKTIVITAS PEMBENTUKAN ANTIBODI DENGAN ANTIGEN *NEWCASTLE DISEASE* PADA AYAM PEDAGING

Luluk Dwi Ernawati

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak tanaman lidah ular (*Oldenlandia corymbosa* Linn.) terhadap aktivitas pembentukan antibodi dengan antigen *Newcastle Disease* sebagai tolok ukur pada ayam pedaging sedangkan titer antibodi yang terbentuk di uji dengan Uji Hambatan Hemaglutinasi (HI test) Mikrotehnik.

Sejumlah 80 ekor anak ayam tipe Hubbard berumur 3 minggu dengan bobot badan rata-rata 500 g. Selama percobaan anak ayam tersebut diberi pakan komersial 511 (*starter*) dan 521 (*finisher*). Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (*Complete Randomized Design*). Sebelum penelitian dilakukan, pada umur 18 hari diambil 20 sampel darah secara acak, diambil serumnya untuk diadakan pengukuran titer antibodi maternal yang tersisa. Pemberian ekstrak tanaman lidah ular dilakukan pada hari ke 19 dengan volume 2,5 ml serta dosis (KI) 10 mg/500g BB, (KII) 20 mg/500g BB dan (KIII) 40mg/500g BB sedangkan KIV tanpa pemberian ekstrak tanaman lidah ular dan digunakan sebagai kontrol. Vaksinasi dilakukan pada umur 21 hari, dosis vaksin yang diberikan sebanyak 0,5 ml pada semua kelompok perlakuan dengan vaksin strain F secara intramuskular.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak tanaman lidah ular per oral merangsang pembentukan antibodi dengan antigen *Newcastle Disease* sebagai tolok ukur, hasil uji statistik dengan Sidik Ragam (Varian F) pada minggu pertama tidak ada perbedaan yang nyata diantara perlakuan ( $F_{hitung} < F_{Tabel 0,05}$ ), tetapi pada minggu ke 2, ke 3 dan ke 4 setelah perlakuan terdapat perbedaan yang nyata ( $F_{hit} > F_{Tabel 0,05}$ ). Antibodi yang terbentuk mencapai puncak pada minggu ke III setelah perlakuan. Kesimpulan yang dapat diambil adalah tanaman lidah ular dapat dipakai sebagai imunostimulan terhadap pembentukan antibodi dengan antigen ND sebagai tolok ukur dengan dosis optimum 20mg/500g BB pada ayam pedaging.

**QS. AL-ALAQ 1-5**

" Bacalah dengan menyebut asma Robb-mu yang menciptakan. Dia menciptakan manusia dari segumpal darah. Bacalah dan Robb-mu lah yang Maha Pemurah yang mengajarkan manusia dengan perantaraan kalam. Dia mengajarkan kepada manusia apa yang tidak diketahuinya".



**SKRIPSI INI KUPERSEMBAHKAN KEPADA  
SEMUA YANG KUCINTAI TERUTAMA AYAH, IBU, KAKAK  
SERTA ADIK-ADIKKU TERCINTA**



## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadirat Alloh subhana wata'alla atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini.

Dengan rasa hormat, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih yang tulus tak terhingga kepada bapak drh. Emile Bambang Sasongko, MS selaku pembimbing pertama dan ibu drh. Rahayu Ernawati, MSc selaku pembimbing kedua yang selalu memberi bimbingan, saran, dan nasihat yang sangat besar artinya dalam penyusunan skripsi ini.

Demikian pula penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Dekan serta staf pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya atas bantuan moral dan material serta kesempatan yang telah diberikan, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi.

Tak lupa penulis mengucapkan terimakasih kepada Kepala Laboratorium Virologi dan Imunologi serta Laboratorium Mikrobiologi dan Bacteriologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga beserta staf pengajar dan karyawan, atas kesempatan, sarana dan bantuan yang diberikan dalam melaksanakan penelitian ini.

Kepada Ayah, Ibu dan saudaraku terkasih penulis haturkan rasa hormat dan terima kasih yang dalam serta

tulus atas perhatian, nasihat dan dorongan semangat serta do'a restunya selama dan sampai berakhirnya pendidikan.

Akhirnya kepada semua pihak yang tidak sempat penulis sebutkan di atas yang telah memberikan bantuan serta perhatiannya, diucapkan banyak terimakasih.

Semoga segala amal mendapat balasan yang berlipat ganda dari Allah SWT. Amien.



## DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL .....	vi
DAFTAR GAMBAR .....	vii
DAFTAR LAMPIRAN .....	viii
PENDAHULUAN .....	1
Latar Belakang .....	1
Perumusan Masalah .....	4
Tujuan Penelitian .....	4
Landasan Pemikiran .....	5
Hipotesis Penelitian .....	5
Manfaat Penelitian .....	6
TINJAUAN PUSTAKA .....	7
Tanaman Lidah Ular .....	7
Penyakit <i>Newcastle Disease</i> .....	11
Vaksin dan Vaksinasi .....	14
Imunologi pada Ayam .....	16
Manipulasi Sistem Imun, Imunomodulasi/ Imunoregulasi .....	24
MATERI DAN METODA .....	28
Tempat dan Lina Penelitian .....	28
Materi Penelitian .....	28
Pembuatan Darah Merah Ayam Lina Persen ..	29
Pembuatan Antigen Empat HA Unit .....	31
Cara Pengambilan Serum .....	32



Uji Hambat Hemaglutinasi(HI) Mikrotehnik.	32
Rancangan Percobaan dan Analisis Data ...	33
HASIL PENELITIAN .....	34
PEMBAHASAN .....	43
KESIMPULAN DAN SARAN .....	53
RINGKASAN .....	54
DAFTAR PUSTAKA .....	56
LAMPIRAN .....	61



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Uji Bioaktivitas Tanaman Lidah Ular Terhadap Sistem Fagositosis, Respon Seluler dan Respon Humoral pada Mencit.....	27
2. Pemeriksaan Titer Antibodi Maternal ....	34
3. Pemeriksaan Titer Antibodi Rata-rata (GMT Log <sub>2</sub> ) Mulai Satu Minggu hingga Empat Minggu Setelah Perlakuan .....	35
4. Titer Antibodi Satu Minggu Setelah Perlakuan .....	36
5. Titer Antibodi Dua Minggu Setelah Perlakuan .....	37
6. Notasi Pemberian Ekstrak Tanaman Lidah Ular Terhadap Pembentukan Titer Antibodi Dua Minggu Setelah Perlakuan .....	38
7. Titer Antibodi Tiga Minggu Setelah Perlakuan .....	39
8. Notasi Pengaruh Pemberian Ekstrak Tanaman Lidah Ular Terhadap Aktivitas Pembentukan Titer Antibodi Tiga Minggu Setelah Perlakuan .....	40
9. Titer Antibodi Empat Minggu Setelah Perlakuan .....	41
10. Notasi Pengaruh Pemberian Ekstrak Tanaman Lidah Ular Terhadap Pembentukan Titer Antibodi Empat Minggu Setelah Perlakuan .....	42

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanggap Sel B Terhadap Antigen .....	22
2. Skena Interaksi-interaksi Sistem Kekebalan .....	24
3. Tanaman Lidah Ular ( <i>Oldenlandia corymbosa</i> Linn.) .....	77
4. Pemberian Ekstrak Tanaman Lidah Ular Secara Oral .....	77
5. Alat-alat Pembuatan Ekstrak Tanaman Lidah Ular .....	78
6. Pemberian Vaksin Secara Intramuskular.	78
7. Pengambilan Darah Lewat <i>Vena Axilaris</i> .	78
8. Pemeliharaan Ayan dalam Kandang .....	79
9. Alat Pemusing (Sentrifuge).....	80



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Analisis Statistik .....	61
2. Analisis Statistik Titer Antibodi ( $\text{Log}_2$ ) Satu Minggu Setelah Perlakuan .....	64
3. Analisis Statistik Titer antibodi ( $\text{Log}_2$ ) Dua Minggu Setelah Perlakuan .....	66
4. Analisis Statistik Titer Antibodi ( $\text{Log}_2$ ) Tiga Minggu Setelah Perlakuan .....	69
5. Analisis Statistik Titer Antibodi ( $\text{Log}_2$ ) Empat Minggu Setelah Perlakuan .....	72
6. Pembuatan Ekstrak Tanaman Lidah Ular ...	75



## BAB I PENDAHULUAN

### Latar Belakang Masalah

Penanfaatan tanaman serta uraian-uraian mengenai tanaman obat telah dikenal sejak abad-abad permulaan, berdasarkan nalar atau rasional serta pengalaman digunakan untuk penyembuhan penyakit tertentu.

Pada tradisi masyarakat kita, pemakaian tanaman untuk tujuan pengobatan sudah dikenal secara luas dan sering populer dengan nama tanaman obat tradisional.

Tanaman obat tradisional penggunaannya terutama ditujukan untuk memelihara dan meningkatkan kesehatan, mencegah dan mengobati penyakit serta memulihkan kesehatan, yang digunakan secara turun-temurun oleh masyarakat (Azwar, 1980).

Dewasa ini penggunaan obat tradisional Indonesia makin hari makin bertambah pesat, namun sebagian besar penggunaan dan kegunaannya masih berdasarkan tradisi, kepercayaan dan informasi lisan maupun tulisan. Penggunaannya sebagai obat belum banyak didukung oleh data penelitian yang dapat dipertanggungjawabkan (Sirait, 1986).

Khusus untuk upaya pengembangan obat tradisional, saat ini sedang dikembangkan cabang ilmu baru yang dikenal dengan nama *Fitomedica*. Diharapkan dapat diketahui khasiat lebih lanjut dari tanaman yang bersangkutan,

apalagi sekarang juga telah beredar di masyarakat jamu buatan pabrik.

Pemilihan tanaman sebagai obat tradisional didasarkan pada pengamatan panca indera antara lain : warna, bau atau aroma dan rasa. Namun yang mendapat prioritas untuk dikembangkan adalah tanaman obat yang bahan bakunya mudah diperoleh di Indonesia (Hargono, 1985).

Salah satu dari tanaman-tanaman tradisional yang dapat digunakan sebagai obat tradisional tersebut adalah tanaman rumput lidah ular (*Oldenlandia corymbosa* Linn), merupakan salah satu dari 300 jenis *Oldenlandia* dari familia *Rubiaceae* dan banyak tumbuh di Indonesia (Trease, 1983).

Di Indonesia khususnya di Jawa Timur tanaman ini banyak ditemukan di Jombang, Surabaya dan Pamekasan (Madura) dan mulai banyak digunakan dalam pengobatan tradisional. Penaknaan tanaman ini biasanya dalam bentuk ekstrak dan digunakan secara oral (Astika; Soewandi; dan Djatniko, 1975). Berdasarkan informasi yang ada baik secara empiris dari sin-she dan dalam majalah tanaman ini banyak digunakan untuk pengobatan penyakit kencing manis (Diabetes mellitus), kencing batu, penyakit kuning (dikombinasikan dengan obat Cina), poliep, obat penenang dan diare serta kanker (Wijaya, 1985). Menurut Haida (1973) tanaman lidah ular berpengaruh terhadap tekanan darah anjing sedangkan hasil yang sama ditunjukkan oleh Muhammad (1977) dengan hewan coba kucing.



Patut disayangkan bahwa pemanfaatan tanaman tradisional dalam praktek kedokteran hewan di Indonesia masih sangat terbatas. Hal ini disebabkan karena kurangnya dukungan komunikasi peneliti ilmiah dengan para dokter hewan yang diperlukan secara mendasar. Sebagai dasar konsep obat dan pengobatan modern ialah misalnya yang menyangkut persyaratan-persyaratan fitokimia, adanya bukti manfaat klinik obat, keamanan dan lain sebagainya. Padahal komunikasi tersebut sangat membantu dokter hewan maupun peternak dalam menanggulangi penyakit hewan yang disebabkan karena virus, bakteri maupun parasit yang dalam kenyataannya sangat menghambat berkembangnya sektor peternakan di Indonesia.

Suatu contoh penyakit viral yang dapat menghambat produksi adalah penyakit tetelo (*Newcastle Disease* = ND) yang bersifat fatal dan mudah sekali menular. Diantara bangsa unggas, ayamlah yang paling peka (Dorsey dan Gillespie, 1973).

Kejadian wabah penyakit ND ini berlangsung terus-menerus sepanjang tahun, hanya frekuensinya saja yang berbeda. Ditinjau dari segi ekonomis penyakit ini mempunyai arti yang sangat penting, karena dapat menyebabkan kematian yang cukup tinggi bahkan dapat mencapai 100 persen (Anoninus, 1978).

Pengobatan terhadap penyakit ini dapat dikatakan sebagai usaha yang sia-sia, sebab tidak ada antibiotika atau khemoterapi yang berdaya kerja luas sekalipun yang

dapat memberi hasil yang berarti, dikarenakan sifat sifat dan daya tahan virus ND yang resisten terhadap obat-obatan tersebut (Sofjan, 1990).

#### Perumusan Masalah

Usaha pengendalian dengan vaksinasi sudah sejak lama dilakukan namun belum mencapai hasil yang maksimal, baik dari segi pelaksanaan maupun tingkat kekebalan yang dihasilkan ( Anonimus, 1982 ). Oleh sebab itu, penggunaan zat atau tanaman obat yang dapat meningkatkan reaksi tanggap kebal terhadap beberapa jenis penyakit dirasakan perlu untuk meningkatkan efisiensi penggunaan vaksin.

Berpangkal dari permasalahan di atas, penulis tertarik untuk mencoba mengetahui sejauh mana pengaruh pemberian ekstrak tanaman lidah ular sebagai obat tradisional yang diduga sebagai tanaman yang dapat meningkatkan tanggap kebal terhadap pembentukan zat kebal (antibodi) dengan antigen ND sebagai tolok ukur.

#### Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui lebih lanjut pengaruh pemberian ekstrak tanaman lidah ular sebagai *imunostimulan* mampu meningkatkan aktivitas pembentukan antibodi dengan antigen ND sebagai tolok ukur.



### Landasan Pemikiran

Lidah ular merupakan tanaman tradisional yang dapat dipergunakan untuk mengatasi berbagai penyakit, oleh karena itu banyak peneliti mencoba untuk mengetahui khasiat dan kandungan dari tanaman lidah ular ini. Telah dilakukan penelitian pendahuluan tentang khasiat tanaman lidah ular terhadap beberapa komponen sistem kekebalan pada mencit. Uraian dan data yang diperoleh menunjukkan pemberian ekstrak tanaman lidah ular dalam bentuk suspensi dan filtrat dapat meningkatkan pembentukan antibodi tertinggi pada 48 Jan dan pembentukan antibodi ini tetap dipertahankan sampai minggu ke III (Safitri, 1991). Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa tanaman lidah ular mengandung berbagai macam zat berkhasiat. Astika dkk., (1975), melakukan percobaan *khromatografi* tanaman lidah ular ini mengandung *alkaloida* dan *steroida* yang berkhasiat untuk berbagai macam penyakit.

### Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah adanya pengaruh pemberian ekstrak tanaman lidah ular terhadap aktivitas pembentukan *imunoglobulin* (antibodi) dengan antigen ND sebagai tolok ukur, titer antibodi diukur melalui sampel serum yang diuji dengan uji HI (HI Test).



### Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat sebagai berikut : didapatkan bukti-bukti ilmiah dari hasil uji aktivitas pembentukan antibodi yang ditimbulkan akibat pemberian tanaman lidah ular sebagai *immunostimulan* dengan antigen ND sebagai tolok ukur, sehingga akan menunjang serta meningkatkan pemakaian tanaman ini dari yang bersifat empiris menjadi ilmiah.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Tanaman Lidah Ular ( *Oldenlandia corymbosa* Linn )

##### Klasifikasi ( Backer, 1965 )

Divisi	:	<i>Spermatophyta</i>
Anak divisi	:	<i>Angiospermae</i>
Kelas	:	<i>Dicotyledoneae</i>
Bangsa	:	<i>Rubiales</i>
Suku	:	<i>Rubiaceae</i>
Marga	:	<i>Oldenlandia</i>
Jenis	:	<i>Oldenlandia corymbosa</i> Linn.

Menurut Burkill (1956), tanaman lidah ular ini mempunyai nama lain di beberapa daerah dan negara sebagai berikut : siku-siku, pokok telur belangkas, sekembang, sekatan, akar lidah jin, pokok remut, chong chirat, ulasiman aso (Tagalog), two flower (Inggris), pai hua se setcau (China), madder (India) dan piriango (Nepal).

Tanaman lidah ular merupakan tumbuhan herba yang tumbuh liar hampir di seluruh daerah tropis. Tanaman ini dapat tumbuh di daerah dengan ketinggian antara 1 - 425 m dari permukaan laut (Merrill, 1912). Tanaman ini merupakan herba kecil-kecil, mempunyai cabang 1 - 2, tinggi 20 - 50 cm. Waktu masih muda tumbuhnya tegak dan bila tua merebah. Bentuk batang persegi empat, permukaan daun licin dengan ukuran panjang 1,5 - 3 cm dan lebar

0,15 - 0,7 cm. Duduk daun berhadapan, buahnya kecil-kecil ( Backer, 1965 dan Merrill, 1912 ).

Berdasarkan data skrining fitokimia yang dilakukan pada tanaman lidah ular ini, diduga mengandung senyawa *triterpenoid*, *sterol*, *alkaloida*, *tanin* dan ion-ion organik (Astika dkk, 1975 dan Pattiasina, 1988).

*Triterpenoid* adalah senyawa dengan inti dasar karbon yang mengandung *isopren* ( $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{C}=\text{CH}_2$ ) dimana merupakan derivat biosintesa dari hidrokarbon  $\text{C}_{30}$  aseklik yaitu : *SQUALENA*. *Squalena* merupakan hidrokarbon alam penting ada sebagai komponen utama dari sebum (minyak kulit), dalam minyak hati atau limpa ikan hiu, sebagai pelopor biosintetik kolesterol. Mekanisme biosintesa senyawa *triterpenoid* dari asam *mevalonat* menjadi *squalena* melalui reaksi oksidasi dan non oksidasi. *Triterpenoid* mempunyai struktur siklik relatif kompleks, sering mengandung gugus alkohol, aldehid atau asam karboksilat. *Triterpenoid* dapat dibagi menjadi empat golongan senyawa yaitu : *Triterpenoid pentasiklik*, *steroid*, *saponin* dan *kardiac glikosida*. Berdasarkan hasil penelitian Hui Wan Haan (1977) didapatkan bahwa jenis *oldenlandia* umumnya mengandung senyawa *triterpenoid pentasiklik* asam seperti *Oleanolat acid* ( asam *Oleanolat*), *stigmasterol* dan *sitosterol*.

*Steroida* mempunyai stuktur umum adalah kerangka *sikle pentano perhidro fenstren* (Page, 1985 dan Pattiasina, 1988). Di alam banyak terdapat dalam tanaman



(suku *Solanaceae*, *Liliaceae*) dan hewan . Pada hewan dan manusia *steroida* terbagi dalam tiga kelompok utama yaitu : garam empedu, hormon *steroida* dan komponen membran *sterioda*. *Steroid* berdasarkan strukturnya secara garis besar dibagi menjadi dua golongan yaitu : *steroida* sederhana dan *steroid* kompleks (misalnya : *sterol*, *steroid alkaloid* dan *sapogenin* ). *Sterol* biasanya mempunyai inti *kolestan*, *ergostan* dan *stigmastan*. Beberapa *sterol* seperti  $\beta$  *sitosterol* dan *stigmasterol* dapat digunakan sebagai bahan baku obat *kortikosteroid* dan obat-obat kontrasepsi.

*Tannin* merupakan golongan senyawa fenolik, yang termasuk golongan ini adalah *flavoida*, *tannin*, derivat *fenilpropan* dan senyawa *fenol* sederhana. Senyawa ini termasuk senyawa kecil, maka umumnya mempunyai bioaktivitas berkaitan dengan reaksi imunobiokimia (sistem komplemen) atau reaksi biokimia intrasel. *Tannin* merupakan suatu zat yang bersifat *astringensia*, dapat mengendapkan putih telur serta dapat menghambat reaksi toksin. *Tannin* membentuk senyawa kompleks protein, setelah dicerna protein yang tersamak tidak diserap penuh, karena proteolitik tak mampu menguraikannya secara penuh menjadi asam amino (Trease, 1978 dan Harborne, 1987).

Tanaman lidah ular banyak digunakan sebagai sebagai obat tradisional, pemakaian tanaman ini biasanya berupa dekok, infusa dan pasta untuk pemakaian luar ( Burkill,

1956 dan Astika dkk, 1975). Di Indonesia tanaman ini digunakan untuk mengobati kencing manis, kencing batu, anti tekanan darah tinggi, iritasi lambung dan stimulan-sia (Sondakh, 1974 ; Astika dkk, 1975 ; dan Muhammad, 1977). Tanaman ini oleh sin-she di Pamekasan digunakan sebagai obat penyakit kanker (Wijaya, 1985), bahkan dalam kalangan kedokteran tanaman ini direbus dan dicampur akar alang-alang dan sedikit gula jawa, diminumkan untuk memberantas kanker (Soepardi, 1984).

Di India tanaman ini digunakan untuk obat demam, iritasi lambung, tonikum, obat cacing dan obat penenang (sedativa) (Chopra, 1956 ; Dyer, 1985 dan Nakarani 1974). Di Philipina digunakan sebagai obat gonorrhoe, obat demam, obat penenang, obat cacing, iritasi lambung, dalam bentuk dekok biasanya ditambahkan sedikit gula atau susu dan pengharum. Informasi terakhir di Philipina tanaman ini digunakan sebagai obat penyakit hepar, sedangkan di Malaysia penggunaan tanaman ini hampir sama sebagaimana di India dan Philipina (Merrill, 1912 dan Quisumbing, 1978). Di Birma digunakan dalam bentuk kombinasi dengan *Mullugo stricta* untuk mengobati demam, komplikasi liver dan obat cacing (Chowdury, 1979).



## B. Penyakit *Newcastle Disease* ( ND )

*Newcastle Disease* (ND) merupakan penyakit viral menular yang bersifat fatal dan akut pada unggas peliharaan dan beberapa burung, yang ditandai dengan gejala pernafasan seperti : batuk, bersin, ngorok dan seringkali disertai gejala syaraf (Siegmud, 1978). Penyakit ini dikenal dengan nama antara lain : *Pseudo Vogelpest*, *Pseudo Fowl plaque*, *Pneumo Encephalitis avium* dan *Ranikhet Disease* (Lancaster, 1977 dan Anonimus, 1981). Di Indonesia ND lebih dikenal dengan nama Pes Ayan, Sampar Ayan atau penyakit Tetelo (Ressang, 1984).

Virus *Newcastle Disease* termasuk dalam golongan *Paramyxovirus* yang tersusun dari Asam Ribonukleik ( RNA ) berantai tunggal (Single Stranded RNA) dengan struktur helikal, mempunyai amplop yang mengandung lemak (Beard dan Hanson, 1984). Bagian luar virus terdapat amplop dan bagian dalam terdapat *nukleokapsid* berbentuk spiral (*Helix*) yang berukuran 17 nanometer (Allan, Lancaster dan Toth, 1978). Bagian amplop tersebut terdiri dari *hemaglutinin* dan enzim *neuraminidase* ( Ackerman, 1964 ).

Semua strain virus ND dapat menghemaglutinasi sel darah merah hewan, antara lain : amphibi, reptil,



kerbau, manusia golongan darah O, marmut, mencit, angsa, itik, entok, kalkun dan kakaktua (Lancaster, 1966). Sedangkan sel darah merah babi, kelinci, kambing dan merpati hanya dapat dihemaglutinasi oleh beberapa strain virus ND saja (Santhia, Brati dan Sudane, 1985). Walaupun virus ND dapat menghemaglutinasi sel darah merah beberapa hewan, tetapi sel darah merah ayan sampai saat ini tetap dipakai standart uji hemaglutinasi (Lancaster dan Alexander, 1975).

Adanya hemaglutinasi ini, pertama kali diterangkan oleh Burnet (1942) (Hanson, 1978). Proses hemaglutinasi ini mempunyai dua tahapan, pertama amplop virus menempel pada reseptor sel darah merah, kemudian disertai aktivitas enzim *neuraminidase* merusak reseptor tersebut. Tahap kedua pelepasan virus dari permukaan sel (Hanson, 1978). Selain itu virus juga mempunyai enzim *hemolisin* yang dapat melisiskan sel darah merah yang diaglutinasikan (Beard dan Hanson, 1984). Sifat dapat menghemaglutinasi ini sangat penting karena dapat dipakai untuk membedakan penyakit-penyakit lain yang mempunyai gejala klinis mirip ND tetapi tidak mempunyai sifat mengaglutinasi sel darah merah.

Daya tahan virus ND terhadap panas lebih tinggi dari virus lain, bahkan ada galur tertentu yang tahan terhadap suhu 56 derajat Celcius selama 30 menit, sedangkan pada suhu 37 derajat Celcius virus dapat bertahan hidup beberapa jam sampai beberapa hari (Merohant dan

Packer ). Pada umumnya virus akan mati pada pemanasan 55 derajat Celsius selama 45 menit (Andrewes, 1964). Virus juga akan rusak dan mati oleh sinar ultraviolet, bahan kimia yang bersifat virusidal dan pelarut lemak, sehingga dapat merusak aktivitas virus (Beard dan Hanson, 1984).

Secara alamiah masa inkubasi dari ND bervariasi antara dua sampai 15 hari, dengan rata-rata lima sampai enam (Anonimus, 1981), tetapi pada kejadian akut dapat memusnahkan semua ayam dalam waktu tiga sampai empat hari (Beard dan Hanson, 1984). Gejala klinis yang ditimbulkan tergantung pada keganasan virus yang menginfeksi. Pada umumnya memperlihatkan gejala pernafasan yang diikuti dengan gangguan syaraf atau kombinasi gangguan pernafasan, syaraf, pencernaan (Allan dkk, 1978).

Wabah ND mudah sekali menular baik secara langsung dari hewan yang sakit melalui kotoran berupa feses, urine dan lendir dari hidung, ataupun penularan secara tidak langsung melalui makanan, minuman yang tercemar maupun petugas kandang yang pernah berhubungan dengan hewan yang sakit (Hanson, 1978). Ayam yang sudah tertular ND akan mulai mengeluarkan virus dari saluran pernafasan sekitar satu sampai dua hari setelah infeksi (Anonimus, 1981).

Penularan juga dapat disebabkan oleh faktor predisposisi, diantaranya karena perubahan dari induk semangnya sendiri, kenaikan jumlah populasi ayam yang tidak kebal ND, perubahan iklim pada masa peralihan dari musim penghujan ke musim kemarau atau sebaliknya



(Hanson, 1978). Selain itu penularan penyakit secara primer dapat terjadi dalam suatu peternakan yaitu melalui perantara udara yang tercemar virus, dimana virus keluar melalui alat pernafasan. Menurut Beard dan Easterday (1967), pelepasan virus dalam jumlah besar dari saluran pencernaan tergantung dari beberapa faktor terutama pada stadium infeksi. Faktor lain yang juga berpengaruh adalah tipe virus, umur host dan sanitasi kandang atau lingkungan.

### C. Vaksin dan Vaksinasi

Tindakan vaksinasi pada ayam merupakan cara yang paling baik untuk mencegah serangan virus ND (Lancaster, 1964; Anonimus, 1981 dan Hutchinson, 1975). Pada ayam yang kebal (titer antibodinya tinggi) apabila terjadi infeksi virus ND virulen, maka antibodi yang terdapat di dalam tubuh ayam akan menetralkan secara tuntas virus yang masuk, sehingga ayam menjadi tidak sakit dan virus tidak dikeluarkan melalui feses dalam keadaan virulen.

Antibodi dapat terjadi secara aktif dan pasif di dalam tubuh ayam. Antibodi pasif terjadi karena adanya pemindahan serum ayam yang kebal, atau terjadi karena diturunkan dari induk pada anaknya melalui kuning telur yang disebut antibodi maternal. Antibodi aktif terbentuk karena vaksinasi atau sembuh dari serangan virus ND (Lancaster, 1977).



Antibodi maternal pada anak ayam yang baru menetas akan menurun titernya dan menjadi tidak berarti setelah umur tiga sampai lima minggu (Allan dkk, 1978). Titer antibodi yang diperoleh dari hasil vaksinasi tergantung berbagai faktor antara lain : respon ayam, jadwal dan cara vaksinasi, tipe virus dan vaksin yang dipakai, ada tidaknya penyakit lain yang menghalangi pembentukan zat kebal dan potensi vaksin (Ronohardjo, 1980).

Sekarang ini banyak vaksin yang dikenal oleh masyarakat dan beredar luas di pasaran, tetapi secara garis besar vaksin dapat digolongkan menjadi dua jenis yaitu vaksin aktif dan vaksin in-aktif. Vaksin aktif mengandung virus yang masih hidup, tetapi sudah dilemahkan sehingga sifatnya sudah tidak ganas lagi. Pada keadaan tertentu vaksin ini dapat menimbulkan penyakit walaupun sifatnya ringan. Vaksin in-aktif mengandung virus yang sudah mati karena sudah dinaktifkan secara kimiawi sehingga akan mampu menghasilkan kekebalan, tetapi tidak mampu menimbulkan penyakit (Allan dkk, 1978).

Pada umumnya vaksin aktif dianggap lebih antigenik dan lebih baik dibandingkan dengan vaksin in-aktif, karena vaksin aktif selain dapat menimbulkan kekebalan umum juga dapat menimbulkan kekebalan lokal. Meskipun demikian baik vaksin aktif maupun vaksin in-aktif masing-masing memiliki kelebihan dan kekurangan. Kelebihan pada pemakaian vaksin aktif adalah : dapat digunakan

dalam berbagai cara seperti semprot, tetes mata dan melalui air minum; antibodi yang terbentuk cukup kuat dan cukup tahan lama. sedangkan kekurangannya adalah karena vaksin aktif dapat menimbulkan gejala klinis, dan dapat menyebar pada hewan lain. Kelebihan dari vaksin in-aktif yaitu : pada umumnya digunakan secara injeksi sehingga pemakaian dosis menjadi lebih tepat dan efisien; tidak dapat menimbulkan gejala klinis ataupun menyebar pada hewan lain; lebih stabil penyimpanannya. Sedangkan kekurangannya adalah : seringkali menimbulkan reaksi lokal pada tempat penyuntikan yang disebabkan oleh adjuvant yang dikandungnya; dibandingkan dengan vaksin aktif, kekebalan yang ditimbulkan kurang kuat dan tidak tahan lama; kekebalan yang ditimbulkan terjadi lebih lama (sekitar 10 - 12 hari setelah vaksinasi).

Antibodi yang terbentuk dapat dideteksi dengan uji Hambatan Hemaglutinasi (HI Test), Serum Netralisasi (SN) dan Agar Gel Presipitasi (AGP) (Khare, Kumar dan Grun, 1975). Uji Hambatan Hemaglutinasi dipengaruhi oleh waktu, suhu inkubasi dan konsentrasi antigen sedangkan konsentrasi sel darah merah sedikit pengaruhnya (Allan . dkk, 1978).

#### D. Imunologi pada Ayam

Imunitas dalam ilmu kedokteran berarti resistensi relatif terhadap suatu mikroorganisme. Resistensi terbentuk berdasarkan respon imunologik. Respon imun



mencakup pengertian pengenalan zat atau benda asing oleh suatu makhluk hidup dengan segala rangkaian kejadian yang melibatkan sisten *limforetikuler* (Gan, 1981).

Seperti halnya sistem hormonal maupun sistem saraf tubuh, sistem kekebalan tubuh juga tampak berperanan sebagai pengatur daya tahan organisme secara menyeluruh. Apabila sinyal berada di bawah batas nilai ambang maka sistem tersebut kurang atau tidak bereaksi dan sebaliknya apabila sinyal-sinyal terlalu kuat akibat mikroorganisme atau antigen yang masuk terlalu ganas maka serangkaian reaksi akan timbul dan mengakibatkan ketidakseimbangan sistem-sistem tubuh (Bendryman, 1988). Ada sejumlah faktor yang mempengaruhi mekanisme kekebalan tubuh, yaitu : faktor genetik, umur, metabolik, lingkungan, anatomi, fisiologi dan mikrobial (Bellanti, 1985).

Apabila terjadi infeksi, sistem kekebalan tubuh akan menimbulkan respon kekebalan yang secara garis besar dibedakan menjadi dua, yaitu : respon kekebalan non spesifik dan respon kekebalan spesifik. Pada respon kekebalan non spesifik, mekanisme pertahanan tubuhnya dapat berfungsi sewaktu-waktu dan tidak ditujukan khusus untuk antigen tertentu, misalnya pada proses fagositosis dan peradangan sedangkan respon kekebalan spesifik, mekanisme pertahanan tubuhnya harus dirangsang terlebih dahulu dan sifat pertahanannya sangat khusus terhadap antigen asing yang menginduksinya (Indah, Liliana, Basundari dan Roswita, 1978 ; Bellanti, 1985).



yang dikeluarkan, antara lain : *timosin* atau *tinopoitin* (Roitt, 1985). *Timosin* bekerja pada sel-sel induk dari sumsum tulang yang berperan dalam proses pendewasaan sel induk sehingga dapat berdeferensiasi menjadi sel T (Bellanti, 1985 dan Roitt, 1985). Limfosit T berdeferensiasi menjadi limfosit T penolong, limfosit T penekan, limfosit T sitotoksik dan limfosit T hipersensitivitas lambat, kesemuanya berfungsi dalam respon kekebalan selluler ( Bellanti, 1985 ). Limfosit T yang berinteraksi dengan antigen yang dibawa oleh makrofag, dapat menghancurkan antigen asing tersebut secara langsung atau tidak langsung dengan melepaskan *limfokin* (Herbert, 1974 dan Powell, 1983).

Limfosit B berperan dalam kekebalan humoral, dan perkembangannya dipengaruhi oleh Bursa fabrisius pada ayam. Bursa fabrisius adalah organ limfoepithelial yang terdapat pada unggas, tetapi tidak pada manusia ( Tizard, 1988 ). Bursa fabrisius secara embriologik berasal dari sel epitel usus yang terletak disebelah dorsal kloaka, sering disebut " The Cloacal Tymus " (Tizard, 1988 dan Glick, 1956).

Limfosit B di bawah pengaruh rangsangan antigen akan berdeferensiasi menjadi sel plasma yang dapat melepaskan antibodi ke dalam darah (Ganong, 1983). Antibodi adalah glikoprotein yang terdiri dari 82 sampai 96 persen polipeptida dan 4 sampai 18 persen karbohidrat. Antibodi ini terdapat dalam berbagai cairan tubuh, tetapi didalam

serum darah terkandung konsentrasi tertinggi dan paling mudah diperoleh dalam jumlah yang banyak untuk analisis. Pada umumnya dalam ilmu kedokteran antibodi dikenal dengan nama imunoglobulin dan disingkat menjadi Ig (Goodman dan An, 1978 dan Kresno, 1984). Limfosit B pada ayam paling sedikit menghasilkan tiga macam antibodi, yaitu : Ig G , Ig M dan Ig A (Gordon dan Jordan, 1982).

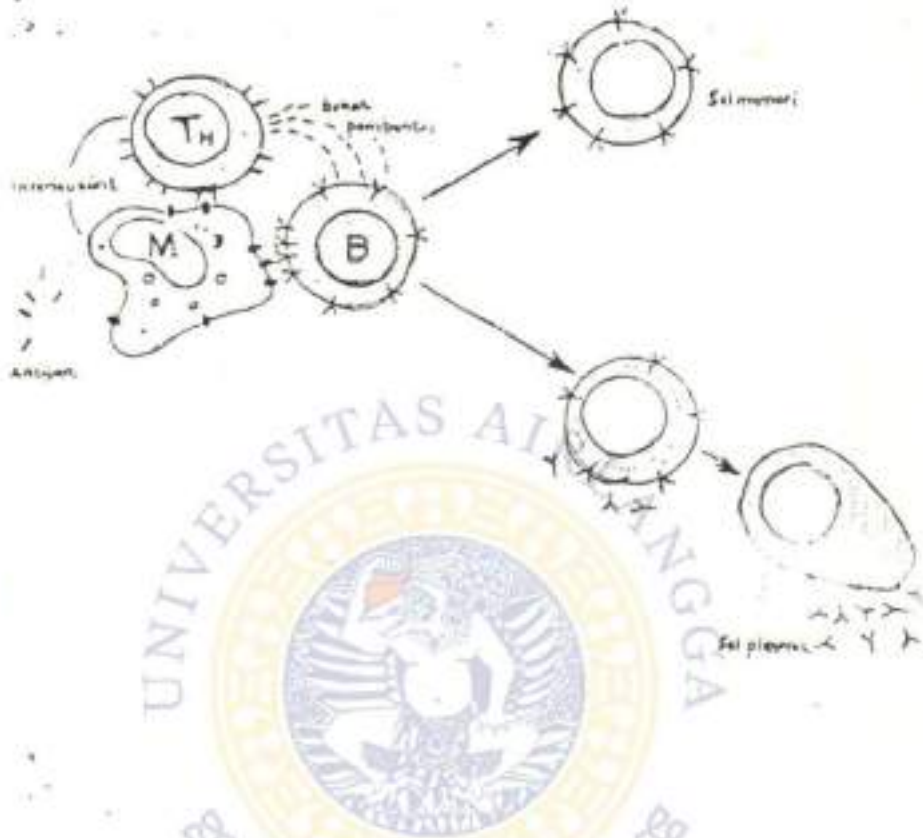
*Imunoglobulin G* ( Ig G ) adalah kelas *imunoglobulin* yang terdapat dalam konsentrasi tertinggi dalam serum darah yaitu sekitar 75persen kadar *imunoglobulin* total (Jawetz et al., 1978) dan karena itu memainkan peranan utama dalam mekanisme pertahanan yang diperantai oleh antibodi (Tizard, 1988). Ig G memiliki ukuran molekul yang relatif kecil sehingga lebih mudah berdifusi ke dalam jaringan ekstrasvaskuler dalam menjalankan fungsinya menetralisasi kuman atau toksin dengan cara mengikatnya, dengan demikian kuman lebih mudah di fagositosis (Bellanti, 1978 dan Kresno, 1984).

Imunoglobulin M (Ig M) adalah imunoglobulin yang kadarnya kira-kira 10 persen dari seluruh imunoglobulin dalam serum. Ig M memiliki berat molekul paling besar karenanya, molekul Ig M terutama terbatas dalam ruang intra vaskular ( Jawetz et al., 1978 ) dan karena itu mungkin kurang penting dalam memberi perlindungan dalam cairan jaringan atau sekresi tubuh (Tizard, 1988). Ig M banyak terdapat pada permukaan limfosit B. Pada suatu respon imunologik, Ig M biasanya dibentuk lebih

dahulu. Bersama-sama dengan Ig G, Ig M biasanya menyebabkan reaksi antigen antibodi seperti aglutinasi, hemolisis, karena molekulnya besar, Ig M mempunyai daya aglutinasi dan sitolitik yang baik ( Kresno, 1984 ).

*Imunoglobulin A (Ig A)* merupakan *imunoglobulin* kedua tertinggi kadarnya yaitu sekitar 15 persen kadar *imunoglobulin* total (Jawetz et al., 1978). Di samping Ig A yang terdapat dalam serum ada juga sekretori Ig A (SIgA) sebagai *imunoglobulin* utama dalam organ sekresi dan eksokrin. SIgA terdapat dalam saliva, sekret bronkus, air mata, sekret hidung, sekret mukosa saluran cerna, air seni dan kolustrum (Bellanti, 1978 ; Kresno, 1984 ; Pelczar dan Chan, 1988). Fungsi Ig A adalah melindungi tubuh terhadap infeksi lokal atau mencegah masuknya antigen sedemikian rupa sehingga antigen tidak dapat melekat pada permukaan tubuh (Kresno, 1984 dan Tizard, 1988).





Gambar 1. Tanggap sel B terhadap antigen.  
( Tizard, 1988 )

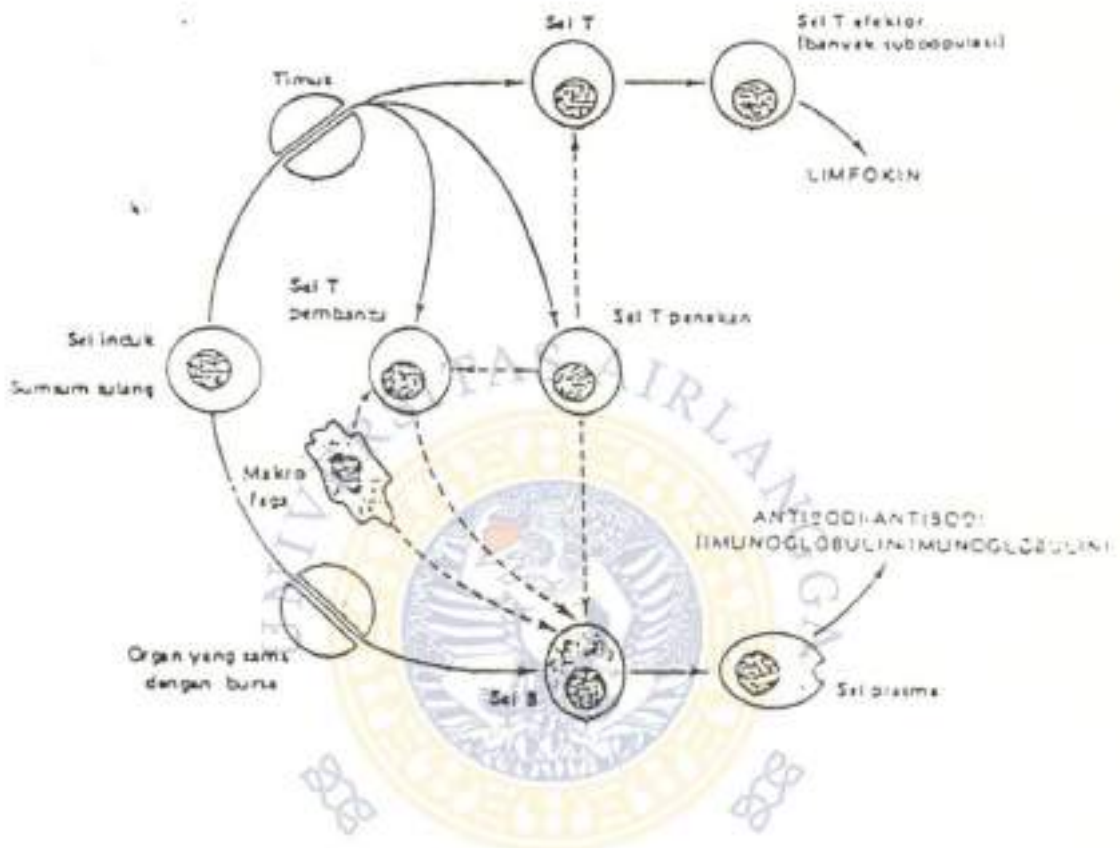
Sel B dapat tanggap terhadap antigen karena mempunyai reseptor antigen khusus pada permukaannya dan suatu sel B dapat mengikat dan menanggapi hanya determinan antigen yang ditujukan terhadap *imunoglobulin* reseptornya.

Bila antigen melekat pada *imunoglobulin* reseptornya maka sel B akan terangsang untuk membentuk antibodi, tetapi sebelumnya antigen harus diolah makrofag dan diberikan pada sel B setelah difiksasi di permukaan

makrofag. Selain itu kadang-kadang dibutuhkan aktivitas dari sel T tertentu di dekatnya, yaitu sel T pembantu yang harus menanggapi antigen yang sama. Sel T pembantu digiatkan oleh *interleukin 1*, yaitu suatu bahan pembantu yang larut dan dikeluarkan oleh makrofag untuk meningkatkan tanggap sel B selain *interleukin 2* yang dikeluarkan oleh sel T.

Sel B yang sedang tanggap akan membesar dan mulai membagi diri, kemudian akan berdiferensiasi menjadi dua populasi sel yang berbeda morfologi dan fungsinya. Sel dari satu populasi memperoleh kemampuan untuk membuat sejumlah besar antibodi dan disebut sel plasma sedangkan sel dalam populasi yang lain tetap mempunyai morfologi yang tidak berubah dan berfungsi sebagai sel memori (Kresno, 1984 ; Roitt, 1985 dan Tizard, 1988).

Mekanisme pembentukan antibodi, menghendaki kerjasama yang erat antara limfosit T, sel limfosit B dan makrofag (Herbert, 1974, Jawetz *et al.*, 1982 dan Powell, 1983). Mekanisme interaksi antara limfosit T dan limfosit B disajikan dalam bentuk skema pada gambar 2.



Gambar 2. Skema Interaksi-interaksi Sistem Kekebalan.  
(Jawetz et al., 1984 )

### E. Manipulasi Sistem Imun, *Imunomodulasi / Imunoregulasi*

*Imunomodulasi* atau *imunoregulasi* merupakan suatu perlakuan yang dikenakan pada sistem imun dan bertujuan untuk merubah kapasitas fungsional salah satu atau beberapa parameter imunitas organisme (Baldwin dan Byers, 1979).



Mekanisme pertahanan tubuh yang telah lama dikenal melalui respon kekebalan humoral dan seluler nampaknya merupakan reaksi aktif tubuh dengan aspek yang berbeda, namun didalam kebanyakan penyakit infeksi ataupun peradangan dimana mikroorganisme merupakan penyebabnya, kedua mekanisme kekebalan tersebut tidak dapat dipisahkan secara mutlak. Pada beberapa penyakit infeksi, mekanisme kekebalan seluler dan humoral saling berinteraksi sangat erat, selanjutnya nampak efek stimulasi disatu pihak atau depresi dilain pihak sebagai akibat. Pola infeksi serta pola respon imun senantiasa berbeda pada masing-masing penyakit infeksi, dimana masih perlu mendapatkan perhatian untuk dikaji, untuk menentukan terapi tepat guna (Bendrysan, 1984).

Analog dengan pengertian *imunomodulasi*, apabila *imunomodulator* menimbulkan efek meningkatkan kapasitas fungsi sistem imunitas, maka substansi tersebut dapat digolongkan sebagai *imunostimulan*. Sebaliknya, *imunosupresor* bila menimbulkan penurunan fungsi dari salah satu atau beberapa parameter sistem kekebalan, dibandingkan dengan keadaan normal (Bach, 1978).

Disamping sifat-sifat yang merupakan kriteria *imunomodulator*, sebutan *imunomodulator* adalah bahan-bahan yang memiliki kemampuan :

- Meningkatkan reaksi imun yang menguntungkan serta menghambat reaksi imun yang merugikan induk semang.
- Merangsang atau menghambat makrofag, granulosit, limfosit dan sel-sel yang lain.
- Penggunaannya tergantung dari dosis, cara serta saat pemberian (Bendryman, 1988).

Dalam hal ini, ekstrak tanaman lidah ular (*Oldenlandia corymbosa* Linn.) yang digunakan dalam penelitian (Wahyuni, 1990 dan Safitri 1991) ini menyebabkan aktivitas imunostimulan pada tubuh hewan percobaan.

Uji bioaktivitas lidah ular pada penelitian Sutarjadi dkk., (1990), menunjukkan hasil seperti yang disajikan pada Tabel 1.



Tabel 1. Uji Bioaktivitas Tanaman lidah ular terhadap sistem Fagositosis, Respon Selluler dan Respon Humoral pada mencit.

FRAKSI	HASIL UJI BIOAKTIVITAS		
	FAGOSITOSIS	RESPON SELLULER	RESPON HUMORAL
	CC	DTH	MHA-ED
Tak larut air per oral	↘	↗	↗
larut air i.peritoneal	↘	tak memberi efek nyata	↗

Tabel diatas memperlihatkan adanya sifat immunomodulator tanaman lidah ular. Jika ditelusuri indikasi penakaiannya secara empiris, maka dapat dijelaskan konfirmasi sebagai berikut :

1. Indikasi untuk tumor nyata dilatarbelakangi oleh efek stimulasi respon selluler dan humoral.
2. Indikasi untuk penyakit infeksi hanya terkait dengan stimulasi respon humoral.
3. Adanya supresi pada sistem fagositosis kemungkinan terkait dengan efek zat kandungan yang memang sitotoksik.



### BAB III

#### MATERI DAN METODA PENELITIAN

##### Tempat dan lama penelitian

Penelitian ini dilakukan di Desa Segoromadu Kecamatan Kebomas Gresik, dimulai pada tanggal 15 Januari 1992 dan berakhir pada tanggal 21 Februari 1992. Pengujian sampel dilakukan di Laboratorium Virologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

##### Materi Penelitian

##### Hewan Percobaan

Dalam penelitian ini dipergunakan hewan percobaan 80 ekor ayam pedaging jenis strain Hubbard yang diperoleh dari salah satu poultry shop di Surabaya. Makanan dan minuman diberikan secara ad libitum, sedangkan makanan yang diberikan 511 (fase starter) dan 521 (fase finisher).

##### Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk penelitian adalah sebagai berikut : tanaman lidah ular yang telah dibuat ekstrak (Pembuatan ekstrak lidah ular dijelaskan pada lampiran 6 ), vaksin ND strain F, antigen 4 HA Unit (dari Antigen ND no.tanding 0592 dan batas kadaluarsa february 1993 ), larutan NaCl Fisiologis, anti koagulan EDTA untuk mengambil sel darah merah ayam donor, alkohol 70 persen digunakan sebagai anti septik, aquadest steril dan kapas.

### Alat Penelitian

Dalam penelitian ini digunakan alat-alat sebagai berikut : lemari es; microplate bentuk V; pipet droper 0,025 ml dan 0,05 ml; microdiluter 0,025 ml; centrifuge; gelas erlenmeyer; spuit disposibel 1 ml, 2,5 ml dan 5 ml; tabung reaksi; tabung centrifuge, panci dan timbangan ayam.

### Persiapan Penelitian

Sebanyak 80 ekor anak ayam pedaging yang berumur satu hari (DOC) dipelihara secara bersama-sama. Pada umur 18 hari, 20 ekor ayam diambil serum darahnya untuk diperiksa antibodi maternalnya dan diukur dengan uji HI kemudian 80 ekor anak tersebut ayam dibagi menjadi empat kelompok yang masing-masing kelompok terdapat 20 ekor ayam.

### Perlakuan

Pada hari ke 19 anak ayam diberi ekstrak tanaman lidah ular secara oral, dua kali sehari selama dua hari berturut-turut dengan volume 2,5 ml sebagai berikut :

Kelompok I : memperoleh ekstrak tanaman lidah ular  
10 mg/ 500g BB.

Kelompok II : memperoleh ekstrak tanaman lidah ular  
20 mg/ 500 g BB.

Kelompok III : memperoleh ekstrak tanaman lidah ular  
40 mg/ 500 g BB.

Kelompok IV : Tidak memperoleh ekstrak tanaman lidah (sebagai kontrol), diganti dengan Na Cl fisiologis.

Vaksinasi dilakukan pada umur 21 hari. Dosis vaksin yang diberikan adalah sebanyak 0,5 ml per ekor secara intra muskuler dengan vaksin strain F. Vaksinasi dilakukan pada semua kelompok perlakuan.

#### Pembuatan Darah Merah Ayam (DMA) 0,5 Persen

Sel darah merah ayam 0,5 persen dibuat dari darah ayam donor (ayam buras/kampung) yang diambil melalui vena sayap (*vena axillaris*) dengan spuit 2 ml, minimal berasal dari tiga ekor ayam donor. Darah yang diperoleh dimasukkan ke dalam tabung centrifuge yang sebelumnya sudah diisi anti koagulan EDTA. Tabung centrifuge tersebut digoyang-goyangkan secara perlahan agar darah dapat bercampur dengan anti koagulan sehingga darah tidak membeku. Kemudian darah tersebut dicentrifuge dengan kecepatan 2000 rpm selama 15 menit. Bagian supernatan dibuang sedangkan sel darah merah yang didapat dilakukan pencucian dengan cara menambahkan larutan NaCl fisiologis sama banyak dengan supernatan yang dibuang, kemudian dicentrifuge dengan kecepatan 2000 rpm selama 15 menit. Pencucian tersebut dilakukan sebanyak tiga kali dengan cara yang sama dengan di atas. Setelah pencucian terakhir, sel darah merah yang didapat diisap sebanyak 0,5 ml dalam erlenmeyer yang sebelumnya telah diisi dengan NaCl fisiologis sebanyak 99,5 ml.



#### Cara Membuat Antigen 4 HA Unit

Untuk melakukan uji HI, antigen yang digunakan adalah 4 HA unit. Cara pembuatan antigen 4 HA unit adalah sebagai berikut : antigen ND didapatkan dari produksi Pusat Veterinaria Farma dalam kemasan 20 ml. selanjutnya dilakukan titrasi antigen untuk mengetahui titer dari antigen tersebut. Setelah titernya diketahui, kemudian dilakukan pengenceran dengan larutan Na Cl fisiologis sampai titernya menjadi 4 HA unit.

Prosedur kerja tritasi antigen adalah sebagai berikut : Pada lubang satu sampai 12 dari mikroplate diisi Na Cl fisiologis sebanyak 0,025 ml dengan menggunakan pipet droper. Selanjutnya pada lubang satu ditambahkan antigen yang akan diuji sebanyak 0,025 ml. kemudian pada lubang satu dimasukkan mikrodiluter, dilakukan pencampuran dengan cara diputar-putar lalu dilakukan pengenceran secara seri dengan cara menindahkan mikrodiluter 0,025 ml dari lubang satu ke lubang dua lalu dilakukan pencampuran dan dipindah lagi ke lubang tiga dan seterusnya sampai lubang 11. Lubang 12 tidak diisi dengan antigen karena digunakan sebagai kontrol sel darah merah. Kemudian pada setiap lubang ditambahkan 0,05 ml darah merah ayam 0,5 persen dan mikroplate digoyang-goyangkan secara perlahan. Selanjutnya dibiarkan pada suhu kamar selama 30 menit atau sampai kontrol sel darah merah dapat dibaca.

Dari titer antigen yang didapat dilakukan pengenceran hingga 4 HA unit, lalu dititrasi kembali untuk mengetahui kebenaran pengenceran.

#### Cara Pengambilan Serum

Darah diambil sebanyak 1,5 ml melalui vena axillaris dengan menggunakan spuit 2,5 ml, kemudian darah segera dipindahkan pada tabung reaksi, sumbat dengan kapas dandiletakkan pada posisi miring. Darah dibiarkan membe-ku pada suhu kamar, setelah serumnya keluar diambil memakai pipet dipindahkan pada tabung reaksi lain dan disimpan pada suhu 4 derajat Celcius.

#### Uji Hambat Haemaglutinasi ( HI test )

Uji ini dilakukan untuk mengetahui kekebalan yang dimiliki oleh suatu individu. Dalam uji ini antigen yang digunakan adalah antigen 4 HA unit. Prosedur kerja uji HI adalah sebagai berikut : Pada lubang satu sampai 12 dari mikroplate diisi NaCl fisiologis sebanyak 0,025 ml dengan menggunakan pipet droper. Kemudian pada lubang satu ditambahkan serum yang akan diuji sebanyak 0,025 ml. Selanjutnya pada lubang satu dimasukkan mikrodiluter, dilakukan pencampuran dengan cara diputar-putar kemudian dilakukan pengenceran secara seri dengan cara memindahkan mikrodiluter 0,025 ml dari lubang satu ke lubang dua lalu dilakukan pencampuran dan dipindah lagi ke lubang tiga dan seterusnya sampai lubang 10. Pada lubang 11 tidak diisi ddengan serum karena digunakan sebagai kontrol sel



darah merah, sedangkan lubang 12 diisi serum 0,025 ml sebagai kontrol serum. Lalu pada lubang satu sampai 10 ditambahkan antigen 4 HA unit sebanyak 0,025 ml, lalu dibiarkan pada suhu kamar selama 15 menit. Pada masing-masing lubang satu sampai 12 ditambahkan darah merah (DMA) 5 persen sebanyak 0,5 ml dengan pipet droper 0,5 ml lalu dikocok secara perlahan-lahan lalu dibiarkan selama 30 menit atau sampai kontrol sel darah merah dapat dibaca.

#### Parameter Yang Diukur

Pada penelitian ini sebagai parameter yang diukur adalah titer antibodi pada serum hewan percobaan. Pengambilan serum darah untuk pengukuran titer antibodi dilakukan setiap minggu setelah perlakuan selama empat minggu.

#### Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat macam perlakuan pemberian ekstrak tanaman lidah ular dengan dosis yang berbeda yang diberikan pada ayam percobaan dengan ulangan sebanyak 20. Titer antibodi yang diketahui dari Uji HI dianalisis dengan Analisis Sidik Ragam (Varian F), apabila terdapat perbedaan yang nyata diantara kelompok perlakuan dilanjutkan dengan uji jarak Duncan (Stell dan Torrie, 1960 dan Kusrieningrum, 1990).



**BAB IV**  
**HASIL PENELITIAN**

Pelaksanaan penelitian yang dilakukan meliputi pemberian ekstrak tanaman lidah ular pada ayam pedaging sebanyak dua kali sehari selama dua hari berturut-turut diperiksa melalui uji aktivitas pembentukan antibodi (*imunoglobulin*) yang diperiksa melalui uji Hambatan Hemaglutinasi (HI Test).

Di bawah ini akan disajikan beberapa hal yang berkaitan dengan hasil penelitian tersebut.

Tabel 2. Pemeriksaan Titer Antibodi Maternal.

Umur (hari)	Titer HI $\log_2(x)$	frekuensi	GMT $\log_2$
18	0	6	0,95
	1	9	
	2	5	

Keterangan :

x = Hasil pembacaan titer Uji HI

$\log_2$  = Pengenceran yang dilakukan pada Uji HI adalah kelipatan 2

Tabel 3. Titer Antibodi Rata-rata ( $\text{GMT log}_2$ ) Mulai Satu Minggu Hingga Empat Minggu Setelah Perlakuan.

	KI	KII	KIII	KIV
Minggu I	2,15	2,00	2,45	1,15
Minggu II	5,30	7,50	4,80	4,35
Minggu III	6,75	7,10	6,55	6,35
Minggu IV	6,15	7,00	6,45	6,00

Titer antibodi rata-rata (Geometric Mean Titer = GMT) tiap-tiap kelompok perlakuan diperoleh dengan membagi jumlah titer antibodi dalam masing-masing perlakuan dengan jumlah anak ayam yang digunakan dalam kelompok tersebut.

Hasil pemeriksaan titer antibodi secara keseluruhan dari minggu pertama hingga minggu ke empat setelah perlakuan, diperoleh titer antibodi rata-rata ( $\text{GMT log}_2$ ) yang terbentuk meningkat mencapai puncaknya pada minggu ke III, kecuali pada KII ( 20mg/500gBB ) puncak tertinggi titer antibodi rata-rata dicapai pada minggu ke II.

Hasil pemeriksaan titer HI ( $\text{log}_2$ ) satu minggu setelah perlakuan disajikan pada Tabel 4 dibawah ini.

Tabel 4. Hasil Titer HI ( $\log_2$ ) Satu Minggu Setelah Perlakuan.

Perlakuan	Titer HI $\log_2(x)$	Frekuensi	GMT $\log_2$
I	0	4	2,15
	1	1	
	2	8	
	3	2	
	4	5	
II	0	5	2,00
	2	8	
	3	3	
	4	2	
	5	1	
III	0	5	2,45
	2	7	
	3	1	
	4	4	
	5	3	
IV	0	8	1,15
	1	4	
	2	5	
	3	3	

## Keterangan :

- x = Hasil pembacaan titer Uji HI  
 $\log_2$  = Pengenceran yang dilakukan pada Uji HI adalah kelipatan 2

Hasil analisis Varian F terhadap titer HI ( $\log_2$ ) satu minggu setelah perlakuan didapat F hitung = 2,727 dan F tabel 0,05 = 2,278 dan F tabel 0,01 = 4,058 serta derajat bebas (db) sisa = 76 (perhitungan selengkapnya diuraikan pada Lampiran 2). Karena F hitung < F tabel, hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak tanaman lidah ular dengan dosis 10 mg/500gBB, 20mg/500gBB, 400mg/500gBB dan perlakuan kontrol tidak menunjukkan



adanya perbedaan yang nyata pada aktivitas pembentukan antibodi pada minggu pertama setelah perlakuan.

Tabel 5. Titer Antibodi Dua Minggu Setelah Perlakuan.

Perlakuan	Titer HI $\log_2(x)$	Frekuensi	GMT $\log_2$
I	3	2	5,30
	4	6	
	6	8	
	7	4	
II	5	1	7,50
	7	10	
	8	6	
	9	3	
III	3	4	4,80
	4	4	
	5	5	
	6	6	
	7	1	
IV	3	6	4,35
	4	4	
	5	7	
	6	3	

Keterangan :

x = Hasil pembacaan titer pada Uji HI

$\log_2$  = Pengenceran yang dilakukan pada Uji HI adalah kelipatan 2

Pada tabel 5, hasil pengukuran titer HI (  $\log_2$  ) pada minggu ke II setelah perlakuan didapatkan GMT  $\log_2$  tertinggi adalah 7,50.

Hasil analisis Varian F terhadap titer HI (  $\log_2$  ) minggu kedua setelah perlakuan didapat F hitung 28,26 dan

F tabel 0,05 = 2,728 dan F tabel 0,01 = 4,058 serta derajat bebas (db) sisa = 76 (perhitungan selengkapnya diuraikan pada Lampiran 3). Karena F hitung > F tabel, hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak tanaman lidah ular dengan dosis 10mg/500gBB, 20mg/500gBB, 40mg/500gBB dan perlakuan kontrol memberikan perbedaan yang sangat nyata dalam hal aktivitas pembentukan antibodi.

Sehubungan dengan adanya perbedaan yang sangat bermakna diantara kelompok-kelompok perlakuan tersebut, maka perlu diadakan pengujian lebih lanjut dengan uji jarak " Duncan " pada taraf kepercayaan  $\alpha = 5$  persen yang perhitungannya disajikan pada Lampiran 3.

Tabel 6. Notasi Pengaruh Pemberian Ekstrak Tanaman Lidah Ular terhadap Pembentukan Titer Antibodi Dua Minggu Setelah Perlakuan.

PERLAKUAN	RATA-RATA	NOTASI
KII	7,5	a
KI	5,3	b
KIII	4,8	bc
KIV	4,35	c

Keterangan :

Notasi a, b dan c yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata.

Hasil penentuan notasi tersebut (tabel 6), KII (20mg/500gBB) menunjukkan hasil yang terbaik dan KIV (perlakuan kontrol) menunjukkan hasil yang rendah.

Hasil pengukuran titer HI ( $\text{Log}_2$ ) pada minggu ke III setelah perlakuan didapatkan GMT  $\text{log}_2$  tertinggi padaperlakuan II yaitu 7,10.

Tabel 7. Titer Antibodi Tiga Minggu Setelah Perlakuan.

Perlakuan	Titer HI $\text{log}_2(x)$	Frekuensi	GMT $\text{log}_2$
I	5	2	6,75
	6	5	
	7	9	
	8	4	
II	6	3	7,10
	7	12	
	8	5	
III	5	2	6,55
	6	7	
	7	8	
	8	2	
IV	5	2	6,35
	6	8	
	7	8	

Keterangan :

x = Hasil pembacaan pada Uji HI

$\text{Log}_2$  = Pengenceran yang dilakukan pada Uji HI adalah kelipatan 2

Hasil Varian F terhadap titer HI ( $\text{Log}_2$ ) minggu ke tiga setelah perlakuan didapatkan F hitung = 3,45 sedangkan F tabel 0,05 = 2,728. serta derajat bebas (db) sisa = 76 ( perhitungan selengkapnya diuraikan pada lampiran 4 ). Karena F hitung > F tabel, hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak tanaman lidah ular dengan dosis 10 mg/ 500 g BB, 20 mg/500 g BB, 40 mg/500 g



BB dan perlakuan kontrol, memberikan perbedaan yang nyata dalam hal aktivitas pembentukan antibodi. Sehubungan dengan adanya perbedaan yang bermakna diantara kelompok perlakuan tersebut, maka perlu diadakan pengujian lebih lanjut dengan uji jarak " Duncan " pada taraf kepercayaan  $\alpha = 5$  persen yang perhitungannya disajikan pada Lampiran 4.

Berdasarkan uji jarak Duncan pada taraf kepercayaan  $\alpha=5$  persen, dapat ditentukan notasi untuk masing-masing perlakuan, seperti terlihat dalam tabel 8.

Hasil penentuan notasi-notasi (tabel 8) , KII (20mg/500gBB) menunjukkan hasil yang tertinggi dan KIV (perlakuan kontrol) menunjukkan hasil yang terendah.

Tabel 8. Notasi Pengaruh Pemberian Ekstrak Tanaman Lidah Ular Terhadap Aktivitas Pembentukan Titer Antibodi Tiga Minggu Setelah Perlakuan.

PERLAKUAN	RATA-RATA	NOTASI
KII	7,1	a
KI	6,75	ab
KIII	6,55	b
KIV	6,35	b

Keterangan :

Notasi a dan b yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata.

Tabel 9. Titer Antibodi Empat Minggu Setelah Perlakuan .

Perlakuan	Titer HI $\log_2(x)$	Frekuensi	GMT $\log_2$
I	5	5	6,15
	6	7	
	7	8	
II	5	1	7,00
	6	4	
	7	9	
	8	6	
III	5	3	6,45
	6	7	
	7	8	
	8	2	
IV	5	4	6,00
	6	12	
	7	4	

## Keterangan :

X = Hasil pembacaan pada Uji HI

$\log_2$  = Pengenceran yang dilakukan pada Uji HI adalah kelipatan 2.

Pada Tabel 9, hasil pengukuran titer HI ( $\log_2$ ) pada minggu ke empat setelah perlakuan didapatkan GMT  $\log_2$  tertinggi adalah 7,00.

Hasil analisis Varian F terhadap titer HI ( $\log_2$ ) minggu ke empat setelah perlakuan didapatkan F hitung = 6,00 dan F tabel 0,05 = 2,728 serta derajat bebas (db) sisa = 76 (perhitungan selengkapnya diuraikan pada lampiran 5). Karena F hitung > F tabel, hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak tanaman lidah ular dengan dosis 10 mg/ 500 g BB, 20 mg/ 500 g BB, 40 mg/ 500 g BB

dan perlakuan kontrol, memberikan perbedaan yang nyata dalam hal pembentukan antibodi.

Sehubungan dengan adanya perbedaan yang nyata diantara kelompok perlakuan tersebut, maka perlu diadakan pengujian lebih lanjut dengan uji jarak "Duncan" pada taraf kepercayaan  $\alpha = 5$  persen yang perhitungannya disajikan pada lampiran 5.

Berdasarkan hasil uji jarak Duncan, ditentukan notasi untuk masing-masing perlakuan yang dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Notasi Pengaruh Pemberian Ekstrak Tanaman Lidah Ular Terhadap Pembentukan Titer Antibodi Empat Minggu Setelah Perlakuan.

PERLAKUAN	RATA-RATA	NOTASI
KII	7,00	a
KIII	6,45	ab
KI	6,15	b
KIV	6,00	b

Notasi a, b dan c yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata.

Hasil penentuan notasi-notasi tersebut (tabel 10) KII menunjukkan hasil yang tertinggi KIV menunjukkan hasil yang terendah.



## BAB V

### PEMBAHASAN

Apabila tubuh kontak dengan antigen maka antigen tersebut akan ditangkap, diolah dan kemudian ditanggapi oleh sistem pembentuk antibodi dengan membentuk antibodi khusus atau sel yang mampu menyingkirkan antigen tersebut (Tizard, 1988).

Suatu perlakuan yang dikenakan pada sistem kekebalan dengan tujuan untuk mengubah kapasitas fungsional salah satu atau beberapa parameter sistem kekebalan tersebut dinamakan dengan *imunomodulasi* atau *imunoregulasi*.

Apabila sistem kekebalan diatur dengan perlakuan tertentu maka efek yang terjadi pada sistem tersebut dapat naik, turun atau tetap (Bendryman, 1988).

Tanaman lidah ular terpilih dalam penelitian ini karena selain akhir-akhir ini sering dipakai di Indonesia juga mempunyai latar belakang *etnofarmakognosi*, yaitu : adanya indikasi pemakaian yang dikaitkan dengan bioaktivitas pada sistem imun.

Pemberian ekstrak tanaman lidah ular (*Oldenlandia corymbosa* Linn.) pada penelitian ini dilakukan secara oral sesuai dengan cara penggunaan lazimnya, hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Wahjuni

(1990) dengan penelitian pendahuluan didapatkan mulai dosis 0 mg/25 g BB mencit hingga 50 mg/25 g BB mencit yang diberikan secara oral, semua hewan percobaan tetaphidup. Hal yang sama terdapat pada peneliti Sutarjadi dkk., (1990) sebelum dilakukan uji aktivitas, dilakukan terlebih dahulu tahap orientasi dosis, empat dosis yang berbeda yaitu 5 gram, 10 gram, 30 gram dan 50 gram per 25 gram BB mencit, dengan tujuan uji Saveti "Aman" melalui analisis perubahan BB dan pengamatan kondisi hewan percobaan, ternyata tidak didapatkan adanya pengaruh yang menyebabkan kematian hewan, perubahan kondisi hewan (sakit) ataupun penurunan BB. Sedangkan pemberian ekstrak tanaman lidah ular dua kali sehari selama dua hari berturut-turut didasarkan pada hasil penelitian Safitri (1991) yang menyebutkan peningkatan aktifitas pembentukan antibodi tertinggi pada 48 jam setelah pemberian sediaan. Hal yang sana ditunjukkan oleh Sutarjadi (1990), bahwa tanaman lidah ular menyebabkan peningkatan respon humoral sedangkan efeknya baru nyata setelah 48 jam dan pada 24 jam setelah pemberian sediaan uji belum memperlihatkan efek.

Dari hasil pemeriksaan antibodi maternal pada anak ayam pedaging yang dilakukan pada umur 18 hari didapatkan GMT HI pada anak ayam adalah  $\log_2 0,95$ . Hal tersebut

sesuai dengan yang dikemukakan oleh Ronohardjo (1972), dimana anak ayam yang memiliki titer antibodi maternal  $\log_2$  9,00 sampai  $\log_2$  10 pada umur satu hari (DOC), dalam waktu 14 hari turun menjadi  $\log_2$  5 sampai  $\log_2$  6, sedangkan menurut Merchant dan Packer (1971), penurunan titer antibodi maternal pada anak ayam sampai dibawah  $\log_2$  1 adalah tiga minggu sedangkan menurut Ronohardjo (1974), mendapatkan selama empat minggu. Penurunan titer antibodi maternal pada beberapa anak ayam adalah tidak sama waktunya yang diperlukan dan penurunan tersebut tergantung pada titer antibodi maternal anak ayam tersebut pada saat menetas (Ronohardjo, 1974).

Dari hasil analisis data yang telah dilakukan dengan Sidik Ragam menunjukkan bahwa titer HI ( $\log_2$ ) dari masing-masing kelompok perlakuan (KI, KII, KIII, KIV), pada minggu pertama setelah perlakuan, menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ( $F$  hitung <  $F$  tabel 0,05) berarti tidak ada perbedaan yang nyata diantara dosis yang diberikan pada kelompok perlakuan terhadap aktivitas pembentukan antibodi. Kemungkinan ini dapat terjadi karena adanya masa negatif. Periode negatif ini timbul sebagai akibat terjadinya pengikatan antigen yang dimasukkan dan terjadi penyingkiran antibodi dari peredaran darah (Tizard, 1987). Sedangkan Jawetz *et al.*,



(1986) menyatakan setelah penyuntikan suatu larutan antigen ke dalam tubuh, maka antigen akan tersebar merata melalui volume darah hewan dan juga tersebar melalui jaringan ekstrasvaskuler. Begitu tahap keseimbangan antara kompartemen intravaskuler dan ekstrasvaskuler tercapai, terjadi degradasi lambat dari antigen. Tetapi dalam beberapa hari, hewan mulai mengadakan tanggap kebal terhadap antigen, dan antibodi yang dihasilkan akan berikatan dengan antigen yang ada untuk membentuk kompleks kebal yang dapat difagositosis oleh makrofag.

Pengamatan titer antibodi dilakukan seminggu kemudian. Pada penelitian ini pada (Tabel 2), terlihat bahwa rata-rata titer antibodi ( $\text{GMTlog}_2$ ) meningkat dan mencapai puncaknya pada minggu ketiga kecuali pada dosis 20 mg/500 g BB puncak tertinggi antibodi yang terbentuk pada minggu kedua. Hal ini disebabkan karena antibodi baru ditemukan sekitar satu minggu dan kadarnya dalam serum meningkat mencapai puncak setelah 10 - 14 hari (Tizard, 1988). Hal yang sama dinyatakan oleh Volk dan Wheeler (1988), antibodi dapat ditemukan di dalam tubuh sekitar lima hari setelah masuk bahan asing ke dalam tubuh dan kadarnya di dalam serum akan meningkat serta mencapai puncak dalam dua atau tiga minggu. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak

tanaman lidah ular telah mampu merangsang terbentuknya antibodi yang cukup tinggi mulai minggu pertama dan relatif dapat bertahan sampai minggu ketiga.

Dari hasil analisis data Rancangan acak lengkap (RAL) dengan Sidik Ragam yang dilanjutkan dengan uji jarak " Duncan " pada minggu ke dua, ke tiga dan ke empat menunjukkan hasil titer antibodi yang terbentuk pada ayam yang mendapat perlakuan dengan vaksin ND strain F yang didahului dengan pemberian ekstrak tanaman lidah ular peroral sebanyak 10 mg/500 g BB (KI), 20 mg/500 g BB (KII) dan 40 mg/500 g BB (KIII) masing-masing lebih tinggi dan berbeda nyata (  $F_{hitung} > F_{tabel}$  0,05 ) dibandingkan dengan ayam yang hanya menerima vaksin saja (KIV), sebagai perlakuan kontrol.

Hasil ini ternyata sesuai dengan hasil penelitian Kulkarni, Mulbagah, Paranjabe, Khot dan Manda (1973), titer antibodi pada minggu pertama setelah perlakuan dengan vaksinasi ND pada anak ayam disertai *Tetramisole* (sebagai *imunostimulan*) selama tiga, tujuh dan 15 hari dengan dosis 1 mg/ 50 g BB ternyata titer antibodi yang terbentuk lebih tinggi jika dibandingkan dengan ayam yang mendapat perlakuan vaksin saja tanpa pemberian *Tetramisole* ( kontrol ).

Tingginya titer HI ( $\log_2$ ) pada perlakuan I, II dan III dibandingkan dengan Perlakuan IV, hal ini disebabkan karena tanaman lidah ular mengandung komponen berupa *Tannin* yang bioaktifitasnya berkaitan dengan imunobiokimia intrasel, mampu merubah imbalanced cGMP/cAMP yaitu meningkatkan tingkat cGMP dan menurunkan cAMP intra seluler pada limfosit (Marzo, Tosar dan Santidrian, 1990). Hal ini sesuai yang diungkapkan Tizard (1978), jika tingkat cAMP meningkat dan tingkat cGMP menurun maka fungsi seluler akan terhambat, sedangkan jika tingkat cGMP meningkat serta cAMP menurun maka fungsi dan aktivitas seluler meningkat. Lidah ular juga mengandung *Tannin* yang dapat meningkatkan respon proliferasi limfosit, meningkatkan produksi limfokin dan meningkatkan fagositosis makrofag serta meningkatkan respon kemotaksis neutrofil (marzo et al., 1990).

Pada penelitian (Marzo et al., 1990) juga dinyatakan *Tannin* mempunyai peran dalam mempengaruhi sistem imun, yaitu dengan mempengaruhi jaringan *limphoid* dan respon pembentukan antibodi.

Efek *Tannin* di dalam tubuh dapat menyebabkan tingginya *corticosteron* di dalam plasma, hal ini dapat mempengaruhi sistem imun. Mazro et al., 1990, juga menyatakan stres dapat juga meningkatkan *glucokortikoid* di dalam



plasma . Hal ini dapat berakibat terganggunya sisten imun tetapi pengaruh panas ini tidak diselidiki di dalam penelitiannya. Tizard (1987) menyebutkan bahwa stres panas yang terjadi saat percobaan dilakukan akan meningkatkan kadar *corticosteron* dalam darah sehingga mempengaruhi respon pembentukan antibodi, tanaman lidah ular juga mengandung *sterol* yang mempunyai pengaruh yang hampir sama dengan *corticosteron* yang bersifat *imunosupresive* yang ringan pada unggas, dan menurut Regnier dan Kelley (1981) mengidentifikasi bahwa stress panas tidak mempengaruhi fungsi limfosit B dan fungsi sel pembantu T ( T Helper Cell ), dengan demikian maka stress panas yang terjadi tidak mempengaruhi sisten kekebalan humoral oleh sel limfosit B.

Dari hasil analisa yang dilakukan dengan Sidik Ragam yang dilanjutkan dengan uji jarak Duncan pada minggu II, III dan IV menunjukkan titer antibodi pada perlakuan yang divaksin ND strain F yang dikombinasikan dengan pemberian ekstrak tanaman lidah ular per oral sebanyak 20 mg/ 500 g BB (KII) lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan pemberian ekstrak tanaman lidah ular 10 mg/500 g BB (KI) maupun perlakuan pemberian ekstrak lidah ular 40 mg/500 g BB (KIII).

Pada penelitian ini dosis yang dipakai setara dengan dosis yang dipergunakan untuk mencit yaitu 1 mg/25 g BB mencit. Standar berat badan ayam pedaging jenis Hubbard pada umur tiga minggu adalah 560 gr, sedangkan berat badan hewan percobaan rata-rata 500 gram sehingga dosis yang dipakai sebagai acuan adalah 20 mg/ 500 BB (KII) sedangkan dosis 10 mg/500 g BB (KI) diambil dari 1/2 X dari dosis acuan dan 40 mg/500 g BB (KIII) diambil 2X dari dosis acuan, Hal ini untuk mengetahui lebih lanjut dosis 1/2 X dan 2X dari dosis acuan mempunyai hasil yang lebih baik dari dosis acuan. Dosis KI, KII dan KIII ini bisa dipergunakan, sesuai hasil percobaan orientasi dosis kerentanan yang telah dilakukan Wahyuni,1990. Dimana, ekstrak tanaman lidah ular yang diberikan dengan dosis berkisar dari 0,5 mg, 1 mg, 5 mg, 10 mg, 30 mg dan 50 mg per 25 g BB mencit yang diberikan selama 2X sehari selama dua hari ternyata hewan coba hidup semua dan tidak mengalami perubahan fisik yang berarti.

Hasil yang didapatkan dari penelitian ini dosis acuan 20 mg/500 g BB menunjukkan hasil titer antibodi yang terbentuk dengan uji HI merupakan dosis optimum sedangkan dosis 1/2 X dan 2X dari dosis acuan ternyata masih cukup bermakna untuk menstimulasi aktivitas pembentukan antibodi ND bila dibandingkan dengan perlakuan

tanpa pemberian Ekstrak tanaman lidah ular (kontrol) , meskipun titer antibodi yang terbentuk masih lebih rendah di bandingkan perlakuan II. Jadi peningkatan dosis *imunostimulan* kurang memberi efek perlindungan, demikian pula dosis yang lebih rendah. Hasil ini merupakan konfirmasi yang sesuai dengan penelitian Bendryman (1990). Baldwin dan Byer (1979) menyatakan peningkatan dosis imunostimulan diikuti dengan penurunan efek proteksi dibandingkan terhadap dosis yang memberikan proteksi optimal, mengarah pada pemikiran stimulasi dari sel-sel limfosit T penekan atau karena produksi mediator-mediator imunitas seluler yang bersifat menghambat, sebagai pengatur keseimbangan sistem pertahanan tubuh.

Hasil penelitian ini menunjukkan pemberian ekstrak tanaman lidah ular mampu merangsang pembentukan antibodi (*Immunodulator stimulansia*) dengan menggunakan antigen ND sebagai tolok ukur, dengan demikian ekstrak tanaman lidah ular berperan meningkatkan respon humoral, hal ini sesuai dengan hasil penelitian Sutarjadi, dkk (1990) hasil uji bioaktivitas tanaman lidah ular menunjukkan pengaruh pada sistem fagositosis yang menurun, meningkatkan respon seluler dan humoral, berarti tanaman lidah ular bertindak mensensitisasi sel-sel tubuh yang bekerja dalam sistem kekebalan, sehingga bila ada antigen



yang masuk di dalam tubuh maka tubuh telah siap untuk menghadapinya.

Setelah didapatkan kesimpulan bahwa suatu tanaman obat mempunyai aktivitas immunomodulasi. Ada tiga tindak lanjut yang penting, yaitu :

1. Informasi aktifitas *immunomodulasi* hasil penelitian dapatlah dipakai sebagai penunjang aplikasi tanaman obat sebagai fitofarmaka. Data ilmiah tersebut tentunya dapat berupa konfirmasi indikasi pemakaian ataupun berupa petunjuk adanya kontra indikasi.
2. Hasil uji aktivitas *immunomodulasi* tentu masih harus diteruskan dengan penelitian fitokimia untuk mencari zat kandungan mana yang mempunyai aktivitas.
3. Langkah ketiga adalah penelitian klinik. Di Indonesia penelitian klinik masih belum banyak dilakukan. Tentunya penelitian klinik tanaman obat dengan aspek imunologik masih perlu dibahas dalam suatu diskusi pada suatu simposium. Sebagai perbandingan di Eropa telah banyak bahan *immunofitoterapi*, suatu bentuk obat dengan kandungan sari tanaman obat dengan indikasi pemakaian immunostimulan dan tentunya peredaran obat-obat tersebut didukung oleh serangkaian hasil penelitian tingkat klinik.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### KESIMPULAN :

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan adanya pengaruh pemberian ekstrak tanaman lidah ular (*Oldenlandia corymbosa* Linn) yang berfungsi sebagai *imunomodulator stimulansia* terhadap aktivitas pembentukan antibodi yang dalam penelitian ini antigen ND dipakai sebagai tolok ukur serta didapatkan adanya perbedaan pengaruh yang nyata diantara kelompok perlakuan mulai minggu kedua hingga minggu keempat setelah perlakuan sedangkan dosis pemberian ekstrak tanaman lidah ular 20mg/500gBB merupakan dosis optimum dalam penelitian ini.

### SARAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disarankan bahwa perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan tanaman lidah ular yang menyebabkan aktivitas kekebalan serta perlu dilakukan penelitian pengaruh tanaman lidah ular terhadap antigen lain sebagai tolok ukur sehingga penggunaan tanaman lidah ular dapat lebih dikembangkan.

## RINGKASAN

LULUK DWI ERNAWATI. Khasiat tanaman tradisional lidah ular terhadap aktivitas pembentukan antibodi *Newcastle Disease* pada anak ayam pedaging (di bawah bimbingan Bapak Emile Bambang Sasongko T. sebagai pembimbing pertama dan Ibu Rahayu Ernawati sebagai pembimbing kedua ).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui lebih lanjut pengaruh pemberian ekstrak tanaman lidah ular sebagai imunostimulan mampu meningkatkan aktivitas pembentukan antibodi dengan antigen ND sebagai tolok ukur pada ayam pedaging.

Dalam penelitian ini digunakan sebanyak 80 ekor anak ayam pedaging jenis Hubbard yang diambil dari salah satu Poultry Shop di Surabaya. Anak ayam di pelihara bersama-sama di dalam kandang indukan, sedangkan makanan dan minuman diberikan secara *ad libitum*.

Setelah berumur 18 hari, 20 ekor anak ayam diambil darahnya untuk mengetahui maternal antibodi yang masih ada, kemudian selama dua hari diberikan ekstrak tanaman lidah ular dua kali sehari sebanyak 2,5 ml secara oral dengan dosis : 10 ng/ 500 g BB (KI), 20 ng/ 500 g BB (KII), 40 ng/ 500 g BB (KIII) sedangkan KIV tidak menerima ekstrak tanaman lidah ular ( Sebagai kontrol ). Kemudian dilanjutkan dengan pemberian vaksin strain F dosis 0,5 ml secara intramuskuler.

Uji Serologis dilakukan dengan memakai metode HI test mikrobeta prosedur dengan pengambilan serum darah



ayam percobaan dilakukan setiap minggu selama empat minggu (empat kali pengambilan serum ) setelah dikenakan perlakuan. Analisa data terhadap hasil perlakuan dilakukan dengan memakai RAL yang dilanjutkan dengan uji jarak berganda " Duncan ".

Setelah dilakukan uji serologis didapatkan hasil bahwa pada hari ke 18 (ayam umur 18 hari) mempunyai titer antibodi sekitar  $\log_2 0,95$ . Pada Kelompok perlakuan II menunjukkan bahwa vaksinasi ND yang didahului pemberian ekstrak tanaman lidah ular 20 mg/ 500 g BB memberikan kekebalan yang lebih cepat dan lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan yang lain. Dengan uji statistik, didapatkan hasil tidak adanya perbedaan pada minggu pertama setelah perlakuan pada kelompok I, II, III dan IV ( $F$  hitung  $< F$  tabel 0,05), tetapi pada minggu kedua, ketiga dan keempat setelah perlakuan terdapat perbedaan yang nyata diantara perlakuan ( $F$  hitung  $> F$  tabel 0,05). Kemudian setelah dilanjutkan uji jarak berganda Duncan pada minggu ke dua, ketiga dan keempat setelah perlakuan didapatkan bahwa kelompok perlakuan II merupakan kelompok perlakuan yang memberikan hasil yang terbaik, jadi dosis optimum dalam penelitian ini 20mg/500gBB. Dari hasil diatas dapat disimpulkan bahwa dalam penelitian ini tanaman lidah ular bertindak sebagai *immunomodulator stimulansia* yang mampu meningkatkan aktivitas pembentukan antibodi pada hewan percobaan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ackerman, W.W. 1964. Cell Surface Phenomena of ND Virus in ND Virus, an Evaluating Pathogen. Ed by. R. P. Hanson. University of Wisconsin. Press. Medison. Wis. 15 - 17.
- Allan, W. H.; J. H. Lancaster and B. Toth. 1978. The production and use of Newcastle disease vaccine. F.A.O Rome. Italia. 20 - 25.
- Andrewes, C. 1964. Viruses of Vertebrates. The William and Wilking Company. Baltimore. 116.
- Anonimus. 1978. Standart HI test terhadap ND. Hasil lokarya laboratorium kesehatan hewan II. Di Lawang, Malang 23 - 30 1978. 28 - 33.
- Anonimus. 1981. Pedoman pengendalian penyakit hewan menular. Direktorat Jenderal Peternakan, Departemen pertanian Jakarta. 5 - 20.
- Astika, G. N., J. S. Soewandi dan W. Jatmiko. 1975. Penelitian pendahuluan fitokimia dan farmakognosi *Oldenlandia corymbosa* Linn. Simposium Penelitian Tanaman Obat I. Bogor.
- Azwar, A. 1990. Obat dan pengobatan tradisional. Panasea. 4 : 40 - 41.
- Bach, J. F. 1982. Immunology. 2<sup>nd</sup> Ed. John Wiley and Sons. Inc. Paris.
- Backer, C.A Ce . 1965. Flora of Java. Vol II. Published under The Auspice of The Rijks, Herbarium Liden. 284 - 285.
- Baldwin, R. W. and V.S. Byer. 1979. Immunoregulation by bacterial organisms and their role in the immunotherapy of cancer. Springer Semin. Immunopathology. 79 - 100.
- Beard, C. W. and B. C. Easterday. 1967. The influence of the route of administration of newcastle disease virus on the respon. I. Serologocal and Virus Isolation Studies. J.Infect. Dis. 117 : 55 - 61.
- Beard, C. W. and R. P. Hanson. 1984. Newcastle Disease of Poultry. 8 th Ed. Iowa States University Press. USA. 425 - 470.



- Bendryman, R. S. 1988. Pengaruh imunostimulan biologis pada penyakit infeksi. Temu ilmiah dan penyakit in feksi. Surabaya.
- Bellanti, J. A. 1985. Introduction to Immunology III. Shoin. Saunders - Edition. W. B. Saunders Company. Philadelphia. London. Tokyo.
- Burkill, I. H. MA, F.L.S. 1956. A Dictionary of the Economic product of the Malay Peninsula. Vol. I. Crown Agent. Milbenk London. S. W 5. 1578 - 1578.
- Chopra R.N. 1956. Glossary of indian of plant. Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi. 100.
- Dyer, R. J. 1965. Aplikasi of absorbtion spectros of organic compounds. Prantice Hall Inc. London.
- Dorsey, W.B. and J.H. Gillespie. 1973. Hagan's Infec - tious Disease of Domestic Animal. 6<sup>th</sup> Ed. Cornel University Press. Ithaca and London. 1063 - 1071.
- Gan, V.H.S. dan Handoko, T. Imunosupresan, 1987. Di da - lam Farmakologi dan Terapi, Eds. Gan, S dkk. Edisi ke 3 Bagian Farmakologi FKUI Jakarta. 639 - 647.
- Ganong, W.F. 1983. Fisiologi Kedokteran. Edisi 10. EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. 441 - 461.
- Glick, B. Chang, T.S., and Jaap, R.G. 1958. The Bursa of Fabricius and Antibodi Production. Poultry Science. 35. 224 - 225.
- Goodman, J.W. and An- Chuang Wang. 1978. Immunoglobulins: structure and diversity. In : H.H. Fundenberg, D.P. Stites, J.L. Caldweel, and J.V. Wells (ed). Basic and Clinical Immunology. 2nd. Ed. Lange Medical Publications. Los Altos, California.
- Haida, L.S. 1973. Farmakodinami *Oldenlandia Corymbosa* Linn. Pada Tekanan Darah Anjing. Skripsi Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
- Hammer, D.K. 1974. The Imune system in Chickens. Present ed At The Fifth world Congress of The World. Vet. Poul. Association : 65 - 76.
- Hanson, R. P. 1978. Newcastle Disease in Disease of Poultry. 7<sup>th</sup> Ed. Iowa State University Press. Ames. 169 - 656.



- Merril, E. D. 1912. A Flora of Manila. Manila Bureau of Printing. 447 - 448.
- Muhamad, A. 1977. Titik Tangkap Pengaruh Hipotensif Ekstrak Tanaman Lidah Ular (*Oldenlandia corymbosa* L.) Pada Kucing. Bulletin Penelitian Kesehatan. Vol. II 27 - 31.
- Marzo, F. A. Tozar and S. Santidrian. 1990. Effect of Tannic Acid on The Immune Responce of Growing Chickens. Journal of Animal Science. Vol. 68 No 10.
- Page, D.S. 1985. Prinsip-prinsip Biokimia. Edisi 2. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Pattiasina, B. 1988. Isolasi Triterpen dan Sterol dari *Oldenlandia corymbosa* Linn. Disertasi Fakultas Pasca Sarjana, Universitas Indonesia. Surabaya.
- Pelczar, M. J. and E. C. S. Chan. 1988. Dasar-dasar Mikrobiologi 2. Penerjemah : Ratna Siri Hadioetomo, dkk. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Powell, P.C. 1983. The Immune System of Chickens. Pro Veterinario : 1 - 3.
- Regnier, J. A. and K. W. Kelley. 1981. Heat and Colt Stress Supresses invivo and invitro Celluler Immune Responses of Chickens. Am. J. Vet. Res. 42 : 294 - 299.
- Ressang, A.A. 1984. Patologi Khusus Veteriner. Edisi 2 567.
- Rochiman, K. 1989. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Roitt, I. M. 1985. Pokok - pokok Kekebalan. P.T. Gra - nedia Jakarta.
- Ronohardjo, P. 1980. Beberapa Masalah yang Menyangkut Pengendalian Penyakit Tetelo ( ND ) di Indonesia. Seminar Penyakit Unggas dan Reproduksi, Tugu. 13 - 15 Maret 1980.
- Safitri, M. 1991. Khasiat Ekstrak Tanaman Lidah Ular (*Oldenlandia corymbosa* Linn) Terhadap Beberapa Komponen Sistem Kekebalan Mencit. Skripsi Mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.

- Santhia, K. A. P., A. W. Brati dan I. G. Sudane. 1985. Karakterisasi Isolat Virus ND Dari Ayam, Itik, burung Pelatuk, Nuri dan Kakatua. Bull. Vet. BPPH. Wil. VI Denpasar 2 (1) : 1 - 7.
- Siegmud, O.H. 1979. The Merk Veterinary Manual. A Handbook of Diagnosis and Therapy for Veterinarian. 5th Ed. Published By Merk and Co. Rahway. N. J. USA 1106 - 1217.
- Sirait, M. 1986. Pidato Pengarahan Direktur Jendral Pengawasan Obat dan Makanan Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Pada Simposium Penelitian Obat V Surabaya.
- Soepardi, R. 1964. Tumbuhan Obat-obatan Exoot. Apotik Hijau. Cetakan II. 77 - 79.
- Sofjan, S.D. 1980. Imunisasi Terhadap ND Dengan Perma - salahannya. Ayam dan Telur. No 16 tahun X. 17 - 19.
- Sondakh, G. 1974. Pengaruh *Oldenlandia corymbosa* Linn. Pada Usus Halus Kelinci Terpisah. Tesis Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Surabaya.
- Stell, R. G. and J.H. Torrie. 1981. Principle and Procedures of Statistics Abiometrial Approach. 2 nd Ed. Mc. Graw - Hill International Book Company Inc.
- Sutarjadi, W. Dyatmiko, S. Bendryman dan M.S. Hadi. 1992. Penelitian Aktivitas Biologi Tanaman Obat Indonesia Melalui Pendekatan Immunologis. Pusat Penelitian dan Pengembangan Obat Tradisional. Lembaga Penelitian an Universitas Airlangga. Surabaya.
- Tizard, I.R. 1988. Pengantar Immunologi Veteriner. Edisi kedua. Penerbit Universitas Airlangga. Surabaya.
- Trease, G. E. 1983. Pharmacognosy. Balliare Tindall. London.
- Volk, W.A. and M.F. Wheeler . 1988. Mikrobiologi Dasar. Edisi kelima. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Wahyuni, I. 1990. Uji Aktivitas Immunostimulan *Oldenlandia corymbosa* Linn. Pada Mencit. Skripsi S1 Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
- Wijaya. 1985. Daun Lidah Ular Untuk Obat Kanker. Trubus 16 ( 185 ) Hal : 248 - 249.



- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Terbitan kedua. Penerbit ITB Bandung.
- Hargono, D. 1985. Tumbuhan Indonesia yang Potensial dikembangkan dalam Fitofarmaka. Simposium Tumbuhan Obat V. Surabaya.
- Herbert, W. J. 1974. *Veterinary Immunology* Blackwell Scientific Publicationn : I - III.
- Hui, W.H and M.L. Moon. 1977. Triterpenoids and Sterol from The Stems of *Hydiotis acutangula*. *Phytochemistry* Vol 16. 1309 - 1310.
- Hutchinson, H. L. 1975. The Control and Eradication of Newcastle Disease in Nordthern. *Irland Vet. Rec* . 96 : 213 - 217.
- Indah, Y.P., Liliana, K., Basundari, S.U. dan Roswita, Z. 1987. Imunitas Selluler Pada Neonatus dan Ibunya. *Medika*. 8 : 761 - 763.
- Jawetz, E., Melinck, J.L., Adelberg, E.A. 1978. *Review of Medical Microbiology*. 14 th Edition. Lange Medical Publications. Los Altos, California.
- Khare, M.L, Kumar and J. Grun. 1975. Immunoglobulin of Chiken Antibodi to ND Virus ( Mukteswar and F Strain ). *Puoltry Science*. 55 : 157 - 159.
- Kresno, S. B. 1984. *Immunology. Diagnosis and Prosedur Laboratorium*. Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Kulkarni, V. B., A. N. Mulbagal, V. L. Paranjape, J.B. Khot and A.V. Manda. 1973. Immunostimulating effect of Tetramisole on Antibodi Against Newcastle Disease Virus in Chick. *Indian Vet. J*. 50 : 225 - 227.
- Lancaster, J. E. 1977. Newcastle Disease A Review of Geographical Incidence and Epizootiology. *Vet. Bull*. 48 : 779.
- Marchalouis, J.J. 1978. Cell Cooperation in Immune Respon. In : H.H. Fundenberg, D.P. Stites, J.L. Caldwell and J.V. Well (ed). *Basic and Clinical Immunology*. 2 nd . Ed. Lange Medical Publications. Los Altos, California.
- Merchant and Packer. 1971. *Veterinary Bacteriology and Virology*. 7th Ed. Iowa States. University Press. 670 - 674.



## LAMPIRAN

## Lampiran 1.

## Analisis Statistik

## I. Rancangan Acak Lengkap (RAL)

Pada penelitian ini dilakukan dengan rancangan acak lengkap, karena yang berbeda disini hanya pada perlakuan saja, sedangkan yang lain sama. Perbedaan perlakuan disini adalah pada dosis ekstrak tanaman lidah ular yang diberikan pada masing-masing kelompok perlakuan

## II. Analisis Varian (ANOVA)

Analisa data dari hasil penelitian dilakukan dengan analisa varian (Uji F), karena perlakuan yang diberikan disini lebih dari dua.

Formula yang dipergunakan dalam analisa varian.

$$FK = \frac{1}{m.n} \left( \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n X_{ij} \right)^2$$

Jumlah kwadrat total ( JKT )

$$= \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n X_{ij}^2 - FK$$

Jumlah kwadrat Perlakuan (JKP)

$$= \frac{1}{n} \sum_{i=1}^m \left( \sum_{j=1}^n X_{ij} \right)^2 - FK$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah kwadrat Sisa ( JKS )} \\ = \text{ JKT} - \text{JKP} \end{aligned}$$

## SIDIK RAGAM

Variasi	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	$m-1$	JKP	$\frac{\text{JKP}}{\text{db P}}$	$\frac{\text{KTP}}{\text{KTS}}$		
Sisa	$m(n-1)$	JKS	$\frac{\text{JKS}}{\text{db S}}$			
Total	$m.n-1$	JKT				

## Keterangan :

- m = perlakuan
- i = perlakuan yang ke i.
- n = Ulangan
- j = ulangan yang ke j.
- X<sub>ij</sub> = data perlakuan ke i dan ulangan ke j.

Apabila pada analisa varian terjadi perbedaan, yaitu dimana  $F \text{ hitung} > F \text{ tabel}$ , maka uji ini dilanjutkan dengan Multiple Ring Test dari Duncan (Uji Jarak Duncan) untuk membuktikan perlakuan mana yang lebih baik.

## III. Uji Jarak Berganda Duncan

Setelah analisa varian memberikan hasil dapat dilanjutkan dengan Uji jarak berganda Duncan untuk mengetahui perlakuan mana yang lebih baik dari semua perlakuan yang ada.

Untuk ini dapat dipergunakan formula sebagai berikut

$$LSR = SSR \times Se$$

$$Se = \sqrt{\frac{KTS}{n}}$$

dimana :

- LSR = Least Significant Range
- (JNT = Jarak nyata terkecil / titik kritis)
- SSR = Significant Studentized Range
- (JND = Jarak Nyata Duncan)
- Se = Akar KTS dibagi Ulangan
- KTS = Kuadrat Tengah Sisa
- n = Ulangan

Dari hasil ini dibandingkan dengan nilai selisih antara perlakuan. Apabila nilai selisih antara perlakuan lebih besar berarti terjadi perbedaan. Dengan Notasi huruf didapatkan perlakuan mana yang terbaik dengan membandingkan beda rata-ratanya dengan LSR yang didapat.

1  
Uu



## Lampiran 2

ANALISIS STATISTIK TITER ANTIBODI ( $\text{Log}_2$ ) SATU MINGGU  
SETELAH PERLAKUAN

ULANGAN	P E R L A K U A N				JUMLAH
	KI	KII	KIII	KIV	
1.	2	0	0	0	
2.	0	2	5	1	
3.	3	2	0	1	
4.	4	4	2	2	
5.	2	0	4	0	
6.	0	3	0	0	
7.	4	2	5	0	
8.	0	2	2	3	
9.	4	4	5	0	
10.	2	0	2	3	
11.	4	2	0	1	
12.	1	2	0	0	
13.	2	0	4	2	
14.	2	2	4	2	
15.	4	2	2	1	
16.	0	2	4	3	
17.	2	5	2	0	
18.	3	3	2	2	
19.	2	0	3	2	
20.	2	3	2	0	
$\Sigma x$	43	40	48	23	154
$\bar{x}$	2,15	2,00	2,4	1,15	7,7
$\Sigma x^2$	131	120	176	51	478

$$FK = \frac{(154)^2}{80} = 296,45$$

$$JKT = (2^2 + 0^2 + \dots + 0^2) - 296,45$$

$$= 181,55$$

$$JKP = \frac{(43^2 + \dots + 23^2)}{20} - 298,45$$

$$= 17,65$$

$$\begin{aligned} \text{JKS} &= 181,55 - 17,65 \\ &= 163,9 \end{aligned}$$

$$\text{KTP} = \frac{17,65}{3} = 5,88$$

$$\text{KTS} = \frac{163,9}{76} = 2,156$$

$$\text{F hitung} = \frac{5,88}{2,156} = 2,727$$

#### ANALISIS SIDIK RAGAM (ANOVA)

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	3	17,65	5,88	2,727	2,728	4,058
Sisa	76	163,9	2,156			
Total	79	20,112				

Dari hasil analisis sidik ragam, dapat diketahui bahwa diantara ke empat perlakuan menunjukkan tidak ada perbedaan diantara kelompok perlakuan ( F hitung < F tabel ).

Lampiran 3.  
ANALISIS STATISTIK TITER ANTIBODI ( $\text{Log}_2$ ) DUA MINGGU SETE-  
LAH PERLAKUAN

ULANGAN	P E R L A K U A N				JUMLAH
	KI	KII	KIII	KIV	
1.	6	5	4	4	
2.	3	7	6	4	
3.	7	7	3	5	
4.	6	9	3	5	
5.	4	8	6	3	
6.	4	8	3	3	
7.	6	7	6	5	
8.	3	7	3	6	
9.	6	7	7	6	
10.	7	7	5	4	
11.	7	8	4	5	
12.	4	8	5	3	
13.	7	7	6	5	
14.	4	7	5	5	
15.	6	8	5	4	
16.	6	7	6	6	
17.	6	9	4	3	
18.	6	8	4	3	
19.	4	7	5	5	
20.	4	9	6	3	
$\Sigma x$	106	150	96	87	439
$\bar{x}$	5,3	7,5	4,8	4,35	21,95
$\Sigma x^2$	598	1142	490	401	26,31

Perhitungan :

$$\text{Faktor koreksi (FK)} = \frac{(439)^2}{80} = 2409,0125$$

$$\begin{aligned} \text{JK total} &= (6^2 + 3^2 + \dots + 3^2) - 2409,0125 \\ &= 221,987 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Perlakuan} &= \frac{106^2 + \dots + 87^2}{20} - 2409,0125 \\ &= 117,0375 \end{aligned}$$



$$\begin{aligned} \text{JK Sisa} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\ &= 221,987 - 117,0375 \\ &= 114,9495 \end{aligned}$$

$$\text{KTP} = \frac{\text{JKP}}{t-1} = \frac{117,0375}{3} = 39,0125$$

$$\text{KTS} = \frac{\text{JKS}}{t(n-1)} = \frac{114,9495}{76} = 1,38$$

$$\text{F hitung} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTS}} = \frac{39,0125}{1,38} = 28,28$$

#### Analisis Sidik Ragan ( ANAVA )

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	3	117,03	39,01	28,28	2,728	4,058
Sisa	76	104,94	1,38	**		
Total	79	15,332				

Dari hasil analisa sidik ragan diatas menunjukkan F hitung > F tabel 0,05 . Hal ini menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang nyata diantara empat perlakuan. Untuk membedakan perlakuan mana yang terbaik dilakukan Uji Jarak "Duncan".

#### UJI JARAK DUNCAN

P	$\bar{x}$	B e d a			p	SSR	LSR
		$\bar{x}$ -KIV	$\bar{x}$ -KIII	$\bar{x}$ -KI			
KII	7,5	3,145*	2,7*	2,2*	4	3,048	0,802
KI	5,3	0,95*	0,5	-	3	2,958	0,778
KIII	4,8	0,45	-	-	2	2,808	0,738
KIV	4,35	-	-	-	-	-	-

$$Se = f \frac{1,38}{20} = 0,263$$

$$LSR = SSR \times Se$$

### Notasi Dengan Huruf

	7,5	5,3	4,8	4,35
KII	KI	KIII	KIV	
a	b		c	

Notasi dengan huruf, menunjukkan bahwa perlakuan pada kelompok II (Vaksin = Ekstrak lidah ular 20 mg/500 g BB) adalah perlakuan dengan hasil terbaik dan kelompok perlakuan IV (kontrol) adalah perlakuan dengan hasil terendah.

## Lampiran 4.

ANALISIS STATISTIK TITER ANTIBODI ( $\text{Log}_2$ ) TIGA MINGGU  
SETELAH PERLAKUAN

Ulangan	P E R L A K U A N				Jumlah
	KI	KII	KIII	KIV	
1.	7	6	5	6	.PMB
2.	6	7	6	7	
3.	7	7	6	7	
4.	7	8	7	6	
5.	6	7	7	6	
6.	6	7	6	7	
7.	7	6	7	7	
8.	5	7	7	6	
9.	9	8	8	7	
10.	8	7	7	6	
11.	8	7	6	6	
12.	7	7	5	5	
13.	8	7	7	7	
14.	6	7	7	6	
15.	7	8	7	7	
16.	7	7	6	6	
17.	7	8	8	7	
18.	8	7	7	5	
19.	6	6	8	7	
$\Sigma x$	135	142	131	127	535
$\bar{x}$	6,75	7,1	6,55	6,35	26,75
$\Sigma x^2$	927	1016	490	401	2631

Perhitungan :

$$FK = \frac{(535)^2}{80} = 3577,81$$

$$JKT = (7^2 + 6^2 + \dots + 7^2 - 3577,81) \\ = 51,19$$

$$JKP = \frac{135^2 + \dots + 127^2}{20} - 3577,81 \\ = 6,41$$



$$JKS = 51,19 - 6,14 = 4,081$$

$$KTP = \frac{6,14}{3} = 2,047$$

$$KTS = \frac{45,05}{76} = 0,592$$

$$F \text{ hitung} = \frac{6,14}{0,592} = 3,45$$

### ANALISIS SIDIK RAGAM

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0,05	0.01
P	3	6,14	2,047	3,45*	2,728	4,058
S	76	45,05	0,592			
T	79	51,19				

Dari hasil analisis sidik ragam, dapat diketahui bahwa diantara ke empat perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata ( F hitung > F tabel 0,05 ). Untuk membedakan perlakuan mana yang yang berbeda nyata maka dilakukan Uji Jarak berganda " Duncan ".

### UJI JARAK DUNCAN

P	$\bar{x}$	B e d a			P	SSR	LSR
		$\bar{x}$ -KIV	$\bar{x}$ -KIII	$\bar{x}$ -KI			
					0.05	0.05	
II	7,1	0,7*	0,55*	0,35	4	3,048	0,524
I	6,75	0,4	0,2	-	3	2,958	0,509
II	6,55	0,2	-	-	2	2,808	0,483
IV	6,35	-	-	-	-	-	-

$$Se = \sqrt{\frac{0,592}{20}} = 0,052$$

## NOTASI DENGAN HURUF

7,1	6,75	6,55	6.35
KII	KI	KIII	KIV
a		b	

Hasil dari pemberian notasi huruf pada rata-rata tiap kelompok perlakuan didapat Perlakuan pada kelompok II ( Vaksin + ekstrak lidah 20 mg/kg BB ) merupakan kelompok perlakuan yang memberikan hasil yang tertinggi.



Lampiran 5.  
ANALISIS STATISTIK TITER ANTIBODI ( $\text{Log}_2$ ) EMPAT MINGGU  
SETELAH PERLAKUAN

ULANGAN	P E R L A K U A N				JUMLAH
	KI	KII	KIII	KIV	
1.	6	6	7	5	
2.	5	7	6	6	
3.	7	6	5	7	
4.	6	8	7	6	
5.	6	8	7	5	
6.	7	7	6	7	
7.	5	6	6	6	
8.	6	7	7	6	
9.	6	8	8	7	
10.	7	7	6	6	
11.	7	7	6	6	
12.	7	7	5	6	
13.	7	7	7	6	
14.	5	5	7	6	
15.	6	8	7	6	
16.	7	7	5	5	
17.	7	8	6	6	
18.	6	7	7	5	
19.	5	6	6	7	
20.	5	8	8	6	
$\Sigma x$	123	140	129	120	512
$\bar{x}$	5,15	7,00	6,45	6,00	25,6
$\Sigma x^2$	769	994	847	728	3338

Perhitungan :

$$FK = \frac{(512)^2}{80} = 3276,8$$

$$JKT = (6^2 + \dots + 6^2) - 3276,8$$

$$= 61,2$$

$$JKP = \frac{(123^2 + \dots + 120^2)}{20} - 3276,8$$

$$= 11,7$$



$$\begin{aligned} \text{JKS} &= 61,2 - 11,7 \\ &= 49,5 \end{aligned}$$

$$\text{KTP} = \frac{11,7}{3} = 3,9$$

$$\text{KTS} = \frac{49,5}{76} = 0,65$$

$$F \text{ hitung} = \frac{3,9}{0,65} = 6$$

#### ANALISIS SIDIK RAGAM

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0,05	0,01
P	3	11,7	3,9	6**	2,278	4,058
S	76	49,5	0,65			
T	79	61,2				

Dari hasil analisis sidik ragan,  $F \text{ hitung} > F \text{ tabel}$  dapat diketahui bahwa diantara ke empat perlakuan menunjukkan perbedaan sangat nyata maka dilakukan Uji Jarak berganda " Duncan".

#### UJI JARAK DUNCAN

P	$\bar{x}$	B e d a			SSR	LSR	
		$\bar{x}$ -KIV	$\bar{x}$ -KI	$\frac{p}{\bar{x}$ -KIII			
0,05						0,05	
KII	7,00	1,00*	0,85*	0,65*	4	3,408	0,613
KIII	6,45	0,45	0,30	-	3	2,958	0,532
KI	6,15	0,15	-	-	2	2,808	0,505
KIV	6,00	-	-	-	-	-	-

$$Se = f \frac{KTS}{n} = f \frac{0,85}{20} = 0,180$$

## NOTASI DENGAN HURUF

7,00	6,45	6,15	6,00
KII	KIII	KI	KIV
_____		_____	
a		b	

Perlakuan pada kelompok II ( vaksin + ekstrak lidah ular ) mempunyai perbedaan yang nyata dibanding dengan kelompok I,III dan IV. Di antara ke empat perlakuan di atas, ternyata perlakuan pada kelompok II memberikan hasil yang terbaik.

### Lampiran 6. Pembuatan Ekstrak Tanaman Lidah Ular.

Bahan tanaman lidah ular dibersihkan dan dicuci, diangin-anginkan di udara bebas dan terhindar dari panas sinar matahari hingga kering. Bahan yang sudah kering digiling, kemudian ditimbang 20 mg lalu dimasukkan panci infus, ditambahkan larutan NaCl Fisiologis ± 200 ml, kemudian dipanaskan diatas penangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu 90 derajat Celcius sambil sekali-sekali diaduk. Kemudian disaring, filtrat ditampung dalam labu erlenmeyer ukuran 200 ml, ditambahkan ke dalam NaCl Fisiologis hingga garis tanda 200 ml. Larutan ini mempunyai konsentrasi 100mg/100ml.

Pembuatan Ekstrak ini dengan ketentuan dosis optimum satu mg/25 g BB (Wahyuni, 1990), sedangkan pada penelitian ini rata-rata berat badan ayam ± 500 g.

Dosis 10mg/500 g BB

$$10 \text{ mg}/500 \text{ mg BB} = 10 \text{ mg} \times 20 \text{ ekor} = 200 \text{ mg}$$

$$\frac{200 \text{ mg}}{100 \text{ mg/ml}} = 2 \text{ ml}$$

Setiap kali pemberian ekstrak lidah ular secara oral dengan volume 2,5 ml, dibutuhkan ekstrak lidah ular sebanyak :

$$\frac{200 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 2,5 \text{ ml} = 50 \text{ ml}$$



Dosis 20 mg/500 g BB

$$20\text{mg}/500\text{ g} = 20\text{ mg} \times 20\text{ ekor} = 400\text{ mg}$$

$$\frac{400\text{ mg}}{100\text{mg/ml}} = 4\text{ ml}$$

Setiap pemberian ekstrak tanaman lidah ular secara oral dengan volume 2,5 ml, dibutuhkan ekstrak tanaman lidah ular sebanyak :

$$\frac{400\text{ mg}}{20\text{ mg}} \times 2,5\text{ ml} = 50\text{ ml}$$

Dosis 40mg/500 g BB

$$40\text{ mg}/500\text{ g BB} = 40\text{ mg} \times 20\text{ ekor} = 800\text{ mg}$$

$$\frac{800\text{ mg}}{100\text{ mg/ml}} = 8\text{ ml}$$

Setiap pemberian ekstrak tanaman lidah ular secara oral dengan volume 2,5 ml, dibutuhkan ekstrak tanaman lidah ular sebanyak :

$$\frac{800\text{ mg}}{40\text{ mg}} \times 2,5\text{ ml} = 50\text{ ml}$$



Gambar 3. Tanaman Lidah Ular  
(*Oldenlandia corymbosa* Linn.)



Gambar 4. Pemberian Ekstrak Tanaman Lidah ular  
Secara Oral



Gambar 5. Alat-alat Pembuatan Ekstrak Tanaman Lidah Ular



Gambar 6. Pemberian Vaksin secara intramuscular





Gambar 7. Pengambilan Darah Melalui Vena Axilaris



Gambar 8. Peneliharaan Ayam dalam Kandang



Gambar 9. Alat Pemusing (Sentrifuge)