

AKTIVITAS IMUNOMODULATOR SIMPLISIA DAUN
Polyscias obtusa TERHADAP SISTEM IMUNITAS PADA
BONE MARROW BROILER SETELAH INFEKSI *Salmonella*
typhimurium

SKRIPSI

oleh
ERIN KURNIANINGTYAS
0910913007



JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2013

**AKTIVITAS IMUNOMODULATOR SIMPLISIA DAUN
Polyscias obtusa TERHADAP SISTEM IMUNITAS PADA
BONE MARROW BROILER SETELAH INFEKSI *Salmonella*
*typhimurium***

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains
Dalam Bidang Biologi

oleh
ERIN KURNIANINGTYAS
0910913007



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2013**

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

**AKTIVITAS IMUNOMODULATOR SIMPLISIA DAUN
Polyscias obtusa TERHADAP SISTEM IMUNITAS PADA
BONE MARROW BROILER SETELAH INFEKSI *Salmonella*
*typhimurium***

oleh
ERIN KURNIANINGTYAS
0910913007

Setelah Dipertahankan Di Depan Majelis Penguji pada Tanggal
28 Juni 2013 dan Dinyatakan Memenuhi Syarat untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Sains dalam Bidang Biologi.

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Ir. M. Sasmito Djati.,MS
NIP. 196103041994031001

Muhaimin Rifai,PhD.Med.Sc
NIP. 196806261997021001

Mengetahui,
Ketua Program Studi S1 Biologi

Rodliyati Azrianingsih.,MSc.PhD
NIP. 19700128 1994122 001

HALAMAN PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Erin Kurnianingtyas
NIM : 0910913007
Judul Skripsi : Aktivitas Imunomodulator Simplisia Daun *Polyscias obtusa* Terhadap Sistem Imunitas Pada Bone Marrow Broiler Setelah Infeksi *Salmonella typhimurium*

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Skripsi ini adalah benar-benar karya saya sendiri, dan bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Karya-karya yang tercantum dalam Daftar Pustaka skripsi ini semata-mata digunakan sebagai acuan atau referensi.
2. Apabila dikemudian hari diketahui bahwa isi skripsi saya ini adalah merupakan hasil plagiat, maka saya bersedia menanggung akibat hukum dari keadaan tersebut.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala tanggung jawab dan kesadaran.

Malang, Juni 2013
Yang menyatakan

Erin Kurnianingtyas
0910913007

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi yang disusun oleh penulis ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum sebagai sumber referensi dan pembelajaran lebih lanjut, dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka yang ada dalam skripsi ini diperkenankan untuk dicatat, namun pengutipan hanya dapat dilakukan seijin penulis dan harus disertai dengan aturan penulisan ilmiah dan etika penulisan yakni dengan menyebutkannya.



Aktivitas Imunomodulator Simplisia Daun *Polyscias obtusa* Terhadap Sistem Imunitas Pada Bone Marrow Broiler Setelah Infeksi *Salmonella typhimurium*

Erin Kurnianingtyas¹, M.Sasmito Djati¹, dan Muhaimin. R.¹

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya, Malang

ABSTRAK

Antibiotik banyak dimasukkan dalam pakan ternak untuk menanggulangi penyakit ternak, namun pemberian antibiotik dalam waktu lama dapat menyebabkan resistensi dan juga residu bagi manusia. Berbeda dengan *Polyscias obtusa* yang memiliki senyawa saponin, tanin, dan flavonoid untuk memodulasi aktivitas sistem imun untuk melawan bakteri, sehingga tidak akan menyebabkan resistensi. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh simplisia *P. obtusa* sebagai imunomodulator terhadap imunitas anak ayam broiler. Metode penelitian diantaranya uji konfirmasi bakteri, persiapan kultur bakteri dan daun *P. obtusa*, pembuatan pakan ransum dosis 1 (0.08%), dosis 2 (0.16%) dan dosis 3 (0.26%) dari daun *P. obtusa*, infeksi *S. typhimurium* $1,49 \times 10^8$ sel secara oral di hari ke-14, pembedahan pertama pada hari ke-24, pembedahan terakhir pada hari ke-34, sel limfosit diisolasi dari bone marrow dan diinkubasi dengan antibodi *rat-anti-CD4⁺PE*, *rat-anti-CD8⁺ FITC*, dan *rat-anti-B220⁺PerCP* masing-masing sebanyak 50 μ l kemudian dilakukan running flowcytometri. Hasil menunjukkan bahwa secara keseluruhan perlakuan yang paling menunjukkan dalam peningkatan sel limfosit adalah perlakuan yang diberi dosis daun *P. obtusa*, yaitu perlakuan pakan ransum dosis 0,08%. Jumlah relatif CD8⁺ mengalami penurunan. Sedangkan jumlah relatif CD4⁺ dan B220⁺ mengalami peningkatan dengan hasil yang tidak berbeda nyata. Sehingga dapat dibuktikan bahwa daun *P. obtusa* mampu berperan sebagai imunomodulator dalam sistem imunitas.

Kata kunci : ayam broiler, *Polyscias obtusa*, *Salmonella typhimurium*, CD4⁺, CD8⁺, B220⁺

Immunomodulatory Activity Of *Polyscias obtusa* leaves to Immunity System In Bone Marrow Broiler After *Salmonella typhimurium* Infection

Erin Kurnianingtyas¹, M.Sasmito Djati¹, Muhaimin R.¹

¹Biology Department, Faculty of Mathematics And Natural Science, Brawijaya University, Malang

ABSTRACT

Antibiotics are added in animal feed to overcome the diseases, but giving antibiotics for a long time can cause resistance and also residues to humans. Unlike the *Polyscias obtusa* that has a compound saponin, tannins, and flavonoids to modulate the activity of the immune system to fight the bacteria, so it will not cause resistance. The purpose of this research was to determine the effect of leaf *P. obtusa* as immunomodulator against chicks broiler immunity. Research methods are including bacteria confirm test, bacterial culture preparation and *P. obtusa* leaves, the making of standard ransum with the 1st dose (0.08%), 2nd dose (0.16%) and 3rd dose (0.26%) from *P. obtusa* leaves, $1,49 \times 10^8$ cell *S. typhimurium* infections orally on day 14, the first killing on day 24, the last killing on day 34, stem cells are isolated on the bone marrow and incubated with rat anti-CD8⁺-FITC, rat anti-CD4⁺PE and rat-anti-B220⁺PerCP antibodies respectively 50 µl and then running flowcytometri. The most treatment showed an increase in lymphocyte cells is in the treatment given a dose of *P. obtusa* leaves, feed rations treatment dosage of 0.08%. Relative amount of CD8⁺ decreased. Increase in amount of CD4⁺ and B220⁺ relatives are not significant differences. So, it can be proven that *P. obtusa* leaves are able to act as the immune system immunomodulator.

Keywords : Broiler, *Polyscias obtusa*, *Salmonella typhimurium*, CD4⁺, CD8⁺, B220⁺

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, karunia serta hidayah-Nya sehingga naskah skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Naskah skripsi ini disusun atas bantuan dari berbagai pihak, oleh sebab itu diucapkan terima kasih kepada:

1. Project staff research grant IM-HERE 2011/2012
2. **Bapak Dr. Ir. Moch.Sasmito Djati.,MS** dan **Bapak Muhaimin Rifa'i.,PhD.Med.Sc** selaku dosen pembimbing atas waktu, kesabaran, arahan, didikan, dan bimbingan yang telah diberikan kepada penulis.
3. **Ibu Dr. Sri Widyarti** selaku dosen penguji yang telah memberikan kritikan dan saran untuk perbaikan dalam penulisan skripsi ini.
4. **Ibu Tusiyani** dan **Bapak Supena** yang tercinta selaku kedua orang tua atas kasih sayang, kepercayaannya, bimbingan rohani dan jasmani, untaian do'a, dan dukungan penuhnya untuk selalu menyemangati dari saat penulis pertama kali memulai pendidikan hingga saat ini.
5. **Mbak Dewi Satwika, Mbak Septi Utami, Mutya Farsely, Swastika Pinca** selaku partner tim penelitian yang telah mendukung segala proses penelitian dari awal hingga akhir dengan penuh semangat, ketulusan dan ilmu yang bermanfaat.
6. Semua sahabat, kerabat dan teman-teman **"BIO 2009"** serta semua pihak lain yang turut mendukung dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini.
7. **Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Brawijaya Malang** sebagai almamater tercinta

Semoga Allah selalu membalas semua kebaikan yang diberikan kepada penulis. Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini, oleh karena itu diharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Malang, Juni 2013

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Ayam Broiler	4
2.2 Konversi Ransum	4
2.3 Penggunaan Antibiotik	5
2.4 <i>Polyscias obtusa</i>	5
2.5 Salmonellosis pada Unggas	6
2.6 Pengaruh LPS Terhadap Aktivitas Protease	7
2.7 Imunitas Humoral.....	8
BAB III METODOLOGI	
3.1 Waktu dan Tempat	10
3.2 Uji Konfirmasi Bakteri <i>Salmonella typhimurium</i>	10
3.2.1 Uji Media XLD	10
3.2.2 Uji Katalase	10
3.2.3 Uji Patogenitas	11
3.2.4 Uji KIA dan LIA	11
3.2.5 Uji Pewarnaan Gram	11
3.2.6 Kurva Standar <i>Salmonella typhimurium</i>	12
3.2.7 Kurva Pertumbuhan <i>Salmonella typhimurium</i>	13
3.3 Persiapan Kandang	13
3.4 Pemberian <i>Salmonella typhimurium</i> secara oral	13

3.5 Pemberian <i>Polyscias obtusa</i> pada pakan ayam	13
3.6 Isolasi Sel	14
3.7 Analisis Flowcytometri	14
3.8 Analisis Data	14
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Perbandingan Rata-Rata Jumlah Relatif Sel CD4 ⁺ , CD8 ⁺ , dan B220 ⁺ Pada Organ Bone Marrow Ayam Broiler Pada Fase Starter dan Finisher	15
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	22
5.2 Saran	22
DAFTAR PUSTAKA	23
LAMPIRAN	26



DAFTAR TABEL

Tabel

Halaman

Tabel 1. Stok Inokulum Bakteri Dengan Media Steril 12

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Rata-rata Jumlah Sel T CD4 ⁺ (%) fase Starter dan Finisher (p<0.05)	15
2. Rata-rata Jumlah Sel T CD8 ⁺ (%) fase Starter dan Finisher (p<0.05)	17
3. Rata-rata Jumlah Sel T B220 ⁺ (%) fase Starter dan Finisher (p<0.05)	18



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
LT1. Komposisi Phosphate Buffer Saline (PBS)	26
LT2. Komposisi Paraformal dehyde 4% (PFA)	26
LT3. Rancangan Kelompok perlakuan	26
LT4. Dosis simplisia <i>Polyscias obtusa</i>	27
LT5. Komposisi Ransum Konversi	27
LG6. Hasil ANOVA Jumlah Relatif Sel T CD4 ⁺ pada Bone Marrow	28
LG7. Hasil ANOVA Jumlah Relatif Sel T CD8 ⁺ pada Bone Marrow	29
LG8. Hasil ANOVA Jumlah Relatif Sel T B220 ⁺ pada Bone Marrow	30
LG9. Hasil Uji Tukey Jumlah Relatif Sel T CD4 ⁺ , CD8 ⁺ , B220 ⁺ pada Bone Marrow.....	31
LG10. Kurva Standar Bakteri <i>Salmonella typhimurium</i>	32
LG11. Kurva Pertumbuhan Bakteri <i>Salmonella typhimurium</i>	33
LG12. Profil Jumlah Relatif Sel CD4 ⁺ dan CD8 ⁺ pada Fase Starter dengan Flowcytometri	33
LG13. Profil Jumlah Relatif Sel CD4 ⁺ dan CD8 ⁺ pada Fase Finisher dengan Flowcytometri	34
LG14. Profil Jumlah Relatif Sel B220 ⁺ pada Fase Starter dengan Flowcytometri	34
LG15. Profil Jumlah Relatif Sel B220 ⁺ pada Fase Finisher dengan Flowcytometri	35

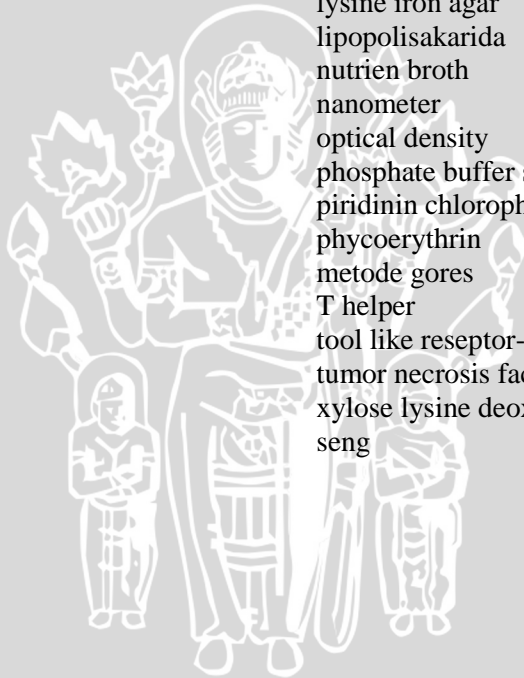
DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

Simbol/singkatan

CD
Fe
FITC
gr
lg
IL-
KIA
LIA
LPS
NB
nm
OD
PBS
PerCP
PE
Streak plate
Th
TLR-4
TNF
XLD
Zn

Keterangan

cluster of differentiation
besi
fluorescein isothiocyanate
gram
imunoglobulin
interleukin
kligler iron agar
lysine iron agar
lipopolisakarida
nutrien broth
nanometer
optical density
phosphate buffer saline
piridinin chlorophyl protein
phycoerythrin
metode gores
T helper
tool like reseptor-4
tumor necrosis factor
xylose lysine deoxycholate
seng



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Broiler adalah istilah untuk menyebutkan strain ayam hasil budidaya teknologi yang memiliki karakteristik ekonomis dengan ciri khas yaitu pertumbuhan yang cepat, konversi pakan yang baik dan dapat dipotong pada usia yang relatif muda sehingga sirkulasi pemeliharaannya lebih cepat dan efisien serta menghasilkan daging yang berkualitas baik (Murtidjo, 1992).

Mujiasih (2001) menyatakan bahwa ayam broiler dapat digolongkan kedalam kelompok unggas penghasil daging artinya dipelihara khusus untuk menghasilkan daging. Umumnya memiliki ciri-ciri sebagai berikut: kerangka tubuh besar, pertumbuhan badan cepat, pertumbuhan bulu yang cepat, lebih efisien dalam mengubah ransum menjadi daging.

Kepuasan masyarakat Indonesia saat ini terbilang memiliki tingkat konsumsi sangat tinggi terhadap daging ayam. Alasan tersebut karena, selain daging ayam yang rasanya enak tetapi juga memiliki beberapa komponen penting dalam daging ayam misalnya seperti protein yang sangat dibutuhkan tubuh. Sehingga permintaan masyarakat terhadap daging ayam masih mengalami peningkatan. Berdasarkan data yang ada pada Pinsar (2008), kebutuhan ayam potong di Indonesia mencapai tiga juta sampai lima juta ekor perhari sedangkan total produksi nasional Indonesia tidak mencukupi kebutuhan konsumsi ayam di Indonesia, hal ini dikarenakan populasi ayam yang ada telah berkurang (Pinsar, 2008).

Untuk memenuhi kepuasan masyarakat, maka perlu dikembangkan pada sektor peternakan sehingga akan menghasilkan produk yang aman, sehat, dan halal bagi masyarakat Indonesia. Tetapi dalam memenuhi hasil produk yang maksimal, sektor peternakan juga mengalami beberapa kendala yaitu diantaranya kendala dari serangan penyakit. Salah satu penyakit yang umum menyerang ayam peternakan adalah serangan penyakit dari bakteri *Salmonella* sp. Selain dapat mengganggu proses pertumbuhan, Salmonellosis juga sering menyebabkan kematian pada ayam akibat toksin yang dihasilkan oleh *Salmonella typhimurium*. Untuk

menanggulangi permasalahan tersebut para peternak dan perusahaan peternakan unggas melakukan pemberian antibiotik.

Antibiotik telah diketahui berguna untuk memberantas penyakit dan juga dapat berfungsi sebagai *growth promotor* pada ayam. Antibiotik biasanya akan langsung menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Namun pemberian antibiotik dalam waktu lama dapat menyebabkan munculnya permasalahan baru berupa resistensi bakteri patogen terhadap antibiotik yang diberikan. *S.typhimurium* akan bersifat resisten terhadap antibiotik seperti ampisilin, kotrimoksazol dan tetrasiklin (Tabbu, 2000). Antibiotik juga dapat menimbulkan residu yang berbahaya bagi manusia akibat mengkonsumsi produk unggas. Indonesia kaya akan flora tumbuhan yang beribu-ribu jenis yang masih perlu dimanfaatkan, sehingga pengobatan dengan menggunakan tanaman obat atau disebut obat herbal merupakan salah satu solusi untuk menekan kejadian penyakit (Syamsiah & Tajudin, 2003). Penggunaan obat herbal memiliki keuntungan tidak menyebabkan residu pada hasil produksi ayam sehingga masyarakat aman untuk mengkonsumsinya.

Masalah yang timbul akibat pemberian antibiotik perlu mendapat perhatian penting, sehingga pada penelitian ini dilakukan pemberian daun *Polyscias obtusa* yang dapat meningkatkan ketahanan tubuh pada ayam. *Polyscias obtusa* memiliki beberapa senyawa yang mampu memodulasi aktivitas dari sistem imunitas ayam untuk melawan bakteri patogen yang masuk ke dalam tubuh. Daun pada tanaman ini memiliki kandungan asam oleanic saponin. Menurut Francis (2002) senyawa Saponin dapat berperan pada permeabilitas membran, sebagai imunostimulan, agen antikarsinogen, dan hypocholesterolaemic. Selain itu pada tanaman ini juga ditemukan senyawa flavonoid. Hasil test secara *in vitro* dari flavonoid golongan flavones dan flavonols telah menunjukkan adanya respon imun (Hollman *et al.*, 1996). Efek terhadap respons imun nonspesifik berupa peningkatan fagositosis dan kemotaksis makrofag, kemotaksis neutrofil, sitotoksitas sel NK serta aktivitas hemolisis komplemen (Munasir, 2002).

Berdasarkan uraian diatas bahwa perlu diadakannya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktifitas imunomodulator daun *Polyscias obtusa* terhadap sistem imunitas terutama pada bone marrow broiler setelah infeksi *Salmonella typhimurium*.

1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan yang diangkat pada penelitian ini yaitu:

1. Apakah daun *Polyscias obtusa* dapat meningkatkan sistem imunitas anak ayam pedaging?
2. Apakah ada perbedaan jumlah relatif CD4⁺, CD8⁺, dan B220⁺ antara perlakuan yang diberi pakan *Polyscias obtusa* dengan perlakuan tanpa diberi *Polyscias obtusa*?

1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui pengaruh simplisia daun *Polyscias obtusa* terhadap imunitas anak ayam pedaging.
2. Mengetahui dosis simplisia daun *Polyscias obtusa* yang paling efektif dalam meningkatkan sistem imunitas anak ayam pedaging.

1.4 Manfaat

Beberapa manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini, yaitu:

1. Dapat diperoleh informasi aktivitas imunomodulator daun *Polyscias obtusa* terhadap respon imunitas pada anak ayam yang diinfeksi antigen.
2. Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan bukti ilmiah tentang daun *Polyscias obtusa* yang memberikan efek imunomodulator terhadap sistem imun tubuh dalam meningkatkan aktivitas sel limfosit.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ayam Broiler

Ayam broiler merupakan jenis ayam yang telah mengalami pemuliaan sehingga menjadi ayam pedaging yang unggul, mempunyai bentuk, ukuran dan warnayang seragam (Muchtadi dan Sugiono 1989). Ayam ini pertama kali dikenal pada periode menjelang 1980-an, walaupun galur murninya baru diketahui sejak tahun 1960-an (Rasyaf 1993). Ayam broiler ini terdiri dari jantan dan betina yang umumnya dipanen untuk diambil karkasnya pada umur 5-6 minggu. Ayam ini memiliki pertumbuhan fantastis, yaitu mampu mencapai bobot 1 – 2 kg dalam kurun waktu 1 –6 minggu (Rasyaf 1993). Pertumbuhan ayam broiler dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya makanan (ransum), temperature lingkungan (berkisar 190-210) dan sistem pemeliharaannya (Rasyaf 1992).

Ayam broiler yang berusia enam minggu sudah sama dengan ayam kampung dewasa 8 bulan, yaitu mencapai bobot 2 kg. Ayam broiler dipasarkan di Indonesia pada bobot 1,3-1,6 kg per ekor ayam pada umur 5-6 minggu (Rasyaf 2003). Ciri dari ayam broiler ini adalah ukuran badan relatif besar, padat, kompak, dan berdaging penuh. Jumlah telur sedikit, bergerak lambat, tenang dan lebih lambat mengalami dewasa kelamin. Adapun jenis ayam pedaging ini antara lain Brahma Putra, CochinChina, Cornish dan Sussex (Sudaryani dan Santosa 2002).

2.2. Konversi ransum

Konversi ransum (Feed Converse Ratio) adalah perbandingan jumlah konsumsi ransum pada satu minggu dengan pertambahan bobot badan yang dicapai pada minggu itu, bila rasio kecil berarti pertambahan bobot badan ayam memuaskan atau ayam makan dengan efisien. Hal ini dipengaruhi oleh besar badan dan bangsa ayam, tahap produksi, kadar energi dalam ransum, dan temperatur lingkungan (Rasyaf, 2003).

Indeks konversi ransum hanya akan naik bila hubungan antara jumlah energi dalam formula dan kadar protein telah

disesuaikan secara teknis. Perbandingan tersebut bervariasi dalam hubungannya terhadap sejumlah faktor, seperti umur hewan, bangsa, derajat masak dini, daya produksi dan suhu. Nilai protein dalam ransum tergantung dari asam amino pembatas (methionin plus sistin). Terpisah dari fungsi gizinya, methionin mengambil bagian dalam metabolisme lemak dalam hati (Rasyaf, 2003).

2.3. Penggunaan Antibiotik

Broiler mampu mengolah makanannya dengan cepat setelah makanan dikonsumsi. Keadaan ini menyebabkan broiler memiliki laju pertumbuhan yang sangat cepat, selain dipengaruhi oleh genetik, cepatnya laju pertumbuhan juga dipicu oleh adanya *growth promotor* yang umumnya menggunakan senyawa antibiotik. Selain sebagai *growth promotor*, senyawa antibiotik juga dapat meningkatkan efisiensi pakan, alternatif pengobatan dan juga dapat meningkatkan reproduksi ternak. Namun di beberapa negara telah melarang penggunaan antibiotik sebagai zat aditif.

Menurut Tabbu (2000), penurunan penggunaan antibiotik disebabkan oleh 2 hal utama, yaitu : (1). Antibiotik dapat meninggalkan residu dalam jangka panjang sehingga dapat membahayakan kesehatan konsumen, (2). Antibiotik menyebabkan mikroorganisme yang berada dalam tubuh manusia ataupun hewan menjadi resisten, terutama bakteri patogen seperti *Salmonella sp*, *Escherichia coli* dan *Clostridium sp*. Akhir-akhir ini banyak ditemui penggunaan probiotik sebagai bahan aditif yang dapat menggantikan penggunaan antibiotik dalam pakan, yaitu sebagai *growth promotor* dan dapat memelihara kesehatan ternak. Bakteri asam laktat yang berperan dalam pengawetan pakan melalui proses ensilase dapat dimanfaatkan sebagai probiotik dalam ransum. Suplementasi pakan dengan probiotik ataupun prebiotik dapat meningkatkan bobot badan dan efisiensi serta konversi pakan broiler diusia muda namun tidak berlaku pada broiler berumur lebih dari 2 minggu (Palliyaguru *et al.* 2004).

2.4. *Polyscias obtusa* (Bl.) Harms.

Batang pada *Polyscias obtuse* tegak, berkayu, berbentuk bulat, berwarna coklat, dan berakar tunggang. Sedangkan daun

tanaman ini merupakan daun majemuk berhadapan, berbentuk oval- obovata yang tidak beraturan, dengan panjang 4-15 cm, dan lebar 3-17 cm, ujung daun tumpul, pangkal tumpul, dengan tepi bertoreh, dan sistem pertulangan daun menyirip.

Tanaman *Polyscias obtusa* mengandung saponin dalam bentuk triterpenoid. Francis et al. (2002) menyebutkan bahwa senyawa saponin merupakan senyawa yang dapat meningkatkan fungsi imun pada ayam dengan mekanisme sebagai anti bakteri dan anti viral. Selain senyawa saponin, pada tanaman ini juga ditemukan senyawa flavonoid. Flavonoid merupakan suatu senyawa antioksidan yang penting, sehingga dapat menangkal radiasi bebas. Selain itu flavonoid juga berperan penting pada reaksi inflamasi ketika terjadi infeksi (Lee, et al., 2010). Flavonoid dapat berfungsi sebagai imunomodulator, selain alkaloid, tanin, dan saponin (Kenny dkk., 1990; Middleton dkk., 2000; Sangat dkk., 2000, Raj narayana dkk., 2001 cit. Akrom, 2004). Efek terhadap respons imun nonspesifik berupa peningkatan fagositosis dan kemotaksis makrofag, kemotaksis neutrofil (Barbour,2004).

2.5. Salmonellosis pada Unggas

Salmonella adalah bakteri berbentuk batang. Ukuran lebar Salmonella antara 0.3 – 0.5 μm dan panjang 0.7 – 2.5 μm . Pertumbuhan optimal pada temperatur 37.0 – 37.5^oC (Supardi, 1999). Di alam bakteri Salmonella tidak hidup lama, terutama bila keadaan disekitarnya kering. Sumber infeksi Salmonella paling sering terjadi pada *flock* unggas yang diduga berasal dari pakan. Cox et al. (1996) melaporkan bahwa tempat penetasan merupakan sumber penularan *Salmonella sp* yang dominan pada peternakan ayam broiler.

Salmonella juga bersifat toksik terhadap makrofag. Sitotoksitasnya ditandai dengan makropinositosis pada makrofag yang terinfeksi diikuti dengan kematian sel. Gambaran apoptosis berupa kondensasi dan fragmentasi kromatin, pembengkakan membran dan munculnya nukleosom sitoplastik (Irmawati,2004). Membran sel tersusun atas kompleks molekul glikolipid yang dikenal dengan nama lipopolisakarida (LPS) atau endotoksin. Endotoksin terdiri dari 3 lapisan, yaitu O-spesific polysaccharide di bagian luar, core-polysaccharide di bagian tengah dan lipid A di bagian dalam.

Dengan struktur LPS yang demikian lengkap menjadikannya lebih resisten terhadap enzim yang memproses antigen, yaitu dengan cara memperlambat pemrosesan dan menghambat aktivasi epitop tertentu (Lehner, 2001).

Infeksi *Salmonella sp* terjadi melalui 3 cara yaitu kongenital, oral dan aerogen (Ressang 1984). Secara kongenital yaitu penularan melalui telur sehingga anak ayam yang menetas melalui telur tersebut akan terinfeksi *Salmonella sp*. Infeksi secara oral terjadi melalui pakan dan air minum yang tercemari *Salmonella sp*. Sedang aerogen adalah infeksi yang terjadi di dalam mesin penetas telur dimana masa tunas penyakit berkisar antara 1 minggu. Penularan melalui vektor juga lazim terjadi, penyebaran ini terjadi melalui hewan-hewan kecil seperti tikus, lalat, burung liar dan peralatan yang mengandung bakteri *Salmonella sp* yang digunakan di dalam kandang (Cox *et al.* 1996).

Salmonella di dalam tubuh host akan menginvasi mukosa usus halus, berbiak di sel epitel dan menghasilkan *toxin* yang akan menyebabkan reaksi radang dan akumulasi cairan di dalam usus. Kemampuan *salmonella* untuk menginvasi dan merusak sel berkaitan dengan diproduksinya *thermostable cytotoxicfactor*. *Salmonella* ada di dalam sel epitel akan memperbanyak diri dan menghasilkan *thermolabile enterotoxin* yang secara langsung mempengaruhi sekresi air dan elektrolit (Ray, 2001).

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhimurium* biasanya menyerang anak ayam yang berumur 10 hari dengan tingkat kematian yang cukup tinggi (Volk & Wheeler, 1993). Bakteri *Salmonella typhimurium* ini terutama akan menyerang bakteri baik yang terdapat di dalam saluran cerna sehingga usus akan didominasi oleh bakteri yang patogen. Terjadinya infeksi pada tubuh dengan sendirinya akan merangsang sel-sel limfosit dalam organ limfoid dalam memproduksi antibodi (Volk & Wheeler, 1993).

2.6. Pengaruh LPS Terhadap Aktivitas Protease

Peningkatan aktivitas protease dikarenakan paparan LPS dari bakteri *Porphyromonas gingivalis* yang direspon oleh reseptor *Toll-Like Receptor-4 (TLR-4)* yang mampu memodulasi sistem imun untuk melepaskan protease. LPS dapat terikat dengan dinding sel saluran pernapasan melalui bantuan senyawa *Lipopolysaccharide-*

binding protein (LBP). LPS tidak bertindak secara langsung terhadap sel tetapi melalui aktivasi sel inflamator dan mediator sistem imunitas (Campbell, et al., 2006).

Pengaruh yang signifikan paparan dari adanya LPS yang diberikan akan menginduksi respon imun melalui jalur TH-2 yang selanjutnya akan memproduksi sitokin proinflamasi diantaranya IL-4, IL-6, IL-9, IL-13. Sitokin IL-4 dan IL-13 tersebut mengaktifkan sel B, sehingga akan memproduksi s-IgE untuk mengaktifkan sel mast. Sitokin IL-6 dan IL-9 tersebut mengaktifkan sel makrofag sehingga akan memproduksi neutrofil. Sel mast, makrofag dan neutrofil yang telah teraktivasi selanjutnya akan memproduksi protease. Paparan LPS juga menyebabkan faktor transkripsi Nuklear factor κ B (NF- κ B) yang mengalami migrasi menuju nukleus, untuk mengekspresikan sitokin dan kemokin seperti TNF α . Produksi TNF α yang berlebih pada sel akan menyebabkan agregasi dan aktivasi neutrofil serta pelepasan enzim protease (Campbell et al., 2006).

2.7. Imunitas Humoral

Imunitas humoral (Humoral immunity), ditengahi oleh sekelompok limfosit yang berdiferensiasi di sumsum tulang dan jaringan limfoid sekunder. Adanya rangsangan antigen menyebabkan sel B akan berkembang menjadi sel plasma dan membentuk antibodi. Antibodi adalah imunoglobulin (Ig) yang merupakan golongan protein yang dibentuk oleh sel plasma yang berasal dari proliferasi sel B akibat adanya kontak dengan antigen. Antibodi yang terbentuk secara spesifik ini akan mengikat antigen yang sejenis. IgG dan komplemen bekerja saling membantu pada pemusnahan antigen. IgG juga berperan pada imunitas selular, karena dapat merusak antigen selular melalui interaksi dengan sistem komplemen atau melalui efek sitolitik killer cell (Playfair, 2009).

Molekul pengenalan sel B adalah imunoglobulin, Ig. Imunoglobulin diproduksi oleh sel B dalam keadaan yang sangat beragam sesuai dengan keragaman antigen. Setiap sel B memproduksi imunoglobulin tunggal. Imunoglobulin yang berada pada permukaan sel berfungsi sebagai reseptor sel untuk suatu antigen yang disebut *B-cell receptor* (BCR). Imunoglobulin disekresi dalam bentuk antibodi yang dihasilkan oleh sel plasma yaitu sel B

yang teraktivasi. Sekresi antibodi yang mengikat patogen atau substansi beracun yang diproduksi patogen pada ekstraselluler, merupakan peranan utama sel B pada imunitas adaptif (Playfair, 2009).

Imunitas humoral pada hewan yang terinfeksi *Salmonella* sp. umumnya dapat terjadi. Terbentuknya imunitas tersebut dipengaruhi oleh banyak faktor, antara lain: dosis atau jumlah antigen, sifat virulensi, rute infeksi dan umur hewan. Faktor umur hewan sangat nyata pengaruhnya terhadap pembentukan antibodi. Respon antibodi pada hewan muda mungkin hanya terbatas pada epitop antigen tertentu, hewan muda respon imunologiknya paling rendah (Thornsetal., 1996). Pemberian antigen *S. typhimurium* pada anak ayam umur 1 – 2 minggu hanya menimbulkan respon antibodi yang lemah. Kondisi ini mungkin disebabkan oleh sifat hiporesponsif sel-sel pada sistem imunitas yang belum berfungsi secara mature (Jeurissen *et al.*, 1989), atau diseminasi jaringan limfoid masih sangat muda dan fungsi pembentukan antibodi belum sempurna, sehingga antibodi yang terbentuk pada anak ayam rendah (Corkish *et al.*, 1994).



BAB III METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Mei hingga bulan Juli 2012 di Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium peternakan Sumber Sekar DAU, dan Laboratorium Fisiologi Hewan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.

3.2. Uji Konfirmasi bakteri *Salmonella typhimurium*

3.2.1. Uji media XLD

Pembuatan media XLD yang dilakukan pertama kali yaitu mengambil 1,6 gr XLD dan selanjutnya ditambahkan akuades sebanyak 30 ml. Saat media mulai memadat, media siap digunakan.

Isolat murni yang akan diuji, diambil dengan ose. Selama proses pengambilan isolat dengan ose, semua harus dalam keadaan steril untuk meminimalisir kontaminan. Setelah didapat isolat murni pada ose, dilakukan *streak plate* pada cawan petri yang telah berisi media XLD. Selanjutnya inkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Uji akan menunjukkan hasil positif bila pada daerah streak tersebut akan membentuk koloni berwarna hitam.

3.2.2. Uji katalase

Uji katalase dilakukan dengan cara, yaitu isolat bakteri *Salmonella typhimurium* diambil satu oose pada medium *nutrient agar* yang berumur 24-48 jam dan diletakkan pada gelas obyek yang telah ditetesi dengan akuades steril. Gelas obyek kemudian ditetesi dengan hidrogen peroksida (H₂O₂) 3% sebanyak satu tetes. Uji positif ditunjukkan ketika terdapat gelembung pada saat penetesan H₂O₂, akan tetapi jika tidak terdapat gelembung maka uji ini dianggap negatif (Fardiaz, 1993).

3.2.3. Uji Patogenitas

Uji patogenitas dilakukan dengan cara, yaitu isolat bakteri *Salmonella typhimurium* diambil satu oose pada medium *nutrient agar* yang berumur 24-48 jam dilakukan streak plate pada media *blood agar*. Isolat bakteri diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24-48 jam. Uji akan menunjukkan hasil positif apabila media berubah warna menjadi bening secara menyeluruh di sekitar koloni. Uji negatif ditunjukkan apabila media *blood agar* tidak terbentuk zona bening di sekitar koloni bakteri. Adanya zona bening menunjukkan bahwa isolat bakteri tersebut menghasilkan enzim hemolysin, dimana fungsi dari enzim tersebut adalah untuk memecah eritrosit sel darah merah untuk pertumbuhannya. Dari ulasan tersebut merupakan indikasi bahwa bakteri tersebut patogen terhadap inangnya (Johnson, 2001).

3.2.4. Uji KIA dan LIA

Pembuatan media KIA yaitu dengan mengambil 1,65 gr dan kemudian ditambahkan ke dalam akuades 30 ml. Untuk media LIA yaitu dengan mengambil 1,02 gr dan kemudian ditambahkan ke dalam akuades 30 ml. Selanjutnya media yang telah di sterilisasi dituang ke tabung reaksi kemudian tabung dimiringkan hingga media padat.

Isolat yang telah diremajakan diambil dengan enten, selanjutnya enten yang telah terdapat bakteri ditusuk dan ditarik pada media KIA dan LIA. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24-48 jam. Pada uji konfirmasi bakteri menggunakan media KIA reaksi bakteri dengan gula laktosa dan dextrose sehingga membentuk asam yang akan menghasilkan perubahan warna merah menjadi kuning baik disertai dengan gas meupun tanpa gas. Jika pada media terjadi perubahan warna menjadi hitam maka bakteri tersebut memproduksi H₂S. Sama halnya dengan media LIA, jika media berubah warna menjadi hitam maka bakteri tersebut memproduksi H₂S.

3.2.5. Uji Pewarnaan Gram

Isolat bakteri berumur 24-48 jam diambil satu oose dan dioleskan sambil diratakan pada gelas obyek yang telah ditetesi

akuades steril. Isolat pada gelas obyek difiksasi di atas api. Apusan ditetesi dengan larutan Gram A (*Hucker's crystal violet*) selama satu menit, kemudian dibilas dengan air. Apusan dikeringanginkan dan selanjutnya ditetesi dengan Gram B (*Lugol's iodine*) selama satu menit. Apusan bakteri dicuci kembali pada airmengalir dan dikeringanginkan. Apusan bakteri selanjutnya ditetesi dengan Gram C (alkohol) selama 30 detik, dicuci dengan airmengalir dan dikeringanginkan. Selanjutnya apusan bakteri ditetesi dengan Gram D (safranin) dan dibiarkan selama 1 menit, dibilas dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Kemudian apusan bakteri diamati dengan menggunakan mikroskop. Benson (2002) menyebutkan bahwa, sifat pewarnaan Gram, yaitu warna biru-ungu menunjukkan bakteri Gram positif, sedangkan merah-merah muda menunjukkan bakteri Gram negatif.

3.2.6. Pembuatan Kurva Standar Bakteri *Salmonella typhimurium*

Kurva standar bakteri dibuat dengan menggunakan isolat bakteri yang ditumbuhkan pada media *Nutrien Broth*. Suspensi isolat kemudian dihomogenasi dengan vorteks. Perbandingan antara media steril dan kultur yang dibuat ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Perbandingan stok inokulum bakteri dengan media steril

Perbandingan	Stok kultur (µl)	Media Steril (µl)
8:0	0	4 ml
7:1	500 µl	3,5 ml
6:2	1 ml	3 ml
5:3	1,5 ml	2,5 ml
4:4	2 ml	2 ml
3:5	2,5 ml	1,5 ml
2:6	3 ml	1 ml
1:7	3,5 ml	500 µl
0:8	4 ml	0

Pengenceran kultur dilakukan dengan menambahkan media NB, dengan perbandingan antara stok kultur dan media steril yaitu 8:0 ; 7:1 ; 6:2 ; 5:3 ; 4:4 ; 3:5 ; 2:6 ; 1:7 dan 0:8. Jumlah sel masing-masing suspensi dihitung menggunakan haemocytometer. Sedangkan *optical density* (OD) diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm.

3.2.7. Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhimurium*

Kurva pertumbuhan bakteri dibuat dengan menggunakan kultur bakteri diambil 1 ose yang ditumbuhkan pada media *Nutrien Broth* 10 ml dan diinkubasi suhu 37⁰C selama 24 jam. Kemudian diambil 6 ml kultur dan dicampur 54 ml media NB. Kemudian dilakukan sampling setiap 1 jam, dengan mengambil 4 ml dan ditambah 500 µl formalin.

3.3. Persiapan Kandang

Pada persiapan kandang disini yaitu dengan membersihkan kandang terlebih dahulu dari sisa-sisa kotoran. Selanjutnya dilakukan penyiraman dan penyemprotan desinfektan. Desinfektan yang digunakan disini yaitu adalah batu kapur dan juga formalin.

3.4. Pemberian *Salmonella typhimurium* secara oral

Salmonella typhimurium diambil sebanyak $1,49 \times 10^8$ sel/ml. Selanjutnya diberikan kepada ayam secara oral menggunakan pipet tetes. Pemberian yaitu anak ayam diambil dalam posisi terlentang dan dipegang bagian kepala dan kaki agar tenang. Selanjutnya paruh dibuka dengan pipet secara perlahan kemudian masukkan 500 µl *Salmonella typhimurium* ke dalam mulut ayam.

3.5. Pemberian *Polyscias obtusa* pada pakan ayam

Daun *P. obtusa* kemudian dicuci dan dikering anginkan. Kemudian daun dihaluskan menggunakan blender kering. Selanjutnya simplisia ditimbang dan ditambahkan pada pakan buatan ayam sesuai perlakuan yaitu perlakuan dengan dosis 1 berjumlah

0,08%, untuk dosis 2 berjumlah 0,16%, sedangkan untuk dosis 3 berjumlah 0,26% *Polyscias obtusa* yang diberikan.

3.6. Isolasi Sel

Tulang femur dan tibia anak ayam yang telah dibersihkan dari sisa jaringan otot yang menempel kemudian diflush dengan PBS menggunakan jarum 19G. Selanjutnya sel-sel yang diperoleh difilter menggunakan *wire* dan dimasukkan kedalam tabung propilen 15 ml. Ditambahkan PBS sampai 12 ml. Disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm, pada suhu 4⁰C, selama 5 menit. Supernatan yang diperoleh dibuang dan pellet diresuspensi dengan PBS 1 ml. Selanjutnya dilakukan pipeting untuk mendapatkan homogenat. 800 µl homogenate dipindahkan pada tabung mikrotube baru dan ditambah 500 µl PBS. Kemudian dilakukan sentrifuse pada 2500 rpm, suhu 4⁰C selama 5 menit. Supernatan dibuang dan pellet selanjutnya ditambahkan antibodi sebanyak 100µl-200µl dan ditambahkan PBS 100 – 500 µl. Dilakukan pipeting untuk menghomogenkan, selanjutnya dilakukan tahap running flowcytometri.

3.7. Analisis Flowcytometri

Sel-sel yang diisolasi dari bone marrow, diinkubasi dengan antibodi selama 15 menit dalam ice box. Sel-sel yang diisolasi dari bone marrow diinkubasi dengan *rat-anti-CD45⁺PerCP*, *rat-anti-CD8⁺FITC*, dan *rat-anti CD4⁺PE conjugated*. Sampel yang telah diinkubasi dengan antibodi ditambah 1 ml PBS dan ditempatkan pada kuvet flowcytometer. Selanjutnya dipilih acquire dan flowcytometer akan menghitung jumlah sel total serta jumlah sel yang terdeteksi oleh label antibodi.

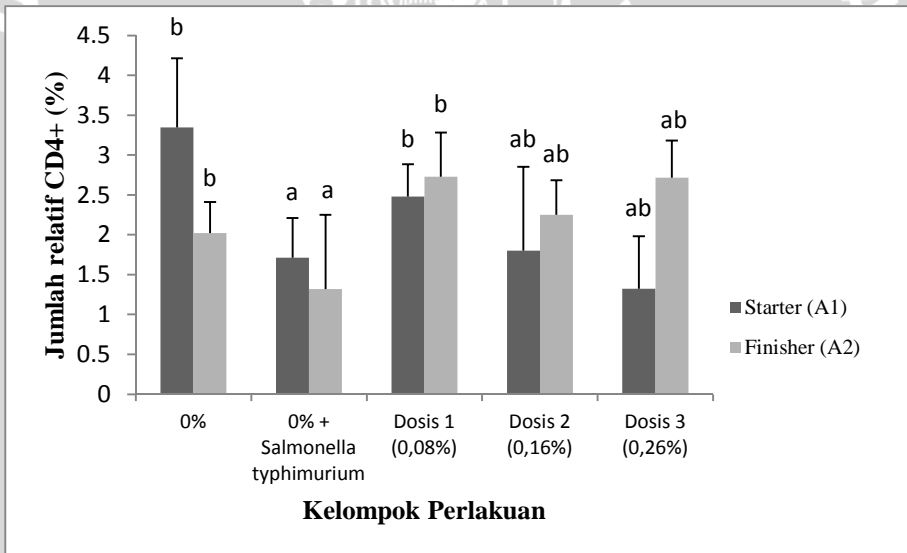
3.8. Analisis Data

Setiap percobaan di ulang 6 kali, rancangan percobaan adalah Rancangan acak lengkap faktorial. Selanjutnya data tersebut dianalisis dengan menggunakan analisis ragam ANOVA. Apabila diperoleh hasil yang signifikan maka dilakukan uji lanjut Tukey.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Perbandingan Rata-rata Jumlah Relatif Sel CD4⁺, CD8⁺, Dan B220⁺ Pada Organ Bone Marrow Ayam Broiler Pada Fase Starter Dan Finisher.

Berdasarkan gambar 1 merupakan hasil jumlah relatif sel CD4⁺, yang ditunjukkan dengan warna bar yang berbeda. Jumlah relatif CD4⁺ pada starter setelah dilakukan analisis data menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata yakni ($P>0,05$) dengan perbedaan kelompok perlakuan yang telah diberikan.



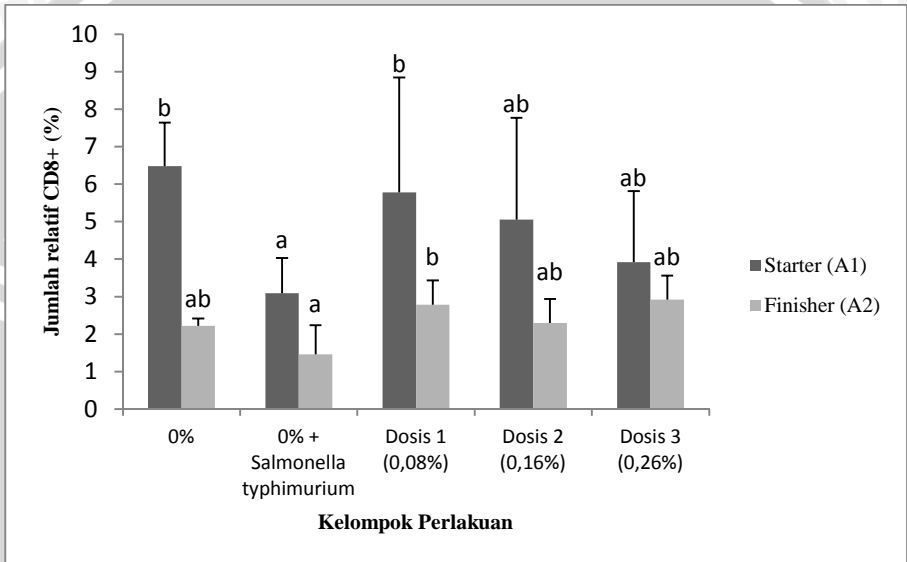
Gambar 1. Rata-rata jumlah sel T CD4⁺ (%) fase starter dan finisher ($p>0,05$)

Hasil uji lanjut tukey menunjukkan bahwa kontrol negatif memiliki nilai berbeda signifikan terhadap kontrol positif, perlakuan

dengan pakan ransum dosis 0,26% , dan perlakuan dengan pakan ransum dosis 0,16%. Sedangkan untuk perlakuan dengan pakan ransum dosis 0,08% tidak memiliki nilai yang signifikan terhadap kelompok perlakuan yang lain. Jumlah relatif CD4⁺ paling tinggi yaitu pada perlakuan kontrol negatif sebesar 3,4%. Kelompok perlakuan pakan ransum dosis 0,26% memiliki nilai paling rendah yakni sebesar 1,32%. Terdapat beberapa kemungkinan yang bisa terjadi dalam penurunan sel limfosit, misalnya adanya senyawa didalam tanaman *Polyscias obtusa* yang dapat menekan aktifitas limfosit di dalam sel. Adanya senyawa tanin pada tanaman *P. obtusa* berikut akan menyebabkan protein pakan menjadi sulit dicerna oleh ayam, sehingga pertumbuhannya terganggu (Cheeke, 1989). Protein merupakan bahan dasar pembentuk leukosit beserta deferensiasinya.

Sedangkan untuk jumlah relatif CD4⁺ pada finisher setelah dilakukan analisis data menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata yakni ($P>0,005$) dengan perbedaan kelompok perlakuan yang telah diberikan. Dari hasil uji lanjut tukey menunjukkan bahwa kontrol positif memiliki nilai berbeda signifikan terhadap perlakuan dengan pakan ransum dosis 0,26% dan perlakuan dengan pakan ransum dosis 0,08%. Sedangkan untuk kontrol negatif dan perlakuan pakan ransum dosis 0,16% tidak memiliki nilai yang signifikan terhadap kelompok perlakuan yang lain. Jumlah relatif CD4⁺ yang paling rendah yaitu pada perlakuan kontrol positif sebesar 1,32% dan untuk jumlah relatif sel CD4⁺ yang paling tinggi yaitu pada perlakuan pakan ransum dosis 0,08% sebesar 2,72 %, sedangkan jumlah relatif CD4⁺ pada perlakuan pakan ransum dosis 0,26% tidak jauh berbeda yaitu sebesar 2,71%. Jumlah relatif CD4⁺ mengalami peningkatan saat fase finisher pada perlakuan pakan yang ditambah *P. obtusa*. Peningkatan sel limfosit disini terdapat beberapa kemungkinan yaitu karena adanya efek recovery, dimana jumlah limfosit kembali dalam kisaran jumlah limfosit pada perlakuan kontrol negatif. Seperti penelitian yang dilakukan sebelumnya, Ginting (2008) sebagai efek recovery, pada periode finisher persentase limfosit kembali dalam kisaran normal. Namun jumlah limfosit perlakuan *P. obtusa* dosis 0,08% dan *P. obtusa* dosis 0,26% lebih tinggi daripada jumlah limfosit pada kontrol negatif, disini kemungkinan disebabkan masih adanya rangsangan antigen yang menyebabkan masih aktifnya proliferasi sel limfosit. Apabila limfosit T mengalami ekspose

terhadap antigen, limfosit T akan dirangsang untuk berganda dengan cepat dan menghasilkan lebih banyak lagi yang dapat bekerja langsung melawan antigen spesifik. Antigen yang menyebabkan timbulnya penyakit kronis cenderung merangsang kekebalan seluler melalui limfosit T (Tizard, 1988).

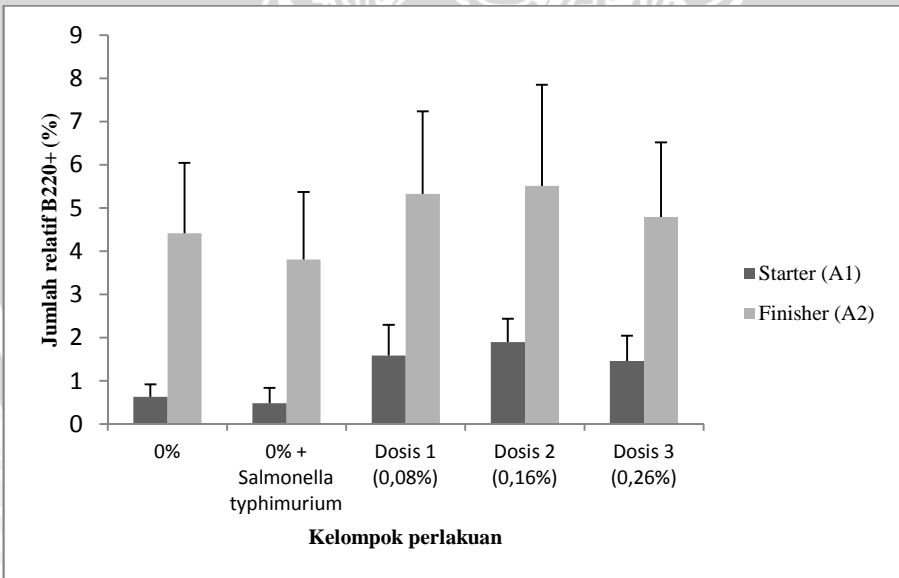


Gambar 2. Rata-rata jumlah sel T CD8⁺ (%) fase starter dan finisher (p<0.05)

Jumlah relatif CD8⁺ pada starter setelah dilakukan analisis data menunjukkan nilai yang tidak signifikan yakni (P>0,05) dengan perbedaan kelompok perlakuan yang telah diberikan. Jumlah relatif CD8⁺ tertinggi pada perlakuan kontrol negatif sebesar 6,47% sedangkan untuk jumlah relatif CD8⁺ paling rendah pada perlakuan kontrol positif sebesar 3,09%. Jumlah sel CD8⁺ dari setiap perlakuan terdapat penurunan jumlah dari kontrol negatif, disini dimungkinkan adanya senyawa pada tanaman *P. obtusa* yang dapat menekan aktifitas sel limfosit untuk berproliferasi. Saponin merupakan senyawa aktif yang bersifat seperti sabun, serta memiliki

kemampuan membentuk busa dan menghemolisis sel darah merah (Robinson, 1995).

Sedangkan untuk jumlah relatif $CD8^+$ pada finisher setelah dilakukan analisis data menunjukkan nilai yang berbeda nyata yakni ($P < 0,05$) dengan perbedaan kelompok perlakuan yang telah diberikan. Dari hasil uji lanjut tukey menunjukkan bahwa kontrol positif memiliki nilai berbeda signifikan terhadap perlakuan pakan ransum dosis 0,26% dan perlakuan pakan ransum dosis 0,08%. Sedangkan untuk kontrol negatif dan perlakuan pakan ransum dosis 0,16% tidak memiliki nilai yang signifikan terhadap kelompok perlakuan yang lain. Jumlah relatif $CD8^+$ terendah pada perlakuan kontrol positif dengan nilai sebesar 1,46% dan untuk jumlah relatif $CD8^+$ yang paling tinggi pada perlakuan pakan ransum dosis 0,26% sebesar 2,92% dan perlakuan pakan ransum 0,08% sebesar 2,78%. Jumlah relatif $CD8^+$ pada perlakuan perlakuan pakan ransum 0,08% dan perlakuan pakan ransum 0,26% justru melebihi jumlah kontrol negatif sebesar 2.21%. Jumlah relatif $CD8^+$ mengalami penurunan saat fase finisher pada setiap perlakuan pakan.



Gambar 3. Rata-rata jumlah sel $B220^+$ (%) fase starter dan finisher ($p > 0,05$)

Jumlah relatif B220⁺ pada starter setelah dilakukan analisis data menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata yakni ($P > 0,05$) dengan perbedaan kelompok perlakuan yang telah diberikan. Dari hasil uji lanjut tukey menunjukkan bahwa kontrol positif memiliki nilai berbeda signifikan terhadap perlakuan pakan ransum dosis 0,26%, perlakuan pakan ransum dosis 0,08%, dan perlakuan pakan ransum dosis 0,16%. Untuk kontrol negatif tidak memiliki nilai berbeda signifikan terhadap kontrol positif, begitu juga yang terjadi pada perlakuan pakan ransum dosis 0,26% yang tidak memiliki nilai signifikan terhadap kontrol negatif, pakan ransum dosis 0,08%, dan perlakuan pakan ransum dosis 0,16%. Jumlah relatif B220⁺ yang paling rendah terdapat pada perlakuan kontrol positif yaitu sebesar 0,47% dan untuk jumlah relatif tertinggi pada perlakuan pakan ransum dosis 0,16% sebesar 1,89%. Limfosit B sedikit jumlahnya, hanya 10 sampai 12%, berperan dalam humoral immune responses dan beberapa diantaranya tumbuh menjadi sel plasma (sel pembentuk antibodi). Perlakuan *P. obtusa* dosis 0,08%, *P. obtusa* dosis 0,16%, dan *P. obtusa* dosis 0,26% cenderung memiliki jumlah relatif B220⁺ yang lebih tinggi karena adanya rangsangan antigen yang masuk dan berada di dalam tubuh ayam, sehingga sel limfosit B akan melakukan fungsinya sebagai imunitas humoral yang mampu menyerang agen penyebab.

Jumlah relatif B220⁺ pada finisher setelah dilakukan analisis data menunjukkan nilai yang tidak signifikan yakni ($P > 0,05$) dengan perbedaan kelompok perlakuan yang telah diberikan. Jumlah relatif B220⁺ yang tertinggi pada perlakuan pakan ransum dosis 0,16% yakni sebesar 5,51% dan untuk jumlah relatif B220⁺ terendah pada perlakuan kontrol positif sebesar 3,80%. Jumlah relatif B220⁺ mengalami peningkatan saat fase finisher pada masing-masing perlakuan.

Bone marrow diketahui memiliki banyak populasi sel B prekursor termasuk sel induk, sel B immature dan pre-B sel (Gathings, Lawton & Cooper, 1977). Bone marrow serta organ limfoid lainnya pada ayam memiliki sejumlah besar sel B matang yang aktif mensekresi imunoglobulin. Pada ayam, bone marrow mensekresikan Ig sejak hari ke-9 setelah menetas dan berlanjut ke dewasa. Bone marrow mengalami peningkatan jumlah IgA pada

umur 16 hari. Sekresi IgG juga banyak ditemukan pada bone marrow. Sehingga dapat disimpulkan bahwa bone marrow dan organ lymphoid seperti spleen memiliki peran utama sebagai produksi antibodi (Askonas & Humphrey, 1958). Progenitor sel limfosit T dan sel limfosit B ini berasal dari sumsum tulang kemudian berdeferensiasi dan matang di bursa fabricius dan timus. Sehingga jumlah relatif sel B220⁺ yang ditemukan di organ bone marrow lebih banyak jumlahnya disini menandakan bahwa adanya aktivitas imunitas humoral lebih banyak bereaksi terhadap antigen yang masuk. Limfosit merupakan unsur kunci sistem kekebalan tubuh. Selama perkembangan janin, prekursor limfosit berasal dari sumsum tulang. Pada ayam, prekursor limfosit menempati bursa Fabricius di transformasi menjadi limfosit yang berperan dalam kekebalan humoral (limfosit B). Sehingga pada sumsum tulang ayam sangat sedikit ditemukan sel limfosit. Sel B berdiferensiasi menjadi sel plasma dan sel B memori. Limfosit B sedikit jumlahnya, hanya 10 sampai 12%, berperan dalam humoral immune responses dan beberapa diantaranya tumbuh menjadi sel plasma (sel pembentuk antibodi). Anak ayam yang baru menetas memiliki antibodi maternal yang diturunkan dari induknya. Antibodi maternal yang diperoleh secara pasif dapat menghambat pembentukan imunoglobulin, sehingga mempengaruhi keberhasilan vaksinasi. Penghambatan antibodi maternal berlangsung sampai antibodinya habis yaitu sekitar 10-20 hari setelah menetas (Tizard, 1988).

Limfosit T berperan sebagai imunitas sel yang diperoleh dari pembentukan limfosit teraktivasi yang mampu menghancurkan benda asing (Guyton 1997). Sel T dibagi menjadi 4 yaitu : sel T pembantu, sel T supresor, sel T sitotoksik (sel T efektor atau sel pembunuh), dan sel T memori (Ganong 1998). Limfosit T berperan dalam imunitas seluler dan diperkirakan 70 sampai 75% dari seluruh limfosit darah. Limfosit null mencapai 10 sampai 15% dari limfosit darah dan bervariasi pada berbagai spesies (Dellmann dan Brown, 1992). Apabila limfosit T mengalami ekspose terhadap antigen, limfosit T akan dirangsang untuk berganda dengan cepat dan menghasilkan lebih banyak lagi yang dapat bekerja langsung melawan antigen spesifik. Antigen yang menyebabkan timbulnya penyakit kronis cenderung merangsang kekebalan seluler melalui limfosit T (Tizard, 1988). Menurut Southon (1988) dan Rofiq

(2003) menyatakan bahwa penyakit Salmonellosis rentan terjadi pada ayam berumur kurang dari satu bulan, sedangkan ayam umur lebih dari tiga minggu jarang menimbulkan gejala klinis karena memiliki kekebalan tubuh yang lebih baik tetapi dapat menjadi pembawa (carrier) yang dapat menularkan penyakit pada manusia. Infeksi bakteri *Salmonella typhimurium* dapat menginduksi aktivasi sel T CD4⁺ dan sel T CD8⁺. Fungsi Sel T CD4⁺ membantu aktivasi dan diferensiasi sel B selain itu juga membantu pembentukan sel T CD8⁺ spesifik *Salmonella*. Pembentukan sel T juga diindikasikan dengan adanya produksi IFN- γ . Produksi IFN- γ spesifik *Salmonella typhimurium* dari sel T CD4⁺ secara signifikan lebih besar daripada sel T CD8⁺. Jika berupa IL-2 dan IFN γ , yang berkembang adalah Th1 dan akan menekan Th2. Sebaliknya jika IL-4 yang dikeluarkan, maka Th2 yang akan berkembang (Mastroeni, 2003).

Tanaman *Polyscias obtusa* mengandung saponin dalam bentuk triterpenoid. Francis et al. (2002) menyebutkan bahwa senyawa saponin merupakan senyawa yang dapat meningkatkan fungsi imun pada ayam dengan mekanisme sebagai anti bakteri dan anti viral. Saponin memproduksi cytokines seperti interleukin dan interferons yang berperan dalam efek imunostimulan. Interleukin dan interferons akan bereaksi dengan antigen (benda-benda asing) yang masuk ke dalam tubuh (Tizard, 1988). Francis (2002) menyatakan bahwa saponin dalam jumlah normal berperan sebagai immunostimulator, sedangkan dalam jumlah yang melebihi batas normal saponin akan berperan sebagai immunosupresor (zat yang menekan/menurunkan sistem imun). Senyawa antibakteri seperti saponin apabila berada dalam tubuh ternak terlalu lama dapat menurunkan daya tahan tubuh (Cheeke, 1989), selain itu dapat mengikat mineral Fe dan Zn sehingga mineral tersebut tidak dapat diserap tubuh dengan baik. Menurut Food and Agriculture Organization (FAO) (2005), batas toleransi penggunaan saponin adalah 3,7g/kg pakan. Batas toleransi tanin dalam ransum ayam broiler sebesar 2,6g/kg pakan (Kumar et al., 2005).

BAB V PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Pemberian daun *Polyscias obtusa* yang bersifat imunomodulator yang selanjutnya dilakukan infeksi bakteri *Salmonella typhimurium* menunjukkan bahwa setiap pemberian dosis yang berbeda menunjukkan profil jumlah relatif CD4⁺, CD8⁺, dan B220⁺ antara semua perlakuan memiliki perbedaan yang signifikan berdasarkan analisis *flowcytometry*. Hubungan antara *starter* dan *finisher* menunjukkan hasil yang tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah relatif CD4⁺, CD8⁺, dan B220⁺. Secara keseluruhan perlakuan yang paling menunjukkan dalam peningkatan sel limfosit adalah perlakuan yang diberi dosis daun *Polyscias obtusa*, yaitu perlakuan pakan ransum dosis 0,08%.

5.2. Saran

Saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya adalah penentuan dosis yang digunakan harus benar-benar memberikan perbedaan yang signifikan dalam setiap perlakuan.

DAFTAR PUSTAKA

- Askonas, B.A. & Humphrey, J.H. 1958. formation of specific antibodies and gamma globulin in vitro. A study of the synthetic ability of various tissues from rabbits immunized by different methods. *Bio-chem. J.* 68. 252.
- Barbour EK, Sagherian VK, Talhouk RS, Harakh S, and Talhouk SN. 2004. Cell-Immunomodulation against Salmonella enteritidis in herbal extract-treated broilers. *J. of App. Vet. Med.* 2:67-73.
- Benson HJ. 1994. *Microbiological applications*. Win C. Brown Publication.
- Campbell, N.A., J.B. Reece, & L.G. Mitchell. 2006. **Biologi**. Edisi Kelima-Jilid III. Addison Wesley Longman, Inc
- Cheeke, P. R. 1989. Toxicants of Plants Origin, Volume IV. CRC Press. Phenolics.
- Corkish, J.D., R.H. Davies, C. Wray and R.A. Nicholas. 1994. Observation on broiler breeder flock naturallyinfected with *Salmonella enteritidis* phage type 4. *Vet. Rec.* 134: 591 – 594.
- Cox, J., 2000. Salmonella (Introduction). Dalam Encyclopedia of Food Microbiology, Vol. 3. Robinson, R.K., C.A. Batt and P.D. Patel (Editors). Academic Press. San Diego.
- Dellman, H. D. dan E . M. Brown. 1992. **Histologi veteriner I**. Terjemahan : R. Hartono. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Fardiaz, S. 1993. **Analisis mikrobiologi pangan**. PT.Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Francis, G., Zohar K., Harinder, P.S.M., dan Klaus B. 2002. *The biological action of saponins in animal systems*. Food and Agriculture Organization. 2005. Endogenous and Exogenous Feed Toxins. http://www.fao.org/docrep/article/Agrippa/659_en_10.htm3TopOfPage2005. Diakses tanggal 20 Februari 2013.
- Ganong, W. F. 1998. **Buku ajar fisiologi kedokteran**. Edisi 17. Terjemahan Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. Hlm: 487-500
- Gathings, W.E., Lawton, A.R. & Cooper, M.D. 1977. Immunofluorescent studies of the development of pre-B-cells, B-lymphocytes and immunoglobulin isotype diversity in humans. *Eur. J. Immunol.* 7, 804.

- Ginting, I.A. 2008. **Profil darah ayam broiler yang diberi ransum mengandung tepung daun jarak pagar (*Jatropha curcas* l.)**. Fakultas Peternakan. IPB. Bogor. Skripsi
- Guyton, A. C. dan J. E. Hall. 1997. **Sel darah merah, anemia, dan polisitemia. Didalam fisiologi kedokteran**. Terjemahan : dr. Irawati, dr. L. M. A. Ken Arita Tengadi dan dr. Alex Santoso. Penerbit Buku Kedokteran, E. G. C. Jakarta. Hlm: 93-130.
- Irmawati I, Tjahjono, Dharmana E. 2004. Pengaruh jus Aloe Vera terhadap proliferasi limfosit, produksi reactive oxygen intermediate dan koloni kuman organ hepar mencit Balb/C yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*. *M Med Indonesia*. Vol:39:195-202.
- Jeurissen, S.H.M., E.M. Janse, G. Koch And G.F. Deboer.1989. Post natal development of mucosa-associated lymphoid tissue in chickens. *Cell Tissue Res*. 258:119 – 124.
- Kumar, V, A. V. Elangovan, and A. B. Mandal. 2005. Utilization of reconstituted high-tanin sorghum in the diets of broiler chicken. *J. Anim. Sci*. 18 (4): 538-544.
- Lehner MD. 2001. **Immunomodulation by endotoxin tolerance in murine models of inflammation and bacterial infection**. University of Konstanz. dissertation
- Mastroeni P, Ménager N. 2003. Development of acquired immunity to *Salmonella*. *J Med Microbiol*. 52:453-59.
- Mujiasih. 2001. **Performan ayam broiler yang diberi antibiotik zinc bacitracin, probiotik, bacillus sp. Dan berbagai level saccharomyces cerevisiae dalam ransumnya**. IPB. Bogor.
- Munasir Z. 2002. Manfaat pemberian ekstrak *phyllanthus niruri* sebagai imunostimulator pada penyakit infeksi anak. (Online). (cited 12/1/07);(3pages). Available from: URL: <http://www.tnial.mil.id/cakrawala.php3>.
- Murtidjo, B. A. 1992. **Pengendalian hama dan penyakit ayam**. Kanisius. Yogyakarta.
- Hollman, P.C.H, M.G.L. Hertog and M.B. Katan, 1996. Analysis and Health Effects of Flavonoids. *Food Chemistry*. 57 (1) : 43-46.
- Palliyaguru, M.W.C.D *et al*. 2004. Effect of different probiotics on nutrients utilisation and intestinal microflora of broiler chickens. Veterenary Research Intitute. *British Poult Sci*. 54:S58-S59.

- Playfair, J.H.L., Chain, B.M. 2005. *Immunology At A Glance* Eight Edition. Blackwell Publishing. Massachussets
- Ray, B. 2001. **Fundamental food microbiology**. 2nd Ed. CRC Press. Boca Raton.
- Rasyaf M. 1992. **Produksi dan pemberian ransum unggas**. Kaninus. Yogyakarta.
- Rasyaf M. 1993. **Beternak ayam pedaging**. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Rasyaf M. 2003. **Beternak ayam pedaging**. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Robinson, T. 1995. **Kandungan organik tumbuhan tinggi** . Edisi ke-6. Terjemahan: K. Padmawinata. ITB-Press. Bandung.
- Rofiq, M. N. 2003. **Potensi suspensi teh fermentasi kombucha dalam mengontrol infeksi salmonella sp dan pengaruhnya terhadap performa ayam broiler**. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor. Tesis.
- Southon, S., A. J. A. Wright, K. R. Price, S. J. Fairweather-Tait and G. R. Fenwick. 1988. The effect of three types of saponin on iron and zink absorption from single meal in the rat. *J. of Nutrition*. 59:389-396.
- Sudaryani T dan Santosa H. 2002. **Pembibitan ayam ras**. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Supardi, I., Dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologidalam Pengolahan Dan Keamanan Pangan*. Alumni. Bandung.
- Syamsiah IS dan Tajudin. 2003. **Khasiat dan manfaat bawang putih “raja antibiotik alami”**. AgroMedia Pustaka. Jakarta.
- Tabbu. C.R. 2000. *Penyakit Ayam dan Penanggulangannya*. Vol 1. Kanisius. Yogyakarta.
- Tizard, I. 1988. **Pengantar imunologi veteriner**. Edisi Ke 2. Terjemahan Masduki Partodirejo. Airlangga University Press. Surabaya.
- Thorns, C.J., M.M. Bell, M.G. Sojka And R.A. Nicholas. 1996. Development and application of enzyme-linked immunsorbent assay for specific detection of Salmonella enteritidis infection in chickens based on antibody to SEF14 fimbrial antigen. *J. Clinic.Mikrobiol*. 34: 792 – 797.
- Volk & Wheeler. 1993. **Mikrobiologi dasar**. Ed ke-5. Erlangga. Jakarta

Lampiran 1. Sertifikat Laik Ethik

Masih dalam proses pengajuan

Lampiran 2. Komposisi Larutan

Tabel LT1. Komposisi Bahan *Phosphate Buffer Saline* (PBS)

No.	Nama Bahan	Jumlah
1.	NaCl	3.8 gram
2.	Na ₂ HPO ₄	0.55 gram
3.	NaH ₂ PO ₄	0.35 gram
4.	Akuades	Sampai 1 liter

Tabel LT2. Komposisi Bahan *Paraformal dehyde* 4% (PFA)

No.	Nama Bahan	Jumlah
1.	PFA	4 gram
2.	PBS	150 ml
3.	NaOH	

Lampiran 3. Rancangan Kelompok Perlakuan

Tabel LT3. Rancangan Kelompok perlakuan

Perlakuan	Kelompok	
	Starter	Finisher
Pakan Pabrik	A1B1	A1B2
Pakan Pabrik + <i>Salmonella thypimurium</i>	A2B1	A2B2
Polyscias obtusa (0,08 %) + <i>Salmonella thypimurium</i>	A3B1	A3B2
Polyscias obtusa(0,16%) + <i>Salmonella thypimurium</i>	A4B1	A4B2
Polyscias obtusa (0,26%) + <i>Salmonella thypimurium</i>	A5B1	A5B2

Lampiran 4. Penentuan dosis *Polyscias obtusa*

Jumlah maksimal bubuk *Polyscias obtusa* maksimal 300 gram dan di konversi dengan jumlah total pakan ayam selama 30 hari yaitu 57 kg (57.000 gr). Jumlah bubuk *Polyscias obtusa* tersebut dibagi menjadi 3:

Tabel LT4. Dosis Simplisia *Polyscias obtusa*

Dosis 1	$\frac{50\text{g}}{57000\text{g}} \times 100\% = 0,08\%$
Dosis 2	$\frac{100\text{g}}{57000\text{g}} \times 100\% = 0,16\%$
Dosis 3	$\frac{150\text{g}}{57000\text{g}} \times 100\% = 0,26\%$

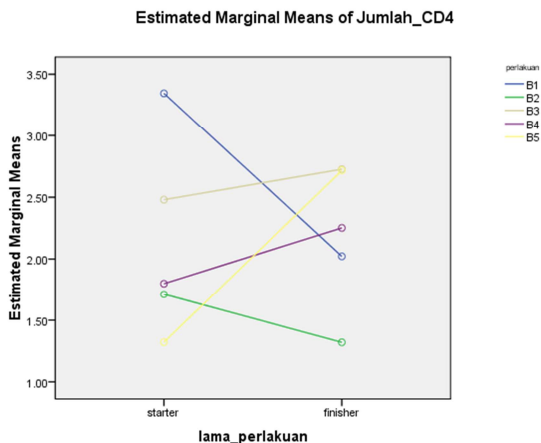
Lampiran 5. Pembuatan Pakan Alternatif dengan *Polyscias obtusa*

Pembuatan pakan dibagi menjadi 2, pakan untuk ayam fase starter dan fase finisher. Berdasarkan pengamatan, ayam pedaging makan sebanyak 40 gr /ayam. Dalam sehari ayam pedaging diberi makan 2 kali. Berikut adalah komposisi pakan dengan campuran *Polyscias obtusa* :

Tabel LT5. Komposisi Ransum Konversi

No.	Komposisi	Starter	Finisher
1.	DL metionin	30 gram	84 gram
2.	Garam	37,5 gram	105 gram
3.	Premix	54 gram	151,2 gram
4.	Minyak Kelapa	328 gram	919,8 gram
5.	Tepung Gaplek	750 gram	2100 gram
6.	MBM	750 gram	2100 gram
7.	Bungkil Kelapa	750 gram	2100 gram
8.	Tepung Ikan	1200 gram	3360 gram
9.	Bungkil Kedelai	3478,5 gram	9739,8 gram
10.	Jagung Kuning	7621,5 gram	2134 gram
11.	<i>Polyscias obtusa</i>	Dosis 1,2,3	Dosis 1,2,3

Lampiran 6. Hasil Analisis Ragam ANOVA Jumlah Relatif Sel T CD4⁺ pada Bone Marrow Melalui *Software* SPSS 16.0 for Windows



3. lama_perlakuan * perlakuan

Dependent Variable: Jumlah_CD4

lama_perlakuan	perlakuan	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
starter	B1	3.345	.272	2.799	3.891
	B2	1.712	.272	1.166	2.258
	B3	2.480	.272	1.934	3.026
	B4	1.800	.272	1.254	2.346
	B5	1.322	.272	.776	1.868
finisher	B1	2.022	.272	1.476	2.568
	B2	1.320	.272	.774	1.866
	B3	2.727	.272	2.181	3.273
	B4	2.252	.272	1.706	2.798
	B5	2.717	.272	2.171	3.263

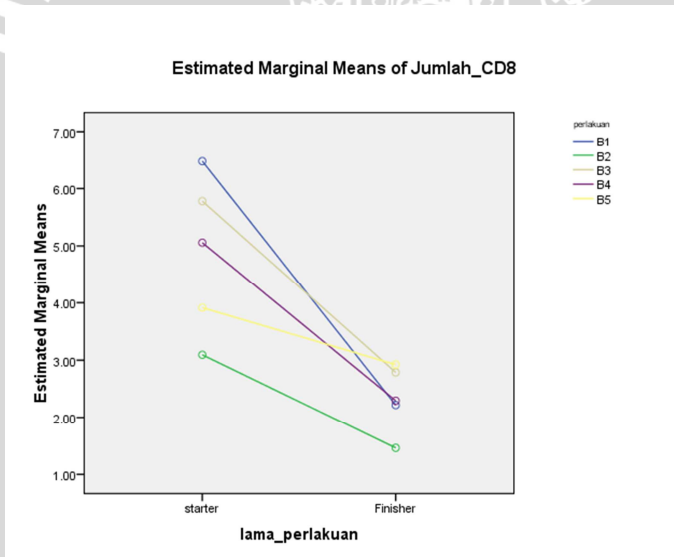
Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Jumlah_CD4

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	23.420 ^a	9	2.602	5.872	.000
Intercept	282.404	1	282.404	637.263	.000
lama_perlakuan	.086	1	.086	.194	.662
perlakuan	11.073	4	2.768	6.247	.000
lama_perlakuan * perlakuan	12.261	4	3.065	6.917	.000
Error	22.158	50	.443		
Total	327.981	60			
Corrected Total	45.577	59			

a. R Squared = ,514 (Adjusted R Squared = ,426)

Lampiran 7. Hasil Analisis Ragam ANOVA Jumlah Relatif Sel T CD8⁺ pada Bone Marrow Melalui Software SPSS 16.0 for Windows



1. lama_perlakuan * perlakuan

Dependent Variable: Jumlah_CD8

lama_perlakuan	perlakuan	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
starter	B1	6.475	.638	5.194	7.756
	B2	3.093	.638	1.812	4.374
	B3	5.780	.638	4.499	7.061
	B4	5.057	.638	3.776	6.338
	B5	3.915	.638	2.634	5.196
Finisher	B1	2.217	.638	.936	3.498
	B2	1.462	.638	.181	2.743
	B3	2.787	.638	1.506	4.068
	B4	2.293	.638	1.012	3.574
	B5	2.923	.638	1.642	4.204

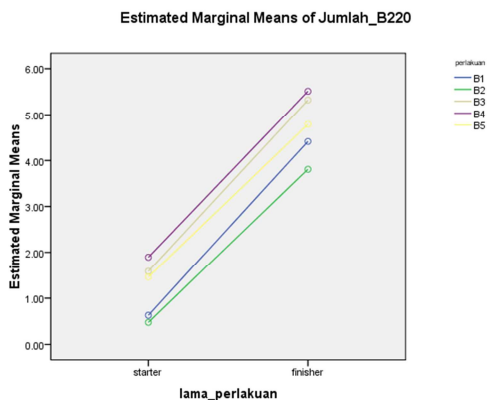
Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Jumlah_CD8

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	148.852 ^a	9	16.539	6.777	.000
Intercept	777.672	1	777.672	318.667	.000
lama_perlakuan	95.836	1	95.836	39.271	.000
perlakuan	33.727	4	8.432	3.455	.014
lama_perlakuan * perlakuan	19.289	4	4.822	1.976	.113
Error	122.019	50	2.440		
Total	1048.544	60			
Corrected Total	270.871	59			

a. R Squared = .550 (Adjusted R Squared = .468)

Lampiran 8. Hasil Analisis Ragam ANOVA Jumlah Relatif Sel T CD45⁺ pada Bone Marrow Melalui Software SPSS 16.0 for Windows



3. lama_perlakuan * perlakuan

Dependent Variable: Jumlah B220

lama_perlakuan	perlakuan	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
starter	B1	.830	.555	-.485	1.745
	B2	.477	.555	-.639	1.592
	B3	1.585	.555	.470	2.700
	B4	1.893	.555	.778	3.009
	B5	1.460	.555	.345	2.575
finisher	B1	4.415	.555	3.300	5.530
	B2	3.808	.555	2.693	4.924
	B3	5.322	.555	4.206	6.437
	B4	5.512	.555	4.396	6.627
	B5	4.790	.555	3.675	5.905

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Jumlah B220

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	210.839 ^a	9	23.427	12.664	.000
Intercept	536.107	1	536.107	289.808	.000
lama_perlakuan	190.140	1	190.140	102.785	.000
perlakuan	20.128	4	5.032	2.720	.040
lama_perlakuan * perlakuan	.571	4	.143	.077	.989
Error	92.494	50	1.850		
Total	839.440	60			
Corrected Total	303.332	59			

a. R Squared = ,695 (Adjusted R Squared = ,640)

Lampiran 9. Hasil Analisis Uji Lanjut Tukey Jumlah Relatif Sel T CD4⁺, CD8⁺, B220⁺ pada Bone Marrow Melalui Software SPSS 16.0 for Windows

B220

Tukey HSD

perlakuan	N	Subset
		1
B2	12	2.1425
B1	12	2.5225
B5	12	3.1250
B3	12	3.4533
B4	12	3.7025
Sig.		.053

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = 1,850.

CD4

Tukey HSD

perla kuan	N	Subset	
		1	2
B2	12	1.5158	
B5	12	2.0192	2.0192
B4	12	2.0258	2.0258
B3	12		2.6033
B1	12		2.6833
Sig.		.343	.121

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = ,443.

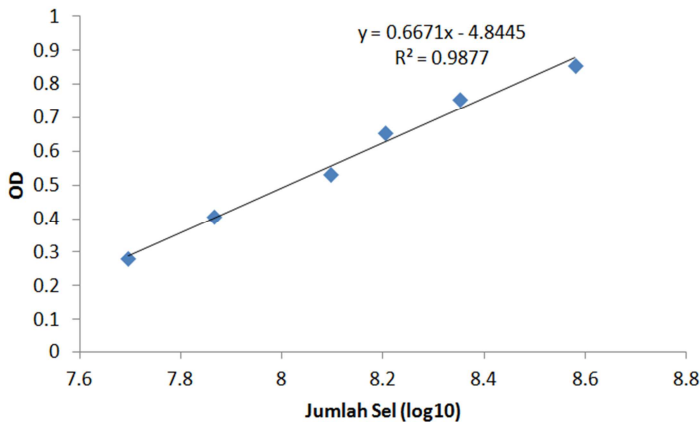
CD8

Tukey HSD

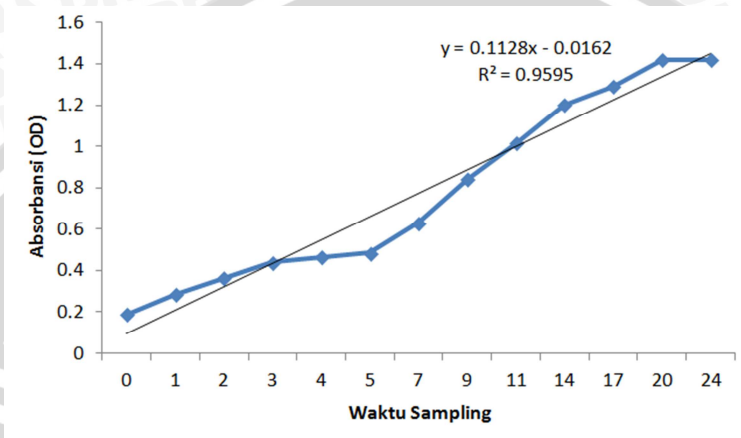
perla kuan	N	Subset	
		1	2
B2	12	2.2775	
B5	12	3.4192	3.4192
B4	12	3.6750	3.6750
B3	12		4.2833
B1	12		4.3458
Sig.		.200	.597

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = 2,440.

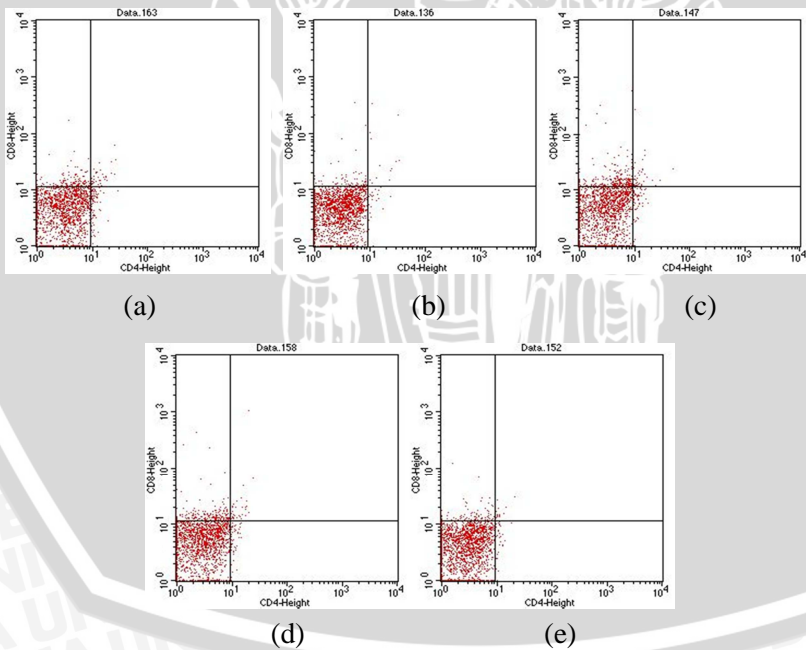
Lampiran 10. Kurva Standar Bakteri *Salmonella typhimurium*



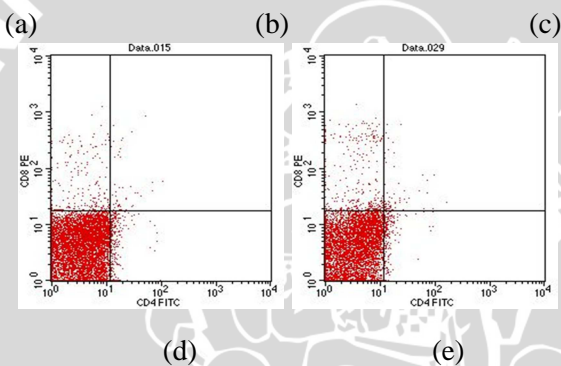
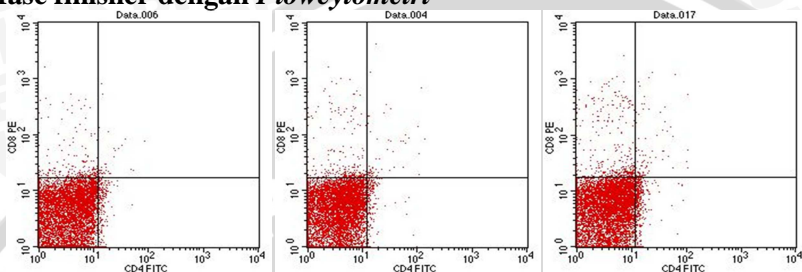
Lampiran 11. Kurva Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhimurium*



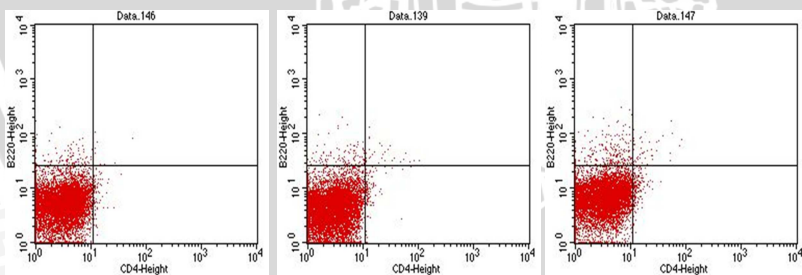
Lampiran 12. Profil Jumlah Relatif Sel CD4⁺ dan CD8⁺ pada fase starter dengan *Flowcytometri*

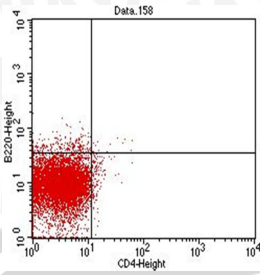


Lampiran 13. Profil Jumlah Relatif Sel CD4⁺ dan CD8⁺ pada fase finisher dengan *Flowcytometri*

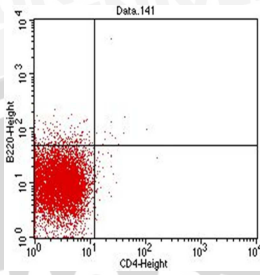


Lampiran 14. Profil Jumlah Relatif Sel B220⁺ pada fase starter



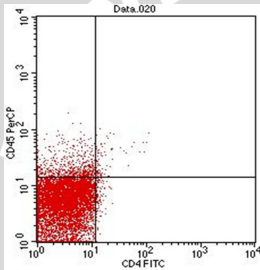


(d)

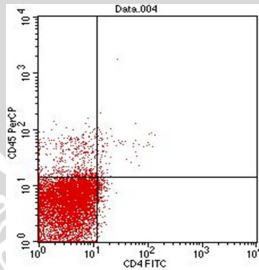


(e)

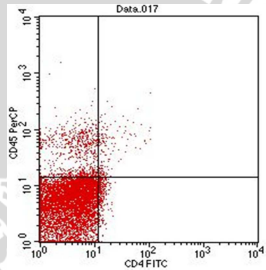
Lampiran 15. Profil Jumlah Relatif Sel B220⁺ pada fase finisher



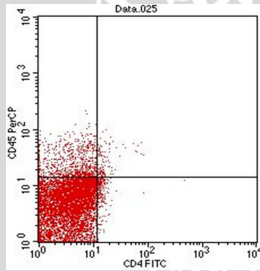
(a)



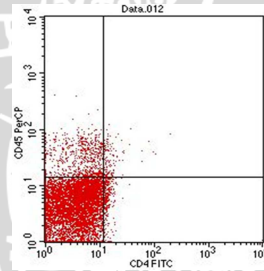
(b)



(c)



(d)



(e)