

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KACANG BUNCIS (*Canavalia ensiformis*) SEBAGAI MITOGEN TERHADAP PERUBAHAN BERAT DAN TINGKAT KEPADATAN NODULUS SERTA SEL LIMFOSIT LIMPA MENCIT (*Mus musculus*)



Oleh :

JOHANES BERCHMANS ORITOMO
SURABAYA - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2002**

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KACANG BUNCIS (*Canavalia ensiformis*) SEBAGAI MITOGEN TERHADAP PERUBAHAN BERAT DAN TINGKAT KEPADATAN NODULUS SERTA SEL LIMFOSIT LIMPA MENCIT (*Mus musculus*)

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Oleh :

JOHANES BERCHMANS ORITOMO
NIM. 069712426

Menyetujui,

Komisi Pembimbing,



(Prof. Dr. Sarmanu, MS, drh)

Pembimbing Pertama



(Rudy Sukanto, 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

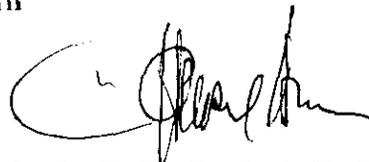
Panitia Penguji,



Anita Asali, MS, drh
Ketua



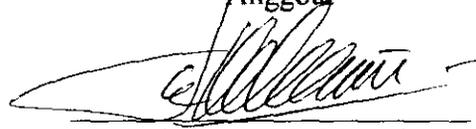
Dr. Fedik Abdul Rantam, MSc, drh
Sekretaris



Chairul Anwar, MS, drh
Anggota



Prof. Dr. Sarmanu, MS, drh
Anggota



Rudy Sukamto, Msc, drh
Anggota

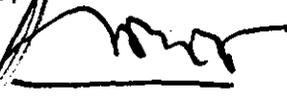
Surabaya, 17 Juni 2002

Fakultas Kedokteran Hewan



Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Dr. Ismudiono, MS, drh
NIP, 130 687 297

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KACANG BUNCIS (*Canavalia ensiformis*) SEBAGAI MITOGEN TERHADAP PERUBAHAN BERAT DAN TINGKAT KEPADATAN NODULUS SERTA SEL LIMFOSIT LIMPA MENCIT (*Mus musculus*)

JOHANES BERCHMANS ORITOMO

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak kacang buncis dengan volume dosis 0,02 ml/kg bb dan beberapa tingkatan konsentrasi yaitu 0 %, 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %, terhadap perubahan berat dan struktur histologi organ limpa mencit. Ada 3 peubah yang diamati yaitu berat organ limpa, proliferasi pulpa putih, dan proliferasi sel limfosit

Tiga puluh ekor mencit jantan galur BALB C umur 21 hari dengan berat badan 25 – 30 g, diadaptasikan selama 18 hari. Mencit diinjeksi intraperitoneal dengan ekstrak kacang buncis. Digunakan volume dosis yang sama pada setiap kelompok perlakuan dengan konsentrasi yang berbeda.

Hasil penelitian dengan rancangan acak lengkap dan uji anova, didapatkan berat organ limpa dalam kelompok tidak berbeda nyata ($F_{hitung} < F_{tabel}$). Pada pemeriksaan histologis dengan uji Kruskal Wallis menunjukkan perbedaan yang sangat nyata dalam masing-masing kelompok ($p < 0,01$). Kemudian dilanjutkan dengan uji pasangan berganda (uji Z). Konsentrasi 75 % relatif paling tinggi menimbulkan proliferasi, baik pulpa putih maupun sel limfosit.

Pengamatan menunjukkan tidak terdapat pengaruh yang nyata terhadap berat organ limpa mencit yang diberi ekstrak kacang buncis, namun ditemukan pengaruh yang nyata terhadap gambaran histologi organ limpa mencit dengan peubah tingkat kepadatan nodulus dan tingkat kepadatan sel limfosit.

KATA PENGANTAR

Segala puja dan puji dihaturkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas segala rahmat dan limpahan-Nya, sehingga penulis telah sampai di tahap pembuatan skripsi. Penulis menyadari, tanpa sentuhan lembut-Nya, keadaan tidaklah akan sama.

Penulis berharap semoga penelitian yang berjudul **Pengaruh Pemberian Ekstrak Kacang Buncis (*Canavalia ensiformis*) terhadap Berat dan Tingkat Kepadatan Nodus serta Sel Limfosit Limpa Mencit (*Mus musculus*)** dapat memberikan kontribusi dalam bidang ilmu pengetahuan, serta dapat berguna bagi kesejahteraan kita bersama.

Penulis menyadari bahwa manusia tidaklah sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan masukan dari berbagai pihak, kritik dan saran, agar penulis dapat lebih mengembangkan dan melengkapi lebih optimal.

Surabaya, Februari 2002

PENULIS

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis merasa bahwa segala sesuatu tidak datang begitu saja, pasti ada peran serta dari orang lain. Oleh karena itu, pada kesempatan yang berbahagia ini penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada :

1. Tuhan Yang Maha Esa, yang senantiasa melindungi dan memberkahi setiap perjalanan hidup yang telah ditempuh.
2. Papa dan Mama, Thomas Ola Conterius dan Emerentiana Netty Herawati, yang selalu mendukung seluruh kegiatan dan tidak henti-hentinya menasehati.
3. Prof.Dr.Sarmanu, MS, drh. dan Rudy Sukanto, MSc, drh. selaku dosen pembimbing pertama dan dosen pembimbing kedua, atas petunjuk-petunjuk dan bimbingan beliau akhirnya penulis dapat sampai ke jenjang ini.
4. Dr.Fedik Abdul Rantam, MSc,Drh. yang telah menjadi dosen wali dari penulis, dengan dampingan beliau dari awal penulis masuk ke Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya ini sampai saat-saat berakhirnya masa studi di fakultas, penulis merasa memiliki pegangan yang dapat diandalkan.
5. Teman, sahabat, kekasih, Louisa Viktori Indrianti, yang tidak henti-hentinya mendesak agar skripsi cepat selesai, turut membantu penulis dalam membangkitkan semangat.
6. Semua teman-teman yang telah membantu selama penyusunan skripsi, Tori yang telah meminjamkan timbangan, mikroskop, dan buku, Joni yang memberikan

nasehat dalam penyusunan laporan, Natalia yang telah membantu dalam pembedahan, dan semua teman-teman yang tidak dapat disebutkan satu-persatu karena keterbatasan tempat.

7. Vinaya Rental, yang membantu dalam proses penyusunan skripsi.

8. Semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung ikut membantu.

Semoga amal dan belas kasih yang telah diberikan, dapat membuat penulis dan orang lain tergerak untuk juga melakukannya.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
BAB I PENDAHULUAN.....	1
I. 1.Latar Belakang dan Permasalahan.....	1
I. 2.Rumusan Masalah.....	4
I. 3.Tujuan Penelitian.....	4
I. 4.Landasan Teori.....	5
I. 5.Hipotesis.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
II. 1.Gambaran Umum Sistem Kekebalan Tubuh.....	7
II. 2.Kacang Buncis.....	11
II. 3.Limfosit.....	12
II. 4.Limpa.....	16
II. 5.Fungsi Limpa.....	17
II. 6.Concanavalin A sebagai Lektin.....	18
II. 7.Concanavalin A sebagai Imunomodulator.....	19
II. 8.Mencit.....	21
BAB III MATERI DAN METODE PENELITIAN.....	24
III. 1.Alat dan Materi Penelitian.....	24
III. 2.Hewan Percobaan.....	25
III. 3.Rancangan Penelitian.....	25
III. 4.Waktu dan Tempat Penelitian.....	26
III. 5.Metode Penelitian.....	27
III. 6.Analisis Data.....	31
BAB IV HASIL PENELITIAN.....	33
IV. 1.Peubah Berat Organ Limpa Mencit.....	33
IV. 2.Peubah Tingkat Kepadatan Nodus.....	34
IV. 3.Peubah Tingkat Kepadatan Sel Limfosit.....	37

BAB V PEMBAHASAN	39
V. 1. Berat Organ Limpa Mencit	39
V. 2. Tingkat Kepadatan Nodus	41
V. 3. Tingkat Kepadatan Sel Limfosit	42
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	44
VI. 1. Kesimpulan	44
VI. 2. Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN	49

DAFTAR TABEL

Nomer	Judul	Halaman
Tabel 1.	Data Biologis Mencit.....	23
Tabel 2.	Tingkat Kepadatan Nodus 0 %, 25 %, 50 %, 75 %, 100 %	31
Tabel 3.	Tingkat Kepadatan Sel 0 %, 25 %, 50 %, 75 %, 100 %.....	31
Tabel 4.	Data Berat Organ Limpa Mencit	33
Tabel 5.	Skoring Tingkat Kepadatan Nodus	34
Tabel 6.	Skoring Tingkat Kepadatan Sel Limfosit	37
Tabel 7.	Berat Hidup Mencit (<i>Mus musculus</i>) Sebelum Perlakuan.....	49
Tabel 8.	Berat Hidup Mencit (<i>Mus musculus</i>) Sesudah Perlakuan	49
Tabel 9.	Tingkat Kepadatan Nodus Limpa dan Skor Histologi Selama Perlakuan	50
Tabel 10	Tingkat Kepadatan Sel Limfosit Limpa dan Skor Histologi Selama Perlakuan	52

DAFTAR GAMBAR

Nomer	Judul	Halaman
1.	Tingkat Kepadatan Nodulus 0 %.....	35
2.	Tingkat Kepadatan Nodulus 75 %.....	36

DAFTAR LAMPIRAN

Nomer	Judul	Halaman
1.	Berat Hidup Mencit (<i>Mus musculus</i>) Sebelum Perlakuan.....	49
	Berat Hidup Mencit (<i>Mus musculus</i>) Sesudah Perlakuan.....	49
2.	Tingkat Kepadatan Nodus Limpa dan Skor Histologi Selama Perlakuan.....	50
3.	Tingkat Kepadatan Sel Limfosit Limpa dan Skor Histologi Selama Perlakuan.....	52
4.	Perhitungan RAL dan Anova	54
5.	Uji Kruskal Wallis Perhitungan Statistik Tingkat Kepadatan Nodus Limpa.....	56
6.	Uji Kruskal Wallis Perhitungan Statistik Tingkat Kepadatan Sel Limfosit Limpa	57
8.	Uji Pasangan Berganda (Uji Z).....	58

BAB I
PENDAHULUAN

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang dan Permasalahan

Sistem kekebalan tubuh adalah semua mekanisme tubuh yang digunakan tubuh untuk mempertahankan keutuhan tubuh sebagai perlindungan terhadap bahaya yang dapat ditimbulkan berbagai bahan dalam lingkungan hidup. Sistem kekebalan tubuh merupakan gambaran pertahanan tubuh dalam melawan pengaruh infeksi atau agresi dari luar, melalui aktivitas sel-sel kekebalan tubuh, akan menampilkan berbagai kemungkinan tanggap kebal sebagai hasil serangkaian reaksi dari masing-masing elemen sistem kekebalan (Coles, 1986).

Sistem ini terbagi menjadi dua bagian besar, yaitu sistem kekebalan tubuh spesifik dan sistem kekebalan tubuh nonspesifik. Dua bagian ini bersama-sama membantu proses kekebalan dalam tubuh. Dalam sistem kekebalan tubuh terdapat sejumlah organ-organ yang ikut membantu dalam proses pertahanan tubuh. Organ limfoid dibagi menjadi 2, yaitu organ limfoid primer dan organ limfoid sekunder.

Organ limfoid primer berfungsi mengatur produksi dan diferensiasi limfosit, misalnya timus dan sumsum tulang pada mamalia dan unggas, serta bursa fabricius yang hanya terdapat pada unggas (Tizzard, 1988). Organ limfoid sekunder berfungsi untuk memudahkan penangkapan antigen dan menyediakan kesempatan yang

maksimal bagi antigen yang sudah diproses untuk disajikan pada sel peka antigen (Tizzard, 1988). Contoh dari organ ini adalah limpa, simpul limfe, dan limfonodul. Limpa dibagi menjadi 2, yaitu pulpa merah yang berfungsi untuk penyimpanan eritrosit, untuk penjeratan antigen dan untuk eritropoesis, dan pulpa putih yang di dalamnya terjadi proses pertahanan (Tizzard, 1988).

Dalam keadaan yang abnormal, misalnya karena terjangkitnya penyakit, kelelahan, stres, dan lain sebagainya, akan membuat sistem kekebalan ini tidak bekerja optimal untuk menanggulangi dan atau memperkecil kemungkinan terjangkitnya penyakit. Dalam keadaan yang seperti itu menjadikan tubuh mudah sekali terinfeksi agen-agen penyakit. Apabila tubuh telah mengenali agen-agen penyakit tersebut sebelumnya, maka akan lebih mudah kerja dari sistem kekebalan tubuh untuk segera mengusir agen-agen penyakit tersebut. Tetapi jika belum, maka sistem kekebalan tubuh segera mengadakan perlawanan dan untuk kelanjutannya, sistem ini akan membentuk sel memori yang berjaga-jaga apabila tubuh terinfeksi oleh agen penyakit yang sama.

Agar tubuh dapat mengenali tanpa harus terjangkit terlebih dahulu oleh agen penyakit, maka dikembangkan sebuah cara yang efektif yaitu vaksinasi. Vaksinasi adalah memasukkan bahan asing atau bibit penyakit, yang telah dilemahkan patogenitasnya, ke dalam tubuh sehat dengan maksud agar tubuh dapat membentuk antibodi dan memberikan respon apabila ada bibit penyakit tersebut di waktu yang akan datang masuk ke dalam tubuh. Nama umum untuk bahan asing atau bibit penyakit tersebut adalah antigen. Antigen yang masuk ke dalam tubuh inang

vertebrata akan menimbulkan respon kekebalan dengan terjadinya produksi antibodi, dimana antigen tersebut merupakan benda asing bagi tubuh inang (Pelczar dan Chan, 1988). Antibodi biasanya hanya berikatan khusus dengan antigen yang merangsang pembentukannya (Tizzard, 1988). Vaksinasi mempengaruhi sistem kekebalan spesifik yaitu dengan menginduksi sel limfosit T yang mengaktifasi sel limfosit B memproduksi antibodi spesifik dan sel memori yang berguna untuk proteksi jangka panjang.

Menyadari latar belakang di atas, maka penelitian ini bermaksud untuk menggabungkan fungsi dari vaksinasi dengan fungsi dari pemberian ekstrak kacang buncis (*Canavalia ensiformis*). Menurut Tizzard, ekstrak dari kacang buncis yang mengandung lektin, yaitu concanavalin A, yang akan merangsang pembelahan sel limfosit yang telah diketahui sebagai salah satu sel yang bertanggung jawab terhadap pertahanan tubuh. Hal ini terjadi karena lektin, sebagai salah satu protein dari tanaman, memiliki afinitas terhadap gula permukaan sel. Hal ini jelas memudahkan kerja dari sistem kekebalan tubuh karena sel limfosit T adalah pengatur sistem kekebalan tubuh. Bila pemberian ekstrak kacang buncis didahulukan sebelum diberi vaksinasi maka efek yang timbul akan sinergis.

Dalam penelitian ini, digunakan hewan percobaan mencit (*Mus musculus*). Indikasi peningkatan kekebalan tubuh ini merujuk pada perubahan berat dan tingkat kepadatan nodulus serta sel limfosit organ limpa mencit. Alasan penggunaan limpa dalam penelitian ini karena organ ini merupakan tempat deposit dari sel-sel limfosit

dan tidak mengalami atrofi organ setelah dewasa, sehingga dapat diamati pada saat umur dewasa.

I.2. Rumusan Masalah

Masalah yang diteliti dirumuskan sebagai berikut :

- a) Apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak kacang buncis (*Canavalia ensiformis*) terhadap berat organ limpa mencit (*Mus musculus*) ?
- b) Apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak kacang buncis (*Canavalia ensiformis*) terhadap tingkat kepadatan nodulus dan sel limfosit organ limpa mencit (*Mus musculus*) ?

I.3. Tujuan Penelitian

Tujuan umum.

Penelitian ini bertujuan menambah wawasan ilmu pengobatan tradisional, khususnya mengenai peningkatan kekebalan tubuh, dengan menggunakan bahan kacang buncis (*Canavalia ensiformis*). Penambahan fisiologis berat limpa dan perubahan tingkat kepadatan nodulus serta sel limfosit limpa merupakan indikasi yang digunakan dalam mengukur adanya peningkatan kekebalan tubuh.

Tujuan khusus.

1. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kacang buncis (*Canavalia ensiformis*) terhadap perubahan berat limpa mencit (*Mus musculus*).

2. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kacang buncis (*Canavalia ensiformis*) terhadap perubahan tingkat kepadatan nodulus serta sel limfosit limpa mencit (*Mus musculus*).

I.4. Landasan Teori

Landasan teori yang digunakan adalah :

- Tizzard, 1988, yang membahas mengenai cara deferensiasi antara sel T dan sel B. Salah satu cara yang digunakan adalah dengan cara memperbandingkan tanggapannya terhadap protein tertentu yang disebut lektin. Lektin yang berasal dari berbagai sumber, terutama tanaman yang mempunyai afinitas terhadap gula permukaan sel. Karena gula permukaan sel ini dapat berbeda antara sel T dan sel B, beberapa lektin hanya terikat pada sel T, yang lain hanya terikat pada sel B dan beberapa lagi terikat pada keduanya. Lektin yang terikat pada limfosit biasanya merangsangnya untuk membelah. Jadi, lektin concanavalin A, yang diekstrak dari kacang buncis (*Canavalia ensiformis*), merangsang sel T (dan beberapa sel B dalam jumlah lebih terbatas) untuk membelah.
- Min et al., 1992, yang menguraikan bahwa concanavalin A yang berasal dari kacang buncis merupakan jenis lektin yang pertama kali ditemukan. Protein tersebut terdiri dari 237 asam amino ($M_r = 26500$) dan memiliki 2 sisi logam untuk berikatan. Struktur dari rantai asam amino adalah 2 pelat antipararel beta. Salah satunya terbuat dari 7 untaian. Pelat yang lain tersusun dari 6 untaian.

Dalam tahap alami, 1 molekul concanavalin A mengikat 2 atom logam, Ca^{2+} dan Mn^{2+} . Sisi yang berikatan dengan gula permukaan sel adalah berdekatan dengan atom logam.

I.5. Hipotesis

Hipotesis nol adalah tidak terdapat perbedaan bermakna berat organ limpa dan tingkat kepadatan nodulus serta tingkat kepadatan sel limfosit pada kelompok perlakuan. Hipotesis alternatif adalah terdapat perbedaan bermakna berat organ limpa dan tingkat kepadatan nodulus serta tingkat kepadatan sel limfosit pada kelompok perlakuan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Gambaran Umum Sistem Kekebalan Tubuh

Sistem kekebalan tubuh merupakan suatu sistem yang tersusun dari beberapa sel dan molekul yang bertanggung jawab terhadap kekebalan tubuh. Sistem kekebalan tubuh ini terbagi menjadi 2 bagian besar, yaitu sistem kekebalan tubuh spesifik dan sistem kekebalan tubuh nonspesifik. Karakter dari sistem kekebalan tubuh nonspesifik adalah kapasitas yang terbatas dalam membedakan mikroba yang satu dengan lainnya dan sel-sel yang secara alami hampir sama. Komponen-komponen dasar pada sistem kekebalan nonspesifik ini adalah :

- a. Rintangan fisik dan rintangan kimia, seperti epitel dan substansi antimikrobal yang diproduksi oleh permukaan epitel tersebut.
- b. Protein darah, termasuk di dalamnya komponen sistem komplemen dan mediator peradangan lainnya.
- c. Sel fagosit (netrofil dan makrofag) dan leukosit, seperti sel NK.

Sistem kekebalan nonspesifik merupakan garis pertahanan pertama dalam melawan mikroba dan memiliki peran penting dalam menginduksi sistem kekebalan spesifik. Sistem kekebalan spesifik telah menjaga beberapa mekanisme efektor dari sistem kekebalan nonspesifik yang berfungsi untuk menghilangkan bahan-bahan asing, dan telah menambahkan di dalamnya 3 poin penting, yaitu :

- a) Respon sistem kekebalan spesifik mempertinggi mekanisme proteksi dari sistem kekebalan nonspesifik dan lebih mampu untuk menghilangkan bahan-bahan asing.
- b) Sistem kekebalan spesifik telah melapisi mekanisme relativitas dari sistem kekebalan nonspesifik dengan spesifikasi derajat yang tinggi.
- c) Sistem kekebalan spesifik mampu mengingat setiap pertemuan yang terjadi dengan mikroba atau bahan-bahan asing, sehingga setelah itu dapat merangsang peningkatan mekanisme pertahanan tubuh (Abbas et al., 1997).

Sistem kekebalan merupakan sebuah jaringan kerja antara organ limfoid primer, organ limfoid sekunder, dan produk-produk yang dihasilkannya. Organ limfoid primer terdiri dari sumsum tulang dan timus. Sumsum tulang adalah sumber yang sangat berperan dalam memproduksi eritrosit dan leukosit. Tipe sel dasar yang terkandung dalam sumsum tulang adalah pluripotent stem cell, yang merupakan nenek moyang bagi seluruh jenis darah. Dari pluripotent stem cell ini dihasilkan sel-sel blas, seperti limfoblas (sel limfosit B dan sel limfosit T), megakaryoblas (megakaryoates, platelets), monoblas (monosit), myeloblas (granulosit), dan pronormoblas (eritrosit). Timus merupakan bagian yang membangun dan mematangkan sel limfosit T yang berasal dari sumsum tulang dan mengalir melalui aliran darah. Timus adalah bagian yang paling aktif dalam mengadakan proliferasi sel limfosit. Bagian yang mematangkan sel limfosit B pada mamalia secara pasti belum banyak diketahui, tetapi diduga terjadi di sumsum tulang, khususnya sumsum merah. organ-organ limfoid sekunder terdiri dari limfonodul, limpa, MALT (Mucosal

Associated Lymfoid Tissue). Organ-organ limfoid sekunder merupakan bagian yang digunakan oleh sel limfosit T dan sel limfosit B menjalani proses deferensiasi pertahanan terhadap antigen. Organ-organ ini, seperti limfonodul, limpa, tonsil, dan Peyer's patches mengandung jaringan makrofag yang memproses antigen dan mempresentasikannya pada sirkulasi sel limfosit T dan sel limfosit B.

Mekanisme pertahanan tubuh terhadap suatu penyakit dapat diperoleh sejak lahir yang merupakan kekebalan bawaan atau merupakan kekebalan alamiah, selain itu, dikenal kekebalan perolehan yang berupa kekebalan aktif maupun pasif. (Roitt, 1985; Richard, 1986).

Kekebalan bawaan merupakan kekebalan yang dimiliki oleh individu sehat atau normal untuk mempertahankan dan melindungi diri dari mikroorganisme serta antigen yang merugikan di sekitarnya. Mekanisme kekebalan tersebut dapat dijelaskan melalui terdapatnya barrier pertahanan alami, yaitu barrier mekanik misalnya kulit. Kulit memiliki lapisan tanduk yang berfungsi sebagai pelindung tubuh, adanya keringat dan kelenjarnya yang bersifat bakterisid. Di samping itu, terdapat pula sel-sel bersilia di saluran pernafasan dan adanya selaput mukosa yang menghasilkan lendir. Sedangkan pada barrier kimia seperti zat mukopolisakarida dari sekresi hidung dan air liur yang mampu membunuh kuman. Selain itu terdapat lisosim dalam air mata yang dapat menghancurkan kuman gram negatif (Jawetz dkk, 1984; Merchant and Parker, 1971).

Kekebalan perolehan didapat setelah ada antigen yang masuk dalam tubuh dan dapat diperoleh secara aktif maupun pasif. Secara pasif merupakan kekebalan relatif

sementara terhadap suatu penyakit, yang ditimbulkan oleh pemberian antibodi terhadap penyakit tersebut. Antibodi tersebut diperoleh dari hewan yang telah sembuh dari sakit atau yang telah divaksinasi dan tidak dibuat secara aktif oleh hewan yang mendapatkan kekebalan pasif tersebut (Merchant and Parker, 1971; Talmage, 1978). Kekebalan pasif secara maternal dapat diperoleh kekebalan dari induknya melalui plasenta sewaktu masih dalam uterus atau dapat diperoleh melalui kolostrum setelah hewan lahir, atau diberi serum (Tizzard, 1988). Kekebalan aktif yang diperoleh karena sembuh dari sakit atau dengan jalan vaksinasi.

Respon sistem kekebalan spesifik diklasifikasikan menjadi 2 tipe, atas dasar komponen sistem kekebalan yang memfasilitasi respon:

- a. Kekebalan humoral yang difasilitasi oleh sel B yang bertanggung jawab terhadap pengenalan dan eliminasi antigen.
- b. Kekebalan seluler yang difasilitasi oleh sel limfosit T.

Demonstrasi eksperimental pertama kali mengenai kekebalan humoral diperkenalkan oleh Emii Von Behring dan Shibasaburo Kitasato pada tahun 1890. Mereka menunjukkan bahwa serum dari hewan yang telah sembuh dari infeksi difteri, ditransferkan pada hewan sehat, dan pada akhirnya hewan tersebut menjadi kebal terhadap infeksi difteri. Komponen aktif yang terdapat dalam serum tersebut kemudian diberi nama antitoksin, karena dapat menetralkan efek patologis toksin dari bakteri. Di awal tahun 1900, Karl Landsteiner dan peneliti lain menemukan bahwa tidak hanya toksin yang dapat menginduksi kekebalan humoral, tetapi juga bahan-bahan asing yang non mikrobial. Berbagai penelitian yang dilakukan akhirnya

menimbulkan bahwa antibodi sebagai protein serum yang memfasilitasi kekebalan humoral (Abbas et al., 1997).

Kekebalan seluler disebabkan adanya sel yang bersifat fagosit, yang bersama-sama dengan sel limfosit T mengadakan aksi, yaitu dapat menghancurkan benda asing atau agen infeksi yang masuk ke dalam tubuh serta menghancurkan sel-sel abnormal dengan bantuan beberapa kinin (Roitt, 1973).

II.2. Kacang Buncis

Kacang buncis memiliki beberapa nama lain diantaranya yaitu : jack bean, chickasaw, lima bean, brazillian broad bean, coffe bean, ensiform bean, horse bean, mole bean, go-ta-ki, overlook bean, pearson bean, watanka, dan raba de burro.

Buah dari kacang buncis mencapai panjang 10-14 inchi dan lebar 1-1,5 inchi. Biji kacang buncis besar, 0,5-0,75 inchi panjangnya. Hilum dari biji kacang buncis adalah 1/3 dari panjang biji kacang buncis. Warna biji putih dengan hilum berwarna hitam (Stephens, 1994).

Akar terdiri dari akar tunjang (dengan kedalaman 90 cm) dan berkembang akar lateral yang meluas. Batang lembut dan melilit. Daun berbentuk oval lebar. Bunga berwarna putih, merah jambu atau kuning. Buah berwarna hijau muda hingga hijau tua dan berukuran 15-20 cm.

Kandungan zat makanan setiap 100 g yang boleh dimakan adalah sebagai berikut : protein 2,3 g, karbohidrat 6,2 g, lemak 0,2 g, fiber 1,5 g, kalsium 54,0 mg, zat besi

1,8 g, fosfat 6,0 g, kalium 75,0 g, natrium 34,0 g, beta karoten 1036,0 µg, vitamin B1 0,1 mg, vitamin B2 0,2 mg, vitamin C 15,8 mg, Niacin 0,1 mg.

Taksonomi dari kacang buncis (*Canavalia ensiformis*) adalah sebagai berikut :

Superkingdom	: Eukaryota
Kingdom	: Viridiplantae
Subkingdom	: Embryophyta
Filum	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Fabales
Famili	: Fabaceae
Subfamili	: Papilionoideae
Genus	: <i>Canavalia</i>
Spesies	: <i>Canavalia ensiformis</i>

II.3. Limfosit

Kekebalan merupakan hasil reaksi dari 2 tipe sel limfosit, sel limfosit B dan sel limfosit T. Sel limfosit B dan sel limfosit T diproduksi dalam sumsum tulang. Sel limfosit T mengalami pematangan di kelenjar timus, sedangkan sel limfosit B diperkirakan mengalami pematangan di sumsum tulang. Berjuta-juta sel limfosit B bermigrasi melalui aliran darah dan sistem limfe.

Seluruh sel yang bertanggung jawab terhadap respon kekebalan secara alami dijumpai di sumsum tulang. Sel-sel tersebut diproduksi dalam proses proliferasi yang disebut haemopoesis dan timbul dari stem sel. Stem sel membagi untuk memproduksi sebuah populasi yang stabil yang berisi sel-sel serupa dan sel-sel yang memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi. Seluruh sistem tersebut diberi nama kompartemen stem sel. Tahap paling awal dalam sistem tersebut dikenal dengan nama totipotent haemopoetic stem cell (THSC), dan sel-sel yang muncul dari sel tipe ini memiliki kapasitas terbatas untuk berdiferensiasi. Satu sel berkembang menjadi sistem mieloid atau pluripotent myeloid stem cell (PMSC), sedangkan sel lain berkembang menjadi sistem limfoid. Dari sistem mieloid dihasilkan eosinofil, basofil, neutrofil, monosit, dan makrofag, sedangkan dari sistem limfoid dihasilkan sel limfosit T dan sel limfosit B.

Sel limfosit T dan sel limfosit B memiliki fungsi yang berbeda. Sel limfosit B menghasilkan antibodi yang disekresikan ke darah dan limfe. Tidak seperti limfosit B, sel limfosit T langsung menyerang sel yang memiliki antigen yang sebelumnya telah dikenali. Hal tersebut telah diperhitungkan selama masa hidup, karena akan menghadapi banyak sekali antigen dan atau bahan-bahan asing, sehingga diperlukan jumlah sel limfosit yang sama dalam mempertahankan tubuh. Sel limfosit-sel limfosit akan selalu ada dengan tipe yang berbeda-beda sesuai dengan antigen yang dihadapi. Tidak ada satu pun dari sel limfosit-sel limfosit tersebut yang akan menyerang sel tubuh sendiri. Kemungkinan untuk hal itu sangatlah jarang terjadi.

Limfosit memiliki diameter 8-10 mikrometer dan mempunyai inti yang besar dengan kepadatan dari heterokromatin. Terdapat lingkaran yang tipis dari sitoplasma yang berisi mitokondria, ribosom, dan lisosom tetapi tidak ada organel-organel yang spesial. Morfologi yang lunak tersebut tidak menunjukkan petunjuk tentang kemampuan fungsi yang hebat dari limfosit. Seperti sel darah yang lain, secara alami limfosit diproduksi di sumsum tulang. Hal ini pertama kali dibuktikan melalui percobaan dengan menginduksi sumsum tulang menggunakan sinar radiasi. Limfosit dan sel-sel dalam sumsum tulang merupakan sel-sel yang sensitif dan akan mati bila terkena sinar radiasi gamma dosis tinggi. Jika tikus dari salah satu jenis yang telah mengalami penyinaran, diinjeksi sumsum tulang dari tikus jenis lain yang tidak mengalami penyinaran, maka limfosit yang tumbuh setelah itu adalah limfosit yang berasal dari sumsum tulang donor. Berbagai pendekatan telah membuktikan kegunaan dari mengetahui proses pematangan limfosit dan sel-sel darah yang lain. Pada tahap awal dari pertumbuhannya, limfosit tidak memproduksi reseptor permukaan sel untuk antigen dan maka dari itu limfosit menjadi tidak responsif terhadap antigen. Bersamaan dengan proses pematangan, sel limfosit memproduksi reseptor permukaan untuk antigen, menjadi responsif terhadap stimulasi antigen, dan mengalami pertumbuhan menjadi kelas-kelas fungsional yang berbeda (Abbas et al., 1997).

Salah satu kelas dari limfosit adalah sel limfosit B. Diberi nama demikian karena ditemukan pertama kali di burung, tepatnya di organ bursa fabricius. Pada mamalia, tidak ada kesamaan struktur anatomi dengan bursa fabricius, dan tahap awal

pematangan sel limfosit B terjadi di sumsum tulang. Jadi, huruf "B" merujuk pada turunan dari "bursa atau bone marrow (dalam bahasa Indonesia berarti sumsum tulang)". Sel limfosit B merupakan satu-satunya sel yang memiliki kemampuan dalam menghasilkan antibodi. Reseptor antigen di sel limfosit B adalah bentuk ikatan antibodi membran. Interaksi yang terjadi antara antigen dengan molekul antibodi membran mengawali aktivasi rangkaian sel limfosit B, yang meningkat secara aktif mensekresikan molekul antibodi ke dalam tubuh (Abbas et al., 1997).

Kelas kedua dari sel limfosit adalah sel limfosit T, yang memiliki prekursor yang timbul di sumsum tulang dan migrasi serta mengalami proses pematangan di kelenjar timus (huruf "T" merujuk pada turunan dari "timus"). Sel limfosit T terbagi lagi menjadi bagian yang lebih jelas lagi fungsinya, fungsi yang paling baik adalah sel limfosit T helper dan sel limfosit T sitolitik. Fungsi yang prinsip dari sel limfosit T adalah mengatur semua respon kekebalan ke antigen protein dan melayani, seperti sel efektor, untuk mengeliminasi mikroba interseluler (Abbas et al., 1997).

Antigen merangsang sel limfosit T untuk membelah dan berdiferensiasi setelah terjadi pengikatan dengan reseptor antigen sel limfosit T. Seperti respon sel limfosit B, respon sel limfosit T diatur oleh adanya interleukin yang dikeluarkan dari makrofag dan dari sel limfosit T helper (Tizzard, 1988).

Sel limfosit T peka antigen menanggapi antigen dengan pembelahan dan akhirnya menghasilkan baik populasi sel memori maupun sel efektor. Sel efektor agak lebih besar dari sel limfosit yang tidak terstimulasi. Sel ini mampu melakukan sejumlah aktivitas yang berbeda, misalnya, dapat membuat dan mengeluarkan berbagai protein

bukan khusus antigen, protein biologi aktif yang dikenal sebagai limfokin, dapat menghasilkan faktor non imunoglobulin khusus antigen yang mempunyai aktivitas biologi kuat, dikenal sebagai transfer, dan ikut serta dalam reaksi sitotoksik langsung setelah kontak dengan sel alogenk yang menjadi sasaran (Tizzard, 1988).

II.4. Limpa

Limpa merupakan organ limfoid sekunder, dalam tubuh tumbuh dari mesoderm pada akhir masa embrional dan terus ada selama hidup. Pada embrio berfungsi sebagai organ eritropoetik sedang pada dewasa berfungsi sebagai organ limfopoetik (Roitt, 1973; Bellanti, 1985).

Contoh dari organ limfoid sekunder, termasuk limpa, simpul limfe, nodulus limfatikus pada saluran pencernaan, pernafasan, perkemihan dan saluran kelamin. Organ-organ ini kaya akan makrofag dan sel dendrit yang menangkap serta memproses antigen serta sel limfosit T dan sel limfosit B sebagai perantara reaksi kebal (Wilson dan Miles, 1964; Tizzard, 1988).

Limpa terdiri dari 2 bagian, yaitu pulpa merah yang berguna untuk menyimpan sel darah merah, penjerat antigen dan eritropoesis. Pada bagian lain di dalamnya terjadi respon kekebalan, dikenal sebagai pulpa putih (Blaustein, 1963).

Limpa banyak mengandung jaringan RES (Retikulo Endothelial System), sehingga organ tubuh ini merupakan faktor penting dalam mekanisme pertahanan tubuh. Benda-benda asing yang hidup atau mati disaring oleh limpa dari darah. Adanya benda-benda asing ini dalam limpa menimbulkan proses reaktif yang secara

makroskopis terlihat sebagai bengkak limpa. Hal ini sering terjadi pada penyakit-penyakit menular akut maupun menahun (Ressang, 1984).

Antigen yang diberikan secara intravena akan dijerat paling tidak sebagian di dalam limpa, yang diambil oleh makrofag, baik yang terdapat di zona pembatas maupun yang membatasi sinusoid pulpa merah. Sel ini membawa antigen ke folikel primer dalam pulpa putih dan dari sana sesudah beberapa hari, sel penghasil antibodi mengadakan migrasi. Sel penghasil antibodi ini menempati zona pembatas dan pulpa merah. Di daerah inilah produksi antibodi pertama kali ditemukan (Roitt, 1973).

Antigen memasuki limpa atau simpul limfe, dimulailah penjeratan limfosit, yaitu limfosit yang biasanya melewati secara bebas organ ini, terjerat sehingga tidak dapat lepas. Sifat penjeratan ini tidak jelas, tetapi mungkin proses itu terjadi akibat interaksi antara antigen dengan makrofag, menyebabkan keluarnya monokin yang mempengaruhi pergerakan limfosit (Tizzard, 1988).

II.5. Fungsi Limpa

Fungsi utama limpa adalah menyimpan darah yang tidak ikut dalam peredaran darah. Disamping itu limpa mempunyai fungsi-fungsi lain seperti pendewasaan sel-sel darah merah yang pembentukannya dilakukan pada sumsum tulang dan sel-sel RES hati dan tempat pendewasaan sel darah putih, yaitu limfosit yang ada hubungannya dengan pembentukan antibodi (Blaustein, 1963; Ressang, 1984).

Limpa berfungsi menyaring sel-sel darah. Proses penyaringan membuang partikel antigen dan sel darah yang tua. Bila antigen diberikan secara intravena akan dijerat

dan selanjutnya akan merangsang produksi antibodi, tidak hanya di limpa tetapi juga di sumsum tulang. Walaupun limpa menghasilkan jumlah antibodi terbanyak dibandingkan ukuran organnya, namun demikian sumsum tulang merupakan penghasil jumlah total sel yang berkemampuan membentuk antibodi terbanyak (Tizzard, 1988).

II.6. Concanavalin A sebagai Lektin

Concanavalin A adalah lektin yang telah diketahui dengan baik dan paling sering digunakan. Concanavalin A telah secara luas diterima oleh para ilmuwan untuk dapat mengaplikasikan beberapa teori yang biasanya digunakan untuk mengetahui terjadinya ikatan dengan gula permukaan sel dan struktur ikatan α -manose. Sejak berbagai varietas serum dan membran glikoprotein diketahui memiliki struktur inti oligosakarida, maka banyak glikoprotein dapat diujikan dan dimurnikan dengan concanavalin A dan konjugasinya. Menurut laporan, concanavalin A telah digunakan dalam studi mengenai reseptor hormon, pengujian mitogenik, karakteristik sel normal dan sel tumor, pemurnian glikoprotein, isolasi antigen virus, fraksinisasi dekstran dan mannan, studi mengenai aglutinasi sel, agregasi bakteri, penyelidikan cairan membran dan mobilitas lateral, pengujian turbidimetrik untuk gula, produksi limfokin, dan lain sebagainya.

Dalam pH netral dan basa, concanavalin A berada dalam bentuk tetramer dari 4 subunit yang identik, masing-masing 26.000 dalton. Di bawah pH 5.6, concanavalin

A memisahkan diri menjadi dimer aktif 52.000 dalton. Asetilisasi, suksinilisasi, dan proses derivatisasi yang lain dapat juga memproduksi bentuk yang stabil dengan struktur dimer.

Concanavalin A memiliki titik isoelektrik pada pH 5.6 dan membutuhkan ion kalsium dan mangan pada setiap 4 ikatan sakarida. Meskipun ion logam terikat kuat pada struktur polipeptida, buffer (contoh : fosfat) secara umum seharusnya dihindari dalam proses pencarian concanavalin A, karena terjadi penurunan kemampuan concanavalin A.

Concanavalin A, yang dapat berada dalam bentuk dimer atau tetramer tergantung pada pH, berikatan secara spesifik dengan manose (Naismith, 1994).

II.7. Concanavalin A sebagai Imunomodulator

Imunomodulator adalah suatu bahan yang dapat mempengaruhi sistem imun atau agen kimiawi yang dapat memodifikasi respon imun atau dapat memfungsikan sistem imun. Imunomodulator sendiri adalah obat yang bekerja dengan cara melakukan modulasi pada sistem imun. Pada pasien dengan defisiensi sistem imun, imunomodulator bekerja dengan cara stimulasi (imunostimulan). Sedangkan pada pasien dengan reaksi imun yang berlebihan maka imunomodulator bekerja dengan cara menekan atau menormalkannya (imunosupresan). Modulasi sistem imun dapat ditujukan pada respon imun yang spesifik maupun yang nonspesifik. Pada defisiensi imun secara umum, yang distimulasi oleh imunomodulator adalah respon imun yang spesifik. Sedangkan pada pasien yang memerlukan supresi sistem imun seperti pada

pasien alergi, autoimun, atau transplantasi, yang diperlukan adalah penekanan respon imun spesifik. Untuk mencapai hasil yang diinginkan, suatu imunomodulator harus memenuhi beberapa syarat, demikian diungkapkan Zakiudin M. Yang pertama, zat tersebut harus dapat memodifikasi respon imun pejamu bukan hanya berefek pada mikroorganisme saja. Kedua, zat tersebut harus mempunyai efek samping minimal dan bebas dari efek berbahaya. Imunomodulator yang baik juga harus bebas dari efek sensitisasi bila zat yang digunakan bersifat alergenik dan bebas dari efek inhibisi sistem imun pada pemberian jangka panjang atau berulang. Selain itu juga harus ada data yang lengkap mengenai imunofarmakologinya agar dapat digunakan sesuai indikasi. Dan akhirnya, zat ini juga sebaiknya tidak mengandung endotoksin agar dapat diteliti efek imunomodulatornya.

Concanavalin A adalah lektin yang berasal dari tanaman yang mengikat pada glikoprotein di permukaan limfosit yang dapat menyebabkan proliferasi dan aglutinasi sel limfosit. Suksinilisasi dari concanavalin A menyebabkan pergantian dari bentuk molekul tetrameric ke dimeric, memperkecil kemampuan hubungan silang. Ini menghasilkan suatu gabungan yang dapat menstimulir tapi tidak mengaglutinasi sel limfosit. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Dr.R.Morris dari Stanford University pada tahun 1991 didapatkan hasil bahwa induksi dari suksinilisasi dari concanavalin A tidak menimbulkan efek pada berat tubuh. Yang muncul dengan pemberian dosis rendah adalah peningkatan berat limpa dan timus meskipun tidak terlalu signifikan ([http : //ntp-server.niehs.nih.gov/htdocs//IT-studies/about-Immunotoxicity.html](http://ntp-server.niehs.nih.gov/htdocs//IT-studies/about-Immunotoxicity.html), 1991).

Sekitar tahun 1996 telah diadakan penelitian oleh K.D.Santos, M.Rocha, C.M.D.Wannmacher, dan M.Wajner mengenai pengaruh asam organik terhadap proliferasi sel limfosit yang telah diaktivasi oleh concanavalin A dan pokewood mitogen. Pada penelitian ini diadakan untuk memperkirakan pengaruh dari 25 asam organik, yang muncul pada konsentrasi tinggi di jaringan tubuh dari berbagai macam jenis asam organik yang ada, terhadap proliferasi sel limfosit yang distimulasi oleh concanavalin A dan pokewood mitogen. Dari hasil pengamatan, di antara 25 jenis asam organik yang diuji, asam aminoadipik (AAD), asam 2-hidroksi-3-metilvalerik (HNV), asam 2-ketoisokaproik (KIC), asam 2-metilbutirik (MBA), asam propionik (PPA) dan asam tiglik menekan secara kuat DNA sintesis dari sel limfosit yang pada biakan ditambahkan concanavalin A, sedangkan pada biakan yang ditambahkan pokewood mitogen, asam 2-ketoisovalerik (KIV) dan asam propionik (PPA) menunjukkan hasil yang sama. Hasil yang berbeda ditunjukkan oleh asam laktik (LAC) dan asam piruvik yang mengaktivasi DNA sintesis sel limfosit pada biakan yang ditambahkan concanavalin A, begitu juga pada biakan yang ditambahkan pokewood mitogen, asam laktik juga menunjukkan hal yang sama (Santos et al, 1991)

II.8. Mencit (*Mus musculus*)

Mencit liar atau mencit rumah adalah hewan semarga dengan mencit laboratorium. Hewan tersebut tersebar di seluruh dunia dan sering ditemukan di dekat atau di dalam gedung dan rumah yang dihuni manusia. Mencit juga banyak ditemukan di daerah lain yang tidak dekat manusia, asal ada makanan dan tempat

berlindung. Semua galur mencit laboratorium yang ada pada waktu ini merupakan turunan dari mencit liar sesudah melalui peternakan selektif (Mangkoewidjojo dan Smith, 1988).

Mencit laboratorium mempunyai berat badan kira-kira sama dengan mencit liar, tetapi setelah ditenakkan secara selektif selama delapan puluh tahun yang lalu, sekarang ada berbagai warna bulu dan timbul banyak galur dengan berat badan berbeda-beda (Mangkoewidjojo dan Smith, 1988). Data biologis mencit laboratorium dapat dilihat pada tabel I pada halaman berikutnya.

Tabel I. Data Biologis Mencit

Lama hidup	: 1-2 tahun, bisa sampai 3 tahun
Lama produksi ekonomis	: 9 bulan
Lama bunting	: 19-21 hari
Kawin sesudah beranak	: 1-24 jam
Umur disapih	: 21 hari
Umur dewasa	: 35 hari
Umur dikawinkan	: 8 minggu (jantan dan betina)
Siklus kelamin	: poliestrus
Siklus estrus (birahi)	: 4-5 hari
Lama estrus	: 12-14 jam
Perkawinan	: pada waktu estrus
Ovulasi	: dekat akhir periode estrus, spontan
Fertilisasi	: 2 jam sesudah kawin
Segmentasi ovum menjadi blastosel	: 2,5-4,0 hari
Implantasi	: 4-5 hari sesudah fertilisasi
Berat dewasa	: 20-40 g jantan; 18-35 g betina
Berat lahir	: 0,5-1,0 g
Jumlah anak	: rata-rata 6, bisa 15
Suhu (rektal)	: 35-39 derajat Celcius (rata-rata 37,4 derajat Celcius)
Pernapasan	: 140-180/menit
Denyut jantung	: 600-650/menit
Tekanan darah	: 130-160 sistol; 102-110 diastol
Konsumsi oksigen	: 2,38-4,48 ml/g/jam
Volume darah	: 75-80 ml/kg
Sel darah merah	: $7,7-12,5 \times 10^6/\text{mm}^3$
Sel darah putih	: $6,0-12,6 \times 10^3/\text{mm}^3$
Neutrofil	: 12-30 %
Limfosit	: 55-85 %
Monosit	: 1-12 %
Eosinofil	: 0,2-4,0 %
PCV	: 41-48 %
Trombosit	: $150-400 \times 10^3/\text{mm}^3$
Hb	: 13-16 g/100ml
Protein plasma	: 4,0-6,8 g/100 ml
ALT (SGPT)	: 21-23,8 IU/liter
AST (SGOT)	: 23,2-48,4 IU/liter
Kolesterol serum	: 26,0-82,4 mg/100 ml
Air kencing	: 25-50 ml/kg/hari
Susu	: air 75 %, lemak 10-12 %, protein 10 %, gula 3 %
Puting susu	: 10 puting, 3 pasang di dada, 2 pasang di perut
Plasenta	: diskoidal haemokorial
Uterus	: 2 kornu, bermuara sebelum serviks
Perkawinan kelompok	: 4 betina dengan 1 jantan
Kromosom	: $2n = 40$
Aktivitas	: nokturnal (malam)
Gigi	: 1003 gigi seri tumbuh terus 1003
Kecepatan tumbuh	: 1 g/hari
Imunitas pasif	: melalui usus hingga umur 17 hari, kantung kuning telur

(Mangkoewidjojo dan Smith, 1988)

BAB III
MATERI DAN METODE

BAB III

MATERI DAN METODE PENELITIAN

III.1. Alat dan Materi Penelitian

Pada penelitian ini digunakan beberapa peralatan yang dapat menunjang dan beberapa macam bahan penelitian. Adapun peralatan penelitian yang digunakan adalah :

- Ember plastik untuk kandang dengan ukuran panjang 10 cm, lebar 25 cm, dan tinggi 40 cm sejumlah 5 buah
- Kawat ram digunakan untuk penutup kandang plastik
- Tempat makan ayam sejumlah 5 buah
- Botol minum sejumlah 5 buah
- Botol ekstraksi sejumlah 4 buah
- Labu ukur 1000 ml sejumlah 1 buah
- Mikroskop cahaya pembesaran 100 dan 400
- S spuit tuberkulin 1 ml sejumlah 1 buah
- Needle ukuran 26 G sejumlah 2 buah
- Alat operasi seperti gunting operasi, pinset, dan skalpel masing-masing sejumlah 1 buah
- Gerusan

- Sarung tangan kain sejumlah 1 pasang
- Timbangan Sartorius dengan tingkat kepekaan 0,001 g untuk menimbang organ limpa
- Pot obat untuk tempat organ limpa sejumlah 30 buah

Sedangkan bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- Kacang buncis segar
- Pakan Charoen Pokphan 521 bentuk pelet
- Sekam
- Air steril untuk pelarut dalam proses ekstraksi
- Formalin 4 %
- Lisol untuk desinfektan kandang yang dilakukan 1 minggu sekali

III.2. Hewan Percobaan

Dalam melakukan penelitian ini digunakan hewan percobaan mencit (*Mus musculus*) jantan galur BALB-C umur 21 hari dengan berat badan antara 25-30 g. Jumlah mencit yang digunakan sebanyak 30 ekor.

III.3. Rancangan Penelitian

Penelitian yang mengambil judul **Pengaruh Pemberian Ekstrak Kacang Buncis (*Canavalia ensiformis*) sebagai Mitogen terhadap Perubahan Berat Limpa dan**

Tingkat Kepadatan Nodulus serta Sel Limfosit Limpa Mencit (*Mus musculus*)

menggunakan rancangan acak lengkap dengan jumlah ulangan yang sama.

III.4. Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu dan tempat penelitian dibagi menjadi 3, yaitu :

1. Perlakuan

Perlakuan selama penelitian dilaksanakan di Jl. Dukuh Kupang Utara I FX-12 Surabaya 60225 mulai tanggal 10 Desember 2001 sampai tanggal 27 Desember 2001. Perlakuan dilakukan selama 5 hari dari tanggal 10 Desember 2001 sampai tanggal 14 Desember 2001 dan akan dilihat pengaruhnya pada hari ke 18 yaitu pada tanggal 27 Desember 2001.

2. Pembedahan dan Penimbangan

Pembedahan dilaksanakan untuk mengambil organ limpa hewan percobaan yang akan diukur berat dan perubahan struktur histologi. Pembedahan dan penimbangan ini dilakukan di Laboratorium Pakan dan Nutrisi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya pada tanggal 27 Desember 2001.

3. Pembuatan Preparat Histologi

Setelah pembedahan dan penimbangan organ limpa hewan percobaan mencit dilaksanakan, maka selanjutnya dilakukan pembuatan preparat histologi agar memudahkan dalam pemeriksaan perubahan tingkat kepadatan nodulus dan

sel limfosit. Pembuatan preparat histologi dilaksanakan di Laboratorium Patologi pada tanggal 27 Desember 2001.

III.4. Metode Penelitian

Proses Pengambilan Sampel.

Proses pengambilan sampel menggunakan metode simple random sampling. Sampel sejumlah 30 ekor dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan. Tiap ekor diberi tanda sehingga memiliki peluang yang sama untuk memasuki tiap kelompok.

Status Hewan Coba.

Perlakuan dalam penelitian ini baru dilaksanakan pada saat mencit berumur 37 hari, karena mencit diadaptasikan terlebih dahulu.

Pembuatan Ekstrak.

Bahan biji kacang buncis (*Canavalia ensiformis*) sebanyak 1 g digerus. Kemudian dari gerusan tersebut ditimbang menjadi 4 bagian, yaitu : 25 mg, 50 mg, 75 mg, dan 100 mg. Setelah terbagi, masing-masing bagian dimasukkan dalam labu ukur dan ditambahkan pelarut air steril kedalamnya hingga mencapai 100 ml. Kemudian diaduk sampai homogen. Setelah homogen, dipindahkan ke dalam botol ekstraksi.

Penentuan Konsentrasi.

Pada penelitian ini digunakan 5 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor mencit (*Mus musculus*). Volume dosis ekstrak kacang buncis (*Canavalia ensiformis*) yang diberikan pada masing-masing kelompok adalah sama,

yaitu sejumlah 0,02 ml/kg BB. Sedangkan konsentrasi yang digunakan pada masing-masing kelompok berbeda, dari 25 %, 50 %, 75 %, sampai 100 %.

Persiapan Sampel.

30 ekor mencit (*Mus musculus*) diadaptasikan pada kondisi pakan yang sama selama 16 hari sebelum diberi perlakuan, kemudian dilakukan penimbangan pada masing-masing mencit. Selanjutnya dikelompokkan menjadi 5 kelompok, yaitu : kelompok I kontrol, kelompok II perlakuan, kelompok III perlakuan, kelompok IV perlakuan, dan kelompok V perlakuan. Setiap kelompok terdiri dari 6 ekor. Bahan yang digunakan dalam perlakuan adalah ekstrak kacang buncis dengan konsentrasi 0 %, 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.

Perlakuan terhadap Sampel.

Semua mencit yang dipakai sebagai hewan percobaan diberi makanan dan minuman secara ad libitum. Pakan yang digunakan dari Charoen Pokphan 521 dan digunakan Aquades untuk minuman. Adapun perlakuan untuk setiap kelompok adalah sebagai berikut :

- Kelompok I : merupakan kelompok kontrol.
- Kelompok II : merupakan kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak kacang buncis konsentrasi 25 %
- Kelompok III : merupakan kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak kacang buncis konsentrasi 50 %

- Kelompok IV : merupakan kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak kacang buncis konsentrasi 75 %
- Kelompok V : merupakan kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak kacang buncis konsentrasi 100 %

Pemberian ekstrak kacang buncis (*Canavalia ensiformis*) secara injeksi intraperitoneal. Penyuntikan dilakukan selama 5 hari, 1 kali setiap hari pada pagi hari pukul 06.00 sampai 10.00 WIB. Selama proses adaptasi sampai pembedahan, kandang dicuci dan didesinfektan dengan lisol 1 minggu sekali.

Peubah yang Diamati.

Peubah yang diamati dalam penelitian ini meliputi :

- a) Tingkat kepadatan nodulus limpa dalam setiap lapangan pandang preparat histologi limpa mencit.
- b) Tingkat kepadatan sel-sel limfosit dalam setiap lapangan pandang preparat histologi limpa mencit.
- c) Berat limpa, berdasarkan penimbangan organ limpa mencit.

Definisi operasional dari tingkat kepadatan adalah suatu nilai dalam prosentase yang menggambarkan jumlah sesuatu yang diamati. Batasan nilai dalam prosentase ditentukan sebagai berikut :

1. Tingkat Kepadatan Nodulus.

- a) Tingkat kepadatan nodulus 0 % berarti terdapat rata-rata 6-8 nodulus dalam setiap lapangan pandang dengan pembesaran 100.

- b) Tingkat kepadatan nodulus 25 % berarti terdapat rata-rata 8-10 nodulus dalam setiap lapangan pandang dengan pembesaran 100.
 - c) Tingkat kepadatan nodulus 50 % berarti terdapat rata-rata 10-12 nodulus dalam setiap lapangan pandang dengan pembesaran 100.
 - d) Tingkat kepadatan nodulus 75 % berarti terdapat rata-rata 12-14 nodulus dalam setiap lapangan pandang dengan pembesaran 100.
 - e) Tingkat kepadatan nodulus 100 % berarti terdapat rata-rata lebih dari 14 nodulus dalam setiap lapangan pandang dengan pembesaran 100.
2. **Tingkat Kepadatan Sel Limfosit**
- a) Tingkat kepadatan sel limfosit 0 % berarti terdapat rata-rata 6-8 sel dalam setiap lapangan pandang dengan pembesaran 400.
 - b) Tingkat kepadatan sel limfosit 25 % berarti terdapat rata-rata 8-10 sel dalam setiap lapangan pandang dengan pembesaran 400.
 - c) Tingkat kepadatan sel limfosit 50 % berarti terdapat rata-rata 10-12 sel dalam setiap lapangan pandang dengan pembesaran 400.
 - d) Tingkat kepadatan sel limfosit 75 % berarti terdapat rata-rata 12-14 sel dalam setiap lapangan pandang dengan pembesaran 400.
 - e) Tingkat kepadatan sel limfosit 100 % berarti terdapat rata-rata lebih dari 14 sel dalam setiap lapangan pandang dengan pembesaran 400.

Kriteria Pemeriksaan Preparat Histologi.

Pengamatan secara mikroskopis berdasarkan tingkat kepadatan. Kriteria pemeriksaan preparat histologi organ limpa adalah sebagai berikut :

1. Evaluasi I**Tabel II. Tingkat Kepadatan Nodulus 0 %, 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.**

NILAI	TINGKAT PERUBAHAN HISTOLOGI
1	Tingkat kepadatan nodulus 0 %
2	Tingkat kepadatan nodulus 25 %
3	Tingkat kepadatan nodulus 50 %
4	Tingkat kepadatan nodulus 75 %
5	Tingkat kepadatan nodulus 100 %

2. Evaluasi II**Tabel III. Tingkat Kepadatan Sel Limfosit 0 %, 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.**

NILAI	TINGKAT PERUBAHAN HISTOLOGI
1	Tingkat kepadatan sel limfosit 0 %
2	Tingkat kepadatan sel limfosit 25 %
3	Tingkat kepadatan sel limfosit 50 %
4	Tingkat kepadatan sel limfosit 75 %
5	Tingkat kepadatan sel limfosit 100 %

III.5. Analisis Data

Untuk menganalisis perubahan tingkat kepadatan nodulus dan tingkat kepadatan sel limfosit pada organ limpa digunakan uji Kruskal Wallis, bila terdapat perbedaan

yang bermakna maka selanjutnya digunakan juga uji Z (uji perbandingan berganda) untuk mengetahui apakah ada perbedaan bermakna antar perlakuan. Untuk menganalisis perubahan pada berat organ dilakukan uji Anova (Analyzis of Variance).

Kriteria penerimaan pengujian hipotesis adalah hipotesis nol diterima apabila tidak terdapat perbedaan bermakna berat organ limpa dan tingkat kepadatan nodulus serta tingkat kepadatan sel limfosit pada kelompok perlakuan. Hipotesis alternatif diterima apabila terdapat perbedaan bermakna berat organ limpa dan tingkat kepadatan nodulus serta tingkat kepadatan sel limfosit pada kelompok perlakuan.

BAB IV

HASIL PENELITIAN

BAB IV

HASIL PENELITIAN

IV.1. Peubah Berat Organ Limpa Mencit

Setelah dibedah, organ limpa diambil lalu ditimbang dengan menggunakan timbangan Sartorius yang memiliki kepekaan 0,0001 g. Adapun hasil penimbangan tersebut tercantum dalam tabel IV berikut ini :

Tabel IV. Data Berat Organ Limpa Mencit

ULANGAN	PERLAKUAN					TOTAL
	1	2	3	4	5	
1	0,0838	0,12	0,1253	0,12	0,136	
2	0,1356	0,10	0,13	0,10	0,0966	
3	0,10	0,1141	0,2138	0,1092	0,16	
4	0,17	0,1253	0,0858	0,1853	0,1448	
5	0,1040	0,1047	0,0739	0,1567	0,173	
6	0,1951	0,12	0,13	0,13	0,0962	
TOTAL	0,7885	0,6841	0,7588	0,8012	0,8066	3,8392

Data berat organ limpa tersebut kemudian dihitung dengan menggunakan uji Anova, ternyata didapat $F_{hitung} < F_{tabel}$. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kacang buncis tidak menimbulkan perbedaan yang nyata dalam berat organ limpa mencit.

IV.2. Peubah Tingkat Kepadatan Nodus

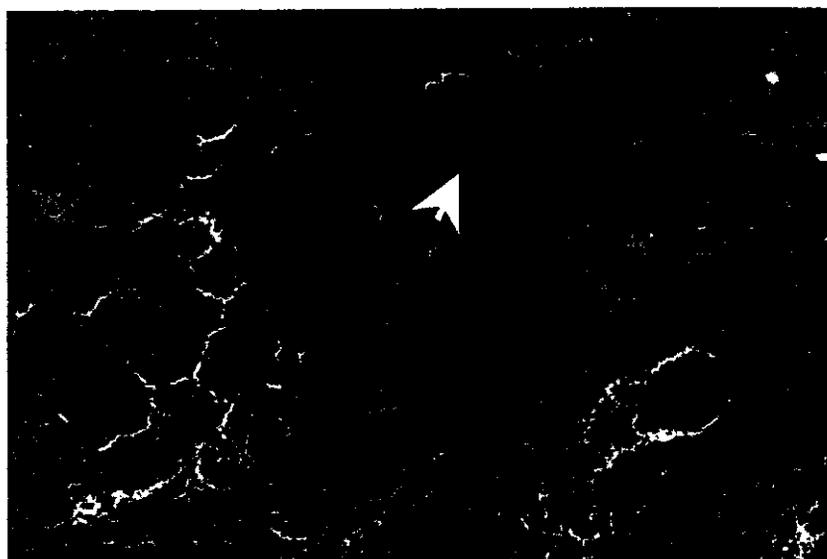
Preparat histologi yang telah dibuat, kemudian diperiksa dengan mikroskop pada pembesaran 100 x. Dari hasil pengamatan dan skoring, maka didapatkan data sebagai berikut :

Tabel V. Skoring Tingkat Kepadatan Nodus

ULANGAN	PERLAKUAN									
	1		2		3		4		5	
	NS	R	NS	R	N S	R	N S	R	N S	R
1	1	3	2	8,5	4	22,5	4	22,5	4	22,5
2	1	3	2	8,5	3	15	4	22,5	5	28,5
3	1	3	3	15	3	15	4	22,5	4	22,5
4	2	8,5	2	8,5	3	15	5	28,5	3	15
5	1	3	2	8,5	3	15	5	28,5	5	28,5
6	1	3	2	8,5	3	15	4	22,5	4	22,5
TOTAL	7	23,5	13	57,5	19	97,5	26	147	25	139,5
MEAN		3,92 ^a		9,58 ^{ab}		16,25 ^{bc}		24,5 ^c		23,25 ^c
S.D.R		2,245		2,65		3,062		3,098		4,997

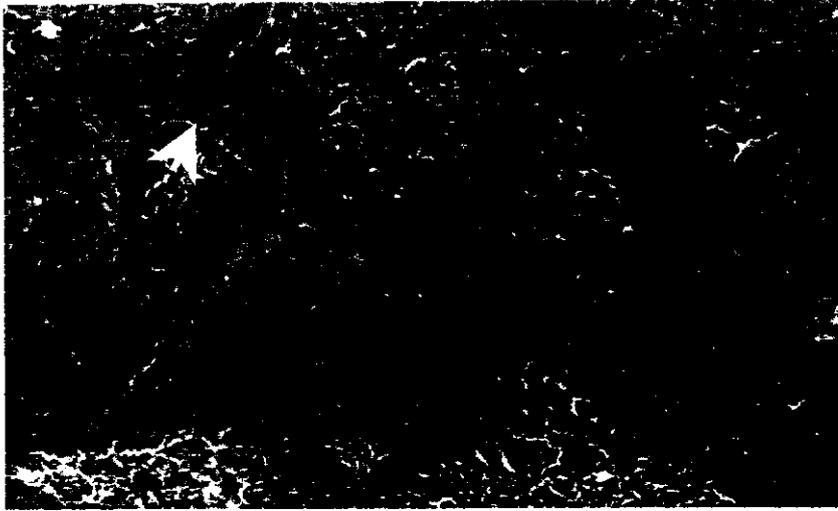
Pada tabel di atas, hasil pemeriksaan histologis terhadap tingkat kepadatan nodulus organ limpa mencit adalah sebagai berikut : nilai rata-rata kelompok perlakuan I, II, III, IV, dan V secara berturut-turut adalah $3,92 \pm 2,245$, $9,58 \pm 2,654$, $16,25 \pm 3,062$, $24,5 \pm 3,098$, dan $23,25 \pm 4,997$. Data tersebut di atas kemudian diolah dengan uji Kruskal Wallis dengan tingkat kepercayaan 0,01 dan dengan derajat bebas 4. Ternyata, dari hasil perhitungan didapat nilai $H > \text{aras } 0,01$, sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang sangat nyata dalam kelompok pada

gambaran histologi organ limpa mencit ($p < 0,01$). Pada gambar histologi di bawah ini menunjukkan perbedaan secara mikroskopis pada sediaan organ limpa mencit.



Gambar 1. Tingkat Kepadatan Nodulus 0 %

Tampak pada gambar, bahwa tingkat kepadatan nodulus pada kelompok kontrol masih tinggi atau jumlah nodulus sedikit. Tanda panah menunjukkan nodulus limpa yang banyak mengandung sel limfosit B (Tizzard, 1988). Jika dibandingkan dengan gambar preparat histologi dari kelompok perlakuan, maka akan tampak sekali perbedaannya. Pada gambar 2 akan tampak bahwa dengan tingkat kepadatan nodulus 75 % terlihat jumlah nodulus yang meningkat. Tanda panah pada gambar menunjukkan nodulus limpa mencit.



Gambar 2. Tingkat Kepadatan Nodulus 75 %

Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang nyata antar kelompok perlakuan, pengujian dilanjutkan dengan uji Z yang menggunakan tingkat kesalahan sebesar 0,20 (lihat lampiran 7). Dari hasil perhitungan diperoleh bahwa antara kelompok I dan kelompok II tidak terdapat perbedaan yang nyata ($[R_i - R_j] < 11,569$). Antara kelompok I dan kelompok III diperoleh hasil perbandingan yang nyata ($[R_i - R_j] > 11,569$). Antara kelompok I dan kelompok IV didapatkan hasil perbandingan yang nyata ($[R_i - R_j] > 11,569$). Antara kelompok I dan kelompok IV didapatkan hasil perbandingan yang nyata ($[R_i - R_j] > 11,569$). Antara kelompok II dan kelompok III didapatkan hasil perbandingan yang tidak nyata ($[R_i - R_j] < 11,569$). Antara kelompok II dan kelompok IV diperoleh hasil perbandingan yang nyata ($[R_i - R_j] > 11,569$). Antara kelompok II dan kelompok V diperoleh hasil perbandingan yang nyata ($[R_i -$

Rj] > 11,569). Antara kelompok III dan kelompok IV didapatkan hasil perbandingan yang tidak nyata ([Ri-Rj] < 11,569). Antara kelompok III dan kelompok V didapatkan hasil perbandingan yang tidak nyata ([Ri-Rj] < 11,569). Antara kelompok IV dan kelompok V didapatkan hasil perbandingan yang tidak nyata ([Ri-Rj] < 11,569).

IV.3. Peubah Tingkat Kepadatan Sel Limfosit

Preparat histologi yang telah dibuat, kemudian diperiksa dengan menggunakan mikroskop pada pembesaran 400 x. Dari hasil pengamatan dan skoring, maka didapatkan data sebagai berikut :

Tabel VI. Skoring Tingkat Kepadatan Sel Limfosit

ULANGAN	PERLAKUAN									
	1		2		3		4		5	
	NS	R	NS	R	NS	R	NS	R	NS	R
1	1	3,5	2	10	2	10	4	24	4	24
2	1	3,5	2	10	3	16	4	24	4	24
3	1	3,5	2	10	3	16	4	24	4	24
4	1	3,5	2	10	3	16	4	24	5	30
5	1	3,5	2	10	3	16	4	24	4	24
6	1	3,5	2	10	3	16	4	24	4	24
TOTAL	6	21	12	60	17	90	24	144	25	150
MEAN		3,5 ^a		10 ^{ab}		15 ^{bc}		24 ^c		25 ^c
S.D.R		0		0		2,449		0		2,449

Pada tabel di atas, hasil pemeriksaan histologis tingkat kepadatan sel limfosit organ limpa mencit adalah sebagai berikut : nilai rata-rata perlakuan I, II, III, IV, dan

V secara berturut-turut $3,5 \pm 0$, 10 ± 0 , $15 \pm 2,449$, 24 ± 0 , dan $25 \pm 2,449$. Dari data tersebut di atas, maka kemudian diolah dengan menggunakan uji Kruskal Wallis dengan tingkat kepercayaan 0,01 dan derajat bebas 4. Ternyata, didapatkan nilai $H >$ aras 0,01, sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang sangat nyata dalam kelompok pada gambaran histologi organ limpa mencit ($p < 0,01$). Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang nyata antar kelompok perlakuan, pengujian dilanjutkan dengan uji Z yang menggunakan tingkat kesalahan sebesar 0,20 (lihat lampiran 8). Dari hasil perhitungan didapatkan bahwa antara kelompok I dan kelompok II tidak terdapat perbedaan yang nyata ($[R_i-R_j] < 11,398$). Antara kelompok I dan kelompok III terdapat perbedaan yang nyata ($[R_i-R_j] > 11,398$). Antara kelompok I dan IV terdapat perbedaan yang nyata ($[R_i-R_j] > 11,398$). Antara kelompok I dan kelompok V terdapat perbedaan yang nyata ($[R_i-R_j] > 11,398$). Antara kelompok II dan kelompok III tidak terdapat perbedaan yang nyata ($[R_i-R_j] < 11,398$). Antara kelompok II dan kelompok IV terdapat perbedaan yang nyata ($[R_i-R_j] > 11,398$). Antara kelompok II dan kelompok V terdapat perbedaan yang nyata ($[R_i-R_j] > 11,398$). Antara kelompok III dan kelompok IV tidak terdapat perbedaan yang nyata ($[R_i-R_j] > 11,398$). Antara kelompok III dan kelompok V tidak terdapat perbedaan yang nyata ($[R_i-R_j] > 11,398$). Antara kelompok IV dan kelompok V tidak terdapat perbedaan yang nyata ($[R_i-R_j] > 11,398$).

BAB V
PEMBAHASAN

BAB V

PEMBAHASAN

V.1. Berat Organ Limpa Mencit

Pada penelitian ini, ekstrak kacang buncis yang diberikan pada kelompok II, III, IV, dan V, tidak cukup untuk membuat perubahan berat pada organ limpa mencit bila dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini dikarenakan setiap individu berbeda dalam metabolisme tubuhnya. Metabolisme tubuh diatur oleh beberapa faktor, salah satunya adalah hormon. Hormon adalah pembawa pesan kimiawi yang disekresi oleh berbagai kelenjar endokrin dan diangkat oleh darah menuju jaringan atau organ lain, tempat hormon melakukan rangsangan atau hambatan beberapa aktivitas metabolik spesifik (Lehninger, 1991).

Mekanisme kerja sistem endokrin dikendalikan oleh hipotalamus, yaitu suatu organ tubuh yang terletak di bawah otak sebesar biji kacang yang mempunyai sistem saraf tertentu. Hipotalamus mempengaruhi kelenjar pituitari atau hipofisa yang dapat mengeluarkan beberapa macam hormon. Sebagian dari hormon tersebut dapat merangsang kelenjar lain untuk mengeluarkan hormon tertentu. Adanya rangsangan dari luar maupun dari dalam menyebabkan kelenjar endokrin memproduksi dan mengeluarkan hormon ke dalam plasma darah. Setelah sampai pada sel yang menjadi tujuan, hormon bergabung dengan reseptor dan meningkatkan aktivitas adenilsiklase yang terdapat pada membran (Poedjiadi, 1994). Salah satu hormon yang dihasilkan

kelenjar hipofisa akibat pengaruh hormon dari kelenjar hipotalamus adalah Growth Hormone (GH). GH adalah hormon yang bertanggung jawab terhadap fungsi metabolisme dalam tubuh. Hal-hal yang meningkatkan GH plasma adalah :

- a) Tidur
- b) Stres (rasa sakit, cemas, dingin, operasi)
- c) Estrogen, dopamin, α adrenergik, serotonin, hormon pencernaan, dan glukagon
- d) Faktor yang menurunkan penyediaan glukosa pada pusat pengendali di hipotalamus, misalnya :
 - Puasa
 - Hipoglikemia pada insulin tolerance test
 - Pemberian 2 deoksi glukosa yang akan menghambat glikolisis dan membuat glukosa tidak dapat dipakai meskipun kadar glukosa darah meningkat.
- e) Pemasukan protein dan asam amino. Peningkatan asam amino menyebabkan sekresi GH, yang digunakan untuk mempermudah pengambilan asam amino.
- f) Malnutrisi dengan kwashiorkor

Di samping itu, juga terdapat hormon tiotropin yang diberikan oleh kelenjar adenohipofisa yang berfungsi untuk meningkatkan aktivitas metabolisme pada umumnya, misalnya : sintesis protein, sintesis RNA, sintesis fosfolipid, oksidasi glukosa, penggunaan oksigen (Soetowo, 1998).

V.2. Tingkat Kepadatan Nodus

Pulpa putih limpa berperan dalam terjadinya reaksi tanggap kebal baik seluler maupun humoral (Tizzard, 1988), bahkan Brown dkk (1953), yang dikutip oleh Tizzard (1988), menambahkan bahwa awal respon kekebalan humoral ditandai oleh aktivitas limfoblas di daerah perifer pulpa putih.

Limfosit T yang ditemukan dalam selubung periarterial pulpa putih tersebut berproliferasi dan masuk ke dalam aliran darah. Pada pemeriksaan radioautograf dengan antigen berlabel yang disuntikkan ke dalam aliran darah menunjukkan bahwa antigen terutama ditahan oleh permukaan sel-sel yang terdapat dalam nodulus-nodus dan daerah tepi.

Pada penelitian ini, ditemukan adanya perubahan tingkat kepadatan nodulus yang nyata dalam kelompok. Dengan dosis 0,02 mg/kg bb dan konsentrasi 75 % ekstrak kacang buncis merupakan konsentrasi yang relatif paling tinggi dalam menimbulkan tingkat kepadatan nodulus 75 %.

Karena rangsangan antigen, limfosit-limfosit B mengalami proliferasi dan menghasilkan sel-sel plasma yang memproduksi antibodi (Jounqueira dan Carniero, 1988). Tizzard (1988) menambahkan bahwa folikel primer yang sebagian besar tersusun oleh limfosit B akan membentuk pusat perkecambahan (germinal centre). Aktivasi sel limfosit B diawali di zona marginal, yang berdekatan dengan sel T helper di selubung limfoid. Sel limfosit B yang teraktivasi kemudian bermigrasi ke dalam pusat perkecambahan atau dalam pulpa merah (Abbas et al., 1997).

V.3. Tingkat Kepadatan Sel Limfosit

Pada hasil penelitian tampak bahwa dengan dosis 0,02 mg/kg bb dan konsentrasi 75 % ekstrak kacang buncis merupakan konsentrasi yang relatif tinggi yang dapat menimbulkan tingkat kepadatan sel 75 %.

Salah satu kriteria sel limfosit T adalah respon terhadap substansi mitogenik. Substansi ini didapatkan dari phytohaemagglutinin (PHA) dari kacang koro dan concanavalin A dari kacang buncis (*Canavalia ensiformis*) (Outteridge, 1988).

Efek yang ditimbulkan adalah proliferasi sel limfosit. Hal ini pernah dibuktikan oleh A.M.Sapozhnikov (1991) yang menggunakan concanavalin A untuk menginduksi proliferasi sel limfosit. Metode ini digunakan untuk menyelidiki pengaruh serum anak sapi terhadap sel limfosit yang telah distimulasi oleh concanavalin A pada siklus sel awal dan selanjutnya. Dan ternyata, sel limfosit yang diberi concanavalin A mampu untuk berkembang melalui siklus awal sel.

Proses adaptasi I pada penelitian ini berguna untuk menunggu sampai mencit mencapai dewasa. Mencit pada saat dewasa, limfosit yang immature (limfoblas) akan berubah menjadi limfosit yang mature. Perubahan limfoblas menjadi limfosit ini penting, karena pada limfosit immature belum memiliki reseptor permukaan sel sehingga bila ekstrak kacang buncis diberikan pada saat mencit masih muda maka tidak akan responsif. Namun, bila telah berubah menjadi limfosit yang mature, maka sel sudah memiliki reseptor permukaan sel (Abbas et al., 1997).

Proses adaptasi II pada penelitian ini dilakukan setelah perlakuan selesai. Adaptasi ini berguna untuk menunjukkan bahwa proliferasi benar-benar terjadi di seluruh tubuh. Limfosit yang sudah ada dalam organ limfoid sekunder tidak tinggal di sana, tetapi bergerak dari organ limfoid sekunder atau rongga-rongga organ dan kelenjar limfe. Resirkulasi tersebut terjadi terus-menerus. Keuntungan dari resirkulasi limfosit tersebut ialah bahwa sewaktu terjadi infeksi alamiah, dan banyak limfosit berpapasan dengan antigen asal mikroorganisme. Keuntungan lain dari resirkulasi limfosit ialah bahwa bila ada organ limfoid misalnya limpa yang defisit limfosit karena infeksi, radiasi, atau trauma, limfosit dari jaringan limfoid lainnya melalui sirkulasi akan dapat dikerahkan ke dalam organ limfoid tersebut dengan mudah (Wiedosari, 1999). Berarti ini menunjukkan bahwa secara umum, limfosit berproliferasi, karena dalam penelitian ini didapatkan perbedaan yang nyata antara kelompok I dan II dengan kelompok III, IV, dan V.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

VII.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan yaitu :

1. Penggunaan ekstrak kacang buncis (*Canavalia ensiformis*) pada mencit (*Mus musculus*) jantan galur BALB-C dengan volume 0,02 ml/kg bb dan konsentrasi 0 %, 25 %, 50 %, 75 %, 100 % tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap berat organ limpa mencit.
2. Penggunaan ekstrak kacang buncis (*Canavalia ensiformis*) pada mencit (*Mus musculus*) jantan galur BALB-C dengan volume 0,02 ml/kg bb dan konsentrasi 0 %, 25 %, 50 %, 75 %, 100 % memberikan pengaruh yang nyata terhadap tingkat kepadatan nodulus organ limpa mencit.
3. Penggunaan ekstrak kacang buncis (*Canavalia ensiformis*) pada mencit (*Mus musculus*) jantan galur BALB-C dengan volume 0,02 ml/kg bb dan konsentrasi 0 %, 25 %, 50 %, 75 %, 100 % memberikan pengaruh yang nyata terhadap tingkat kepadatan sel limfosit organ limpa mencit.

VII.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang konsentrasi yang paling aman dari ekstrak kacang buncis dalam menimbulkan perubahan tingkat kepadatan nodulus dan

tingkat kepadatan sel limfosit sehingga dapat digunakan untuk meningkatkan proses kekebalan tubuh.

Perlu diteliti juga mengenai efek sinergis yang ditimbulkan oleh ekstrak kacang buncis (*Concanavalin A*) dan vaksinasi dengan dipaparkan terhadap suatu penyakit virus tertentu.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K., Lichtman, A.H., and Pober, J.S. 1997. Cellular and Molecular Immunology. Third Edition. Section I. Hal 3-33. W.B. Saunders Company. Philadelphia, London, Toronto, Mexico City, Rio de Jaeniro, Sidney, Tokyo, Hongkong.
- Arifin, E.Z. 1987. Penulisan Karangan Ilmiah dengan Bahasa Indonesia yang Benar. Edisi Pertama. PT.MEDYATAMA SARANA PERKASA. Jakarta.
- Balustein, A.1963. The Spleen. The Blakiston Division MC Graw. Hill Book Company I.N.C. New York.
- Bardocz, S. 1996. Arch Latinoam Nutr. 44 (4 suppl 1) : 165-205. Rowett Research Institute. Aberdeen. Scotland. UK.
- Bellanti, J.A. 1985. Immunology III. Igaku-Shoin/Saunders Company. Philadelphia, London, Toronto, Mexico City, Rio de Jaeniro, Sidney, Tokyo.
- Bendryman, S.S. 1999. Teknik Penulisan Usulan dan Hasil Penelitian. Disampaikan pada Pendidikan dan Latihan Penelitian Ilmiah Mahasiswa. Senat Mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Coles, E.H. 1986. Veterinary Clinical Pathology 4th Ed. W.B.Saunders Company. Philadelphia, London, Toronto, Mexico City, Rio de Jaeniro, Sidney, Tokyo, Hongkong.
- Daniel, W.W. 1989. Statistik Nonparametrik Terapan. PT. Gramedia. Jakarta.
- Duke, J.A. 1983. *Phaseolus vulgaris L.* Handbook of Energy Crops.
- _____. 1992. Foodborne Pathogenic Microorganism and Natural Toxins Handbook. Phytohaemagglutinin. US Food and Drug Administration.
- Hartadi, A. 1990. "Pengaruh Pemberian Isoprinosin sebagai Imunomodulator dan Infeksi Kuman *Streptococcus faecalis* terhadap Berat Limpa Mencit". Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Ismail. 1996. "Pengaruh Pemberian Suramin dan Isometamidin Chloride terhadap Gambaran Histopatologis Limpa Tikus Putih yang Diinfeksi T.Evansi Isolat Banyuwangi". Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.

- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A. 1984. Review of Medical Microbiology. 15th Ed Lange Medical Publication. Oxford, London.
- Lehninger, A.L. 1982. Principles of Biochemistry. Dr.Ir.Maggy Thenawidjaja (Penerjemah). 1991. Dasar-dasar Biokimia. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Mangkoewidjojo, S., Smith, J.B. 1988. Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Universitas Indonesia press. Jakarta.
- Merchant, I.A. and Packer, B.A. 1971. Veterinary Bacteriology and Virology. 7th Ed. The Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA.
- Outteridge, P.M. 1988. Veterinary Immunology. Academic Press, Inc. San Diego.
- Pelczar, M.J., Chan, E.C.S., Pelczar, M.F. Dalam, H.O., Imas, T., Tjitrosom, S.S., Angka, S.L. 1988. Dasar-dasar Mikrobiologi 2. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Poedjiadi, A. 1994. Dasar-dasar Biokimia. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Pusztai, A. 1993. Eur J Clin Nutr. 47 (10) : 691-699. Rowett Research Institute. Bucksburn. Aberdeen. UK.
- Ressang, A.A. 1984. Patologi Khusus Veteriner. Edisi II. NV Percetakan. Bali.
- Richard, D.M.C., Sorkin, E.M. and Hell, R.C. 1986. Isoprinosine (immunomodulator)-Drug Evaluation. Newport Pharmaceutical International, INC. California, USA.
- Rochiman, K. 1990. Rancangan Percobaan. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Roitt, I.M. 1973. Essential Immunology. Fourth Printing Blackwell Scientific Publication. London.
- Roitt, I.M., Brostoff, I., Male, D.K. 1985. Immunology. Gower Medical Publishing. London.
- Scheffler, W.C. 1979. Statistic for The Biological Sciences. Suroso (Penerjemah). Statistik untuk Biologi, Farmasi, Kedokteran, dan Ilmu yang Bertautan. 1987. Penerbit ITB. Bandung.
- Talmage, D.W. 1978. Basic Immunology. W.B.Saunders Company. Philadelphia, London, Toronto.

- Tizzard, I. 1988. Pengantar Immunologi Veteriner. Edisi II. Airlangga University Press. Surabaya.
- Walpole, R.E., Myers, Raymond, H. 1978. Probability and Statistic for Engineers and Scientists. R.K.Sembiring (Penerjemah). Ilmu Peluang dan Statistik untuk Insinyur dan Ilmuwan. 1986. Penerbit ITB. Bandung.
- Wilson, G.S., Miles, A.A. 1964. Principles of Bacteriology and Immunity. 5th Ed. Edward Arnold (Publishers) Ltd. London.

LAMPIRAN

LAMPIRAN I**Tabel VII. Berat Hidup Mencit (*Mus musculus*) Sebelum Perlakuan**

Perlakuan/ Ulangan	P0	P1	P2	P3	P4
1	20 g	20 g	30 g	20 g	10 g
2	20 g	20 g	20 g	20 g	15 g
3	10 g	25 g	20 g	20 g	20 g
4	25 g	30 g	30 g	20 g	20 g
5	20 g	25 g	25 g	20 g	25 g
6	20 g	20 g	25 g	20 g	20 g

Tabel VIII. Berat Hidup Mencit (*Mus musculus*) Sesudah Perlakuan

Perlakuan/ Ulangan	P0	P1	P2	P3	P4
1	25 g	25 g	25 g	25 g	30 g
2	25 g	30 g	30 g	30 g	20 g
3	15 g	25 g	25 g	30 g	30 g
4	30 g	30 g	30 g	25 g	30 g
5	20 g	30 g	25 g	25 g	30 g
6	25 g	20 g	25 g	25 g	20 g

LAMPIRAN II

Tabel IX.

Tingkat Kepadatan Nodus Limpa dan Skor Histologi Selama Perlakuan

PERLAKUAN/ ULANGAN		TINGKAT PERUBAHAN					SKOR
		A	B	C	D	E	
I	1	+	-	-	-	-	1
	2	+	-	-	-	-	1
	3	+	-	-	-	-	1
	4	-	+	-	-	-	2
	5	+	-	-	-	-	1
	6	+	-	-	-	-	1
II	1	-	+	-	-	-	2
	2	-	+	-	-	-	2
	3	-	-	+	-	-	3
	4	-	+	-	-	-	2
	5	-	+	-	-	-	2
	6	-	+	-	-	-	2
III	1	-	-	-	+	-	4
	2	-	-	+	-	-	3
	3	-	-	+	-	-	3
	4	-	-	+	-	-	3
	5	-	-	+	-	-	3
	6	-	-	+	-	-	3
IV	1	-	-	-	+	-	4
	2	-	-	-	+	-	4
	3	-	-	-	+	-	4
	4	-	-	-	-	+	5
	5	-	-	-	-	+	5
	6	-	-	-	+	-	4
V	1	-	-	-	+	-	4
	2	-	-	-	-	+	5
	3	-	-	-	+	-	4
	4	-	-	+	-	-	3
	5	-	-	-	-	+	5
	6	-	-	-	+	-	4

- A = Tingkat Kepadatan Nodulus Limpa 0 %
- B = Tingkat Kepadatan Nodulus Limpa 25 %
- C = Tingkat Kepadatan Nodulus Limpa 50 %
- D = Tingkat Kepadatan Nodulus Limpa 75 %
- E = Tingkat Kepadatan Nodulus Limpa 100 %

- + = Terdapat efek
- = Tidak terdapat efek

LAMPIRAN III**Tabel X.****Tingkat Kepadatan Sel Limfosit Limpa dan Skor Histologi Selama Perlakuan**

PERLAKUAN/ ULANGAN		TINGKAT PERUBAHAN					SKOR
		A	B	C	D	E	
I	1	+	-	-	-	-	1
	2	+	-	-	-	-	1
	3	+	-	-	-	-	1
	4	+	-	-	-	-	1
	5	+	-	-	-	-	1
	6	+	-	-	-	-	1
II	1	-	+	-	-	-	2
	2	-	+	-	-	-	2
	3	-	+	-	-	-	2
	4	-	+	-	-	-	2
	5	-	+	-	-	-	2
	6	-	+	-	-	-	2
III	1	-	+	-	-	-	2
	2	-	-	+	-	-	3
	3	-	-	+	-	-	3
	4	-	-	+	-	-	3
	5	-	-	+	-	-	3
	6	-	-	+	-	-	3
IV	1	-	-	-	+	-	4
	2	-	-	-	+	-	4
	3	-	-	-	+	-	4
	4	-	-	-	+	-	4
	5	-	-	-	+	-	4
	6	-	-	-	+	-	4
V	1	-	-	-	+	-	4
	2	-	-	-	+	-	4
	3	-	-	-	+	-	4
	4	-	-	-	-	+	5
	5	-	-	-	+	-	4
	6	-	-	-	+	-	4

- A = Tingkat Kepadatan Sel Limfosit 0 %
- B = Tingkat Kepadatan Sel Limfosit 25 %
- C = Tingkat Kepadatan Sel Limfosit 50 %
- D = Tingkat Kepadatan Sel Limfosit 75 %
- E = Tingkat Kepadatan Sel Limfosit 100 %

- + = Terdapat efek
- = Tidak terdapat efek

LAMPIRAN IV**Perhitungan dengan Anova****Data Berat Organ Limpa Mencit**

ULANGAN	PERLAKUAN					TOTAL
	1	2	3	4	5	
1	0,0838	0,12	0,1253	0,12	0,136	
2	0,1356	0,10	0,13	0,10	0,0966	
3	0,10	0,1141	0,2138	0,1092	0,16	
4	0,17	0,1253	0,0858	0,1853	0,1448	
5	0,1040	0,1047	0,0739	0,1567	0,173	
6	0,1951	0,12	0,13	0,13	0,0962	
TOTAL	0,7885	0,6841	0,7588	0,8012	0,8066	3,8392

Jumlah Kuadrat

$$\begin{aligned}
 JKT &= \{(0,0838)^2 + (0,12)^2 + (0,1253)^2 + (0,12)^2 + (0,1356)^2 + (0,10)^2 + (0,13)^2 + \\
 &\quad (0,10)^2 + (0,0966)^2 + (0,10)^2 + (0,1141)^2 + (0,2138)^2 + (0,1092)^2 + (0,16)^2 + \\
 &\quad (0,17)^2 + (0,1253)^2 + (0,0858)^2 + (0,1853)^2 + (0,1448)^2 + (0,1040)^2 + \\
 &\quad (0,1047)^2 + (0,0739)^2 + (0,1567)^2 + (0,173)^2 + (0,1951)^2 + (0,12)^2 + (0,13)^2 + \\
 &\quad (0,13)^2 + (0,0962)^2\} - \frac{(3,8392)^2}{6 \times 5} \\
 &= 0,52539784 - 0,491315221 \\
 &= 0,034082619
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JKP &= \left\{ \frac{(0,7885)^2 + (0,6841)^2 + (0,7588)^2 + (0,8012)^2 + (0,8066)^2}{6} \right\} - \frac{(3,8392)^2}{30} \\
 &= 0,493004583 - 0,491315221 \\
 &= 0,0016893623
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JKS &= 0,034082619 - 0,0016893623 \\
 &= 0,032393256
 \end{aligned}$$

Kuadrat Tengah

$$KTP = \frac{0,0016893623}{(5-1)} = 0,0004223$$

$$KTS = \frac{0,032393256}{5(6-1)} = 0,0012957302$$

$$F_{hitung} = \frac{0,0004223}{0,0012957302} = 0,326$$

Anova

SK	db	JK	KT	F _{hitung}	F _{tabel}	
					0,05	0,01
Perlakuan	4	0,0016893623	0,0004223	0,326	2,76	4,18
Sisa	25	0,032393256	0,0012957302			
Total	29	0,034082618				

$F_{hitung} < F_{tabel}$, maka tidak terdapat pengaruh yang berarti terhadap berat organ limpa mencit akibat perlakuan pemberian ekstrak kacang buncis dengan dosis 0,02 mg/kg bb dan konsentrasi 0 %, 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.

LAMPIRAN V**Uji Kruskal Wallis****Perhitungan Statistik Tingkat Kepadatan Nodus Limpa**

Jumlah	A	B	C	D	E
n	6	6	6	6	6
Rank	23,5	57,5	97,5	147	139,5

$$\begin{aligned}
 H &= \frac{12}{n_T (n_T + 1)} \left[\frac{Ra^2}{n_a} + \frac{Rb^2}{n_b} + \frac{Rc^2}{n_c} + \frac{Rd^2}{n_d} + \frac{Re^2}{n_e} \right] - 3 (n_T + 1) \\
 &= 0,012903225 \left[\frac{552,25 + 3306,25 + 9506,25 + 21069 + 19460,25}{6} \right] - 93 \\
 &= 24,062
 \end{aligned}$$

derajat bebas $5-1 = 4$. Nilai $H >$ aras $0,01$, maka terdapat perbedaan yang sangat nyata pada gambaran histologi dengan adanya tingkat kepadatan nodulus organ limpa mencit dalam kelompok perlakuan.

Faktor Pembetulan

$$\begin{aligned}
 \text{Seri} &= E (m^3 - m) \\
 &= (5^3 - 5) + (6^3 - 6) + (7^3 - 7) + (8^3 - 8) + (4^3 - 4) \\
 &= 1230
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 CF &= 1 - \frac{\text{seri}}{n_T^3 - n_T} \\
 &= 1 - \frac{1230}{26970} \\
 &= 0,954
 \end{aligned}$$

$$\text{Nilai H yang dibetulkan} = \frac{H}{CF} = \frac{24,062}{0,954} = 25,212$$

LAMPIRAN VI**Uji Kruskal Wallis****Perhitungan Statistik Tingkat Kepadatan Sel Limfosit**

Jumlah	A	B	C	D	E
n	6	6	6	6	6
Rank	21	60	90	144	150

$$\begin{aligned}
 H &= \frac{12}{n_T(n_T + 1)} \left[\frac{Ra^2}{n_a} + \frac{Rb^2}{n_b} + \frac{Rc^2}{n_c} + \frac{Rd^2}{n_d} + \frac{Re^2}{n_e} \right] - 3(n_T + 1) \\
 &= 0,012903225 \left[\frac{441 + 3600 + 8100 + 20736 + 22500}{6} - 93 \right] \\
 &= 26,090
 \end{aligned}$$

derajat bebas $5-1 = 4$. Nilai $H >$ aras $0,01$, maka terdapat perbedaan yang sangat nyata pada gambaran histologi dengan adanya perubahan tingkat kepadatan sel limfosit organ limpa mencit dalam kelompok perlakuan.

Faktor Pembetulan

$$\begin{aligned}
 \text{Seri} &= E(m^3 - m) \\
 &= (6^3 - 6) + (7^3 - 7) + (5^3 - 5) + (11^3 - 11) \\
 &= 1986
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{CF} &= 1 - \frac{\text{seri}}{n_T^3 - n_T} \\
 &= 1 - \frac{1986}{26970} \\
 &= 0,926
 \end{aligned}$$

$$\text{Nilai H yang dibetulkan} = \frac{H}{\text{CF}} = \frac{26,090}{0,926} = 28,175$$

LAMPIRAN VII**Uji Pasangan Berganda (Uji Z) Tingkat Kepadatan Nodulus Limpa**

$$|R_i - R_j| \leq Z \sqrt{\frac{k [N(N^2 - 1) - (t^3 - t)]}{6 N(N - 1)}}$$

Tingkat kesalahan sebesar 0,20.

Banyak perlakuan = 5, maka banyak perbandingan = 10 perbandingan

$$Z_{hitung} = 1 - \frac{\alpha}{k(k-1)} = 1 - \frac{0,20}{5(5-1)} = 0,99$$

$$= 0,99 - 0,5 = 0,49$$

$$Z_{tabel} = 2,33$$

Untuk membandingkan kelompok perlakuan I dan kelompok perlakuan II :

$$2,33 \sqrt{\frac{5 [30(30^2 - 1)] - 1230}{6 \times 30 (30 - 1)}} = 11,569$$

karena $|3,92 - 9,58| = 5,66 < 11,569$, maka perbandingan ini tidak berbeda nyata

Untuk membandingkan kelompok perlakuan I dan kelompok perlakuan III :

$$2,33 \sqrt{\frac{5 [30(30^2 - 1)] - 1230}{6 \times 30 (30 - 1)}} = 11,569$$

karena $|3,92 - 16,25| = 12,33 > 11,569$, maka perbandingan ini berbeda nyata.

Untuk membandingkan kelompok perlakuan I dan kelompok perlakuan IV :

$$2,33 \sqrt{\frac{5 [30(30^2 - 1)] - 1230}{6 \times 30 (30 - 1)}} = 11,569$$

karena $|3,92 - 24,5| = 20,58 > 11,569$, maka perbandingan ini berbeda nyata

Untuk membandingkan kelompok perlakuan I dan kelompok perlakuan V :

$$2,33 \sqrt{\frac{5 [30(30^2 - 1)] - 1230}{6 \times 30 (30 - 1)}} = 11,569$$

karena $|3,92 - 23,5| = 19,33 > 11,569$, perbandingan ini berbeda nyata.

Untuk membandingkan kelompok perlakuan II dan kelompok perlakuan III :

$$2,33 \sqrt{\frac{5 [30(30^2 - 1)] - 1230}{6 \times 30 (30 - 1)}} = 11,569$$

karena $|9,58 - 16,25| = 6,67 < 11,569$, perbandingan ini tidak berbeda nyata.

Untuk membandingkan kelompok perlakuan II dan kelompok perlakuan IV :

$$2,33 \sqrt{\frac{5 [30(30^2 - 1)] - 1230}{6 \times 30 (30 - 1)}} = 11,569$$

karena $|9,58 - 24,5| = 14,92 > 11,569$, maka perbandingan ini berbeda nyata.

Untuk membandingkan kelompok perlakuan II dan kelompok perlakuan V :

$$2,33 \sqrt{\frac{5 [30(30^2 - 1)] - 1230}{6 \times 30 (30 - 1)}} = 11,569$$

karena $|9,58 - 23,25| = 13,67 > 11,569$, maka perbandingan ini berbeda nyata.

Untuk membandingkan kelompok perlakuan III dan kelompok perlakuan IV :

$$2,33 \sqrt{\frac{5 [30(30^2 - 1)] - 1230}{6 \times 30 (30 - 1)}} = 11,569$$

karena $|16,25 - 24,5| = 8,25 < 11,569$, maka perbandingan ini tidak berbeda nyata.

Untuk membandingkan kelompok perlakuan III dan kelompok perlakuan V :

$$2,33 \sqrt{\frac{5 [30(30^2 - 1)] - 1230}{6 \times 30 (30 - 1)}} = 11,569$$

karena $|16,25 - 23,25| = 7 < 11,569$, maka perbandingan ini tidak berbeda nyata.

Untuk membandingkan kelompok perlakuan IV dan kelompok perlakuan V :

$$2,33 \sqrt{\frac{5 [30(30^2 - 1)] - 1230}{6 \times 30 (30 - 1)}} = 11,569$$

karena $|23,25 - 24,5| = 1,25 < 11,569$, maka perbandingan ini tidak berbeda nyata.

Uji Pasangan Berganda (Uji Z) Tingkat Kepadatan Sel Limfosit

Tingkat kesalahan sebesar 0,20.

Banyak perlakuan = 5, maka jumlah perbandingan = 10.

$$Z_{hitung} = 1 - \frac{\alpha}{k(k-1)} = 1 - \frac{0,20}{5(5-1)} = 0,99$$

$$= 0,99 - 0,5 = 0,49$$

$$Z_{tabel} = 2,33$$

Untuk membandingkan kelompok perlakuan I dan kelompok perlakuan II :

$$2,33 \sqrt{\frac{5 [30(30^2 - 1)] - 1986}{6 \times 30 (30 - 1)}} = 11,398$$

karena $|3,5 - 10| = 6,5 < 11,398$, maka perbandingan ini tidak berbeda nyata.

Untuk membandingkan kelompok perlakuan I dan kelompok perlakuan III :

$$2,33 \sqrt{\frac{5 [30(30^2 - 1)] - 1986}{6 \times 30 (30 - 1)}} = 11,398$$

karena $|3,5 - 15| = 11,5 > 11,398$, maka perbandingan ini berbeda nyata.

Untuk membandingkan kelompok perlakuan I dan kelompok perlakuan IV :

$$2,33 \sqrt{\frac{5 [30(30^2 - 1)] - 1986}{6 \times 30 (30 - 1)}} = 11,398$$

karena $|3,5 - 24| = 20,5 > 11,398$, maka perbandingan ini berbeda nyata.

Untuk membandingkan kelompok perlakuan I dan kelompok perlakuan V :

$$2,33 \sqrt{\frac{5 [30(30^2 - 1)] - 1986}{6 \times 30 (30 - 1)}} = 11,398$$

karena $|3,5 - 25| = 21,5 > 11,398$, maka perbandingan ini berbeda nyata.

Untuk membandingkan kelompok perlakuan II dan kelompok perlakuan III :

$$2,33 \sqrt{\frac{5 [30(30^2 - 1)] - 1986}{6 \times 30 (30 - 1)}} = 11,398$$

karena $|10 - 15| = 5 < 11,398$, maka perbandingan ini tidak berbeda nyata.

Untuk membandingkan kelompok perlakuan II dan kelompok perlakuan IV :

$$2,33 \sqrt{\frac{5 [30(30^2 - 1)] - 1986}{6 \times 30 (30 - 1)}} = 11,398$$

karena $|10 - 24| = 14 > 11,398$, maka perbandingan ini berbeda nyata.

Untuk membandingkan kelompok perlakuan II dan kelompok perlakuan V :

$$2,33 \sqrt{\frac{5 [30(30^2 - 1)] - 1986}{6 \times 30 (30 - 1)}} = 11,398$$

karena $|10 - 25| = 15 > 11,398$, maka perbandingan ini berbeda nyata.

Untuk membandingkan kelompok perlakuan III dan kelompok perlakuan IV :

$$2,33 \sqrt{\frac{5 [30(30^2 - 1)] - 1986}{6 \times 30 (30 - 1)}} = 11,398$$

karena $|15 - 24| = 9 < 11,398$, maka perbandingan ini tidak berbedas nyata.

Untuk membandingkan kelompok perlakuan III dan kelompok perlakuan V :

$$2,33 \sqrt{\frac{5 [30(30^2 - 1)] - 1986}{6 \times 30 (30 - 1)}} = 11,398$$

karena $|15 - 25| = 10 < 11,398$, maka perbandingan ini tidak berbeda nyata.

Untuk membandingkan kelompok perlakuan IV dan kelompok perlakuan V :

$$2,33 \sqrt{\frac{5 [30(30^2 - 1)] - 1986}{6 \times 30 (30 - 1)}} = 11,398$$

karena $|24 - 25| = 1 < 11,398$, maka perbandingan ini tidak berbeda nyata.