EFEKTIVITAS KOMBINASI EKSTRAK DAUN KATUK (*Sauropus androgynus*) DAN TAPAK LIMAN (*Elephantopus scaber*) TERHADAP PRODUKSI SITOKIN MENCIT BUNTING YANG TERINFEKSI *Candida albicans*

SKRIPSI

oleh
ZUHAIROH IZZA ARIFIYANI
155090101111012

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

EFEKTIVITAS KOMBINASI EKSTRAK DAUN KATUK (*Sauropus androgynus*) DAN TAPAK LIMAN (*Elephantopus scaber*) TERHADAP PRODUKSI SITOKIN MENCIT BUNTING YANG TERINFEKSI *Candida albicans*

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sajarna Sains dalam Bidang Biologi

oleh
ZUHAIROH IZZA ARIFIYANI
155090101111012

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

EFEKTIVITAS KOMBINASI EKSTRAK DAUN KATUK (*Sauropus androgynus*) DAN TAPAK LIMAN (*Elephantopus scaber*) TERHADAP PRODUKSI SITOKIN MENCIT BUNTING YANG TERINFEKSI *Candida albicans*

ZUHAIROH IZZA ARIFIYANI
155090101111012

Akan diseminarkan di depan Majelis Penguji
Pada tanggal 1 Juli 2019
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam Bidang Biologi

Menyetujui
Pembimbing

Prof. Dr. Ir. Moch Sasmito Djati, M.S.
NIP 196103041994031001

Mengetahui
Ketua Program Studi S-1 Biologi
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Rodiyati Azrianingsih, S.Si., M.Sc., Ph.D.
NIP 197001281994122001

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

HALAMAN PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Zuhairoh Izza Arifiyani
NIM : 155090101111012
Jurusan : Biologi
Skripsi berjudul : Efektivitas Kombinasi Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) dan Tapak Liman (*Elephantopus scaber*) terhadap Produksi Sitokin Mencit Bunting yang Terinfeksi *Candida albicans*

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/referensi
2. Apabila kemudian hari diketahui bahwa isi skripsi saya merupakan hasil plagiat, maka saya bersedia menanggung akibat hukum dari keadaan tersebut

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran

Malang, 10 Juli 2019

Zuhairoh Izza Arifiyani
155090101111012

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pegutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Efektivitas Kombinasi Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) dan Tapak Liman (*Elephantopus scaber*) terhadap Produksi Sitokin Mencit Bunting yang Terinfeksi *Candida albicans*

Zuhairoh Izza Arifiyani, Moch. Sasmito Djati
Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya
2019

ABSTRAK

Candida albicans merupakan jamur yang dapat menginfeksi saluran genital dan rentan terjadi saat kehamilan. Daun katuk dan tapak liman mengandung flavonoid dan saponin, dan sebagai imunomodulator alami yang dapat meningkatkan respon imunitas tubuh. Sitokin proinflamasi dihasilkan oleh sel limfosit T yang telah teraktivasi dan berperan dalam respon inflamasi. Tujuan penelitian yaitu mengetahui efektivitas kombinasi ekstrak daun katuk (S. *androgynus*) dan tapak liman (E. *scaber*) terhadap produksi sitokin IFN-γ, TNF-α dan IL-4 mencit bunting terinfeksi C. *albicans*. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tujuh perlakuan dan tiga pengulangan dalam tiga kelompok pembedahan. Mencit betina diinjeksi dengan hormon, kemudian mencit jantan dan betina dikumpulkan dalam satu kandang. Pagi hari dilakukan pengamatan *vaginal plug* dan pengecekan *vaginal smear*. Pemberian ekstrak daun dilakukan pada hari pertama kebuntingan hingga pembedahan dan infeksi C. *albicans* pada hari ke-5 kebuntingan secara intravagina sebanyak 40 µl. Pembedahan mencit dilakukan pada hari ke-10, ke-14 dan ke-18 kebuntingan untuk diambil organ limpa dan dianalisis *flow cytometry*. Analisis data menggunakan ANOVA tingkat kepercayaan 95% dan dilanjutkan uji Duncan. Hasil dari penelitian yaitu infeksi C. *albicans* pada mencit bunting menyebabkan peningkatan inflamasi berkaitan dengan peningkatan jumlah produksi sitokin proinflamasi (IFN-γ dan TNF-α) serta penurunan sitokin IL4 yang diproduksi oleh sel limfosit T. Pemberian kombinasi ekstrak daun katuk dan tapak liman pada dosis P3 (50% katuk dan 50% tapak liman) mampu menurunkan jumlah sitokin proinflamasi dan meningkatkan sitokin IL-4.

Kata kunci: C. *albicans*, E. *scaber*, kehamilan, S. *androgynus*, sel T

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Effectiveness of Combination of Katuk (*Sauropus androgynus*) and Tapak Liman (*Elephantopus scaber*) Leaf Extracts on Cytokines Production in Mice Infected *Candida albicans*

Zuhairoh Izza Arifiyani, Moch. Sasmito Djati
Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences,
University of Brawijaya
2019

ABSTRACT

Candida albicans is a fungus that can infect the genital tract and is prone to pregnancy. Katuk and tapak liman leaves contain flavonoids and saponins, and as natural immunomodulators that can enhance the body's immune response. Proinflammatory cytokines are produced by T lymphocytes that have been activated and play a role in the inflammatory response. The aim of the study was to determine the effectiveness of the combination of katuk (S. *androgynus*) and tapak liman (E. *scaber*) leaf extract on the total of cytokines IFN-γ, TNF-α and IL-4 of pregnant mice infected C. *albicans*. The study used a completely randomized design (CRD) with seven treatments and three repetitions in three surgical groups. Female mice are injected with hormones, then male and female mice are collected in one cage. In the morning a vaginal plug and vaginal smear were observed. The administration of leaf extract was carried out on the first day of pregnancy until surgery and infection with C. *albicans* on the 5th day of pregnancy by intravagina as much as 40µl. Mice surgery was carried out on the 10th, 14th and 18th days of pregnancy for the spleen taken and flowcytometry was analyzed. Data analysis using ANOVA 95% confidence level and continued with Duncan test. The results of the study were C. *albicans* infection in pregnant mice causing an increase in inflammation associated with an increase in the total of proinflammatory cytokines such as IFN-γ and TNF-α and decrease in IL4 cytokines produced by T lymphocyte cells. In the P3 dose (50% katuk and 50% tapak liman) is able to reduce the number of proinflammatory cytokines and increase IL-4 cytokine.

Keywords: C. *albicans*, E. *scaber*, pregnancy, S. *androgynus*, T cell

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KATA PENGANTAR

Alhamdulillaahi Robbil ‘Aalamiin, dengan ungkapan rasa syukur pada Allah Yang Maha Kuasa akhirnya penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripi yang merupakan syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dalam bidang Biologi di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya Malang.

Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Moch. Sasmito Djati, M.S. selaku Dosen Pembimbing yang telah mendampingi dan memberi pengerahan serta tambahan ilmu dan saran-saran yang berguna bagi penulis.
2. Bapak Prof. Muhaimin Rifa’i S.Si., Ph.D. Med.Sc dan Drs. Aris Soewondo, M.Si selaku Dosen Penguji yang telah memberi saran yang bermanfaat demi perbaikan penyusunan skripsi.
3. Orang tua dan adik-adik penulis atas segala doa, dukungan, dan motivasi yang tidak terkira.
4. Teman seperjuangan Tika Faradina, Feni Tania, Fadhilah Yulyani, Lela Aminullah dan Nailah Insani Alifiyah.
5. Adik-adik dan teman-teman penulis yang telah memberikan semangat dan motivasi.
6. Rekan-rekan Biologi Angkatan 2015 dan seluruh civitas akademik Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya.

Penulis skripsi ini merupakan upaya optimal penulis sebagai sarana terbaik dalam pengembangan ilmu pengetahuan. Saran dan kritik yang membangun sengat diharapkan untuk menjadikan karya ini semakin bermanfaat.

Malang, 10 Juli 2019

Penulis

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR ISI

ABSTRAK v
ABSTRACT vi
KATA PENGANTAR vii
DAFTAR ISI viii
DAFTAR GAMBAR x
DAFTAR LAMPIRAN xi
DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN xiii

BAB I PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 2
1.3 Tujuan Penelitian 2
1.4 Manfaat Penelitian 2

BAB II TINJAUAN PUSTAKA 3
2.1 Imunomodulator Alami 3
2.2 *Candida albicans* 4
2.3 Kandidiasis Vulvovaginalis 6
2.4 Tanaman Katuk (*Sauropus androgynus*) 7
2.5 Tanaman Tapak Liman (*Elephantopus scaber*) 9
2.6 Hormon Eksogenus sebagai Sikronisasi Estrus 11
2.7 Respon Sel T terhadap Infeksi Jamur 12
2.8 Interferon Gamma (IFN-γ) 13
2.9 Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF-α) 14
2.10 Interleukin 4 (IL-4) 15

BAB III METODE PENELITIAN 16
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian 16
3.2 Rancangan dan Perlakuan Penelitian 16
3.3 Pembuatan dan Pemberian Ekstrak Daun 17
3.4 Sikronisasi Siklus Estrus dan Proses Pembuntingan 17
3.5 Vaginal Smear 18
3.6 Infeksi *Candida albincans* dan Uji Konfirmasi 18
3.7 Isolasi Limfosit 18
3.8 Analisis Flow cytometri 19
3.9 Analisis Data 19

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 20
4.1 Produksi sitokin IFN-γ 20
4.2 Produksi sitokin TNF-α ($CD4^+$TNF-α) 25
4.3 Produksi sitokin IL-4 ($CD4^+$IL-4) 28

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 31
5.1 Kesimpulan 31
5.2 Saran 31

DAFTAR PUSTAKA 32
LAMPIRAN 36

DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
1	Jamur *Candida albicans*	5
2	Katuk (*Sauropus androgynus*)	8
3	Tapak liman (*Elephantopus scaber*)	10
4	Jumlah relatif sitokin IFN-γ yang diproduksi oleh sel T $CD4^+$ setelah perlakuan dengan kombinasi S. *androgynus* dan E. *scaber* pada trimester yang berbeda	21
5	Jumlah relatif sitokin IFN-γ yang diproduksi oleh sel T $CD8^+$ setelah perlakuan dengan kombinasi S. *androgynus* dan E. *scaber* pada trimester yang berbeda	24
6	Jumlah relatif sitokin TNF-α yang diproduksi oleh sel T $CD4^+$ setelah perlakuan dengan kombinasi S. *androgynus* dan E. *scaber* pada trimester yang berbeda	26
7	Jumlah relatif sitokin IL-4 yang diproduksi oleh sel T $CD4^+$ setelah perlakuan dengan kombinasi S. *androgynus* dan E. *scaber* pada trimester yang berbeda	29

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		Halaman
1	Ethical Clearence	36
2	Kunci Determinasi Tapak Liman (E. *scaber*)	37
3	Kunci Determinasi Katuk (S. *androgynus*)	38
4	Perhitungan Stok Dosis	39
5	Hasil Analisis *Flow cytometry* Jumlah Relatif Sel T $CD4^+$ yang Mengekspresikan Sitokin IFN-γ^+ pada Trimester 1	40
6	Hasil Analisis *Flow cytometry* Jumlah Relatif Sel T $CD4^+$ yang Mengekspresikan Sitokin IFN-γ^+ pada Trimester 2	41
7	Hasil Analisis *Flow cytometry* Jumlah Relatif Sel T $CD4^+$ yang Mengekspresikan Sitokin IFN-γ^+ pada Trimester 3	42
8	Hasil Analisis *Flow cytometry* Jumlah Relatif Sel T $CD8^+$ yang Mengekspresikan Sitokin IFN-γ^+ pada Trimester 1	43
9	Hasil Analisis *Flow cytometry* Jumlah Relatif Sel T $CD8^+$ yang Mengekspresikan Sitokin IFN-γ^+ pada Trimester 2	44
10	Hasil Analisis *Flow cytometry* Jumlah Relatif Sel T $CD8^+$ yang Mengekspresikan Sitokin IFN-γ^+ pada Trimester 3	45
11	Hasil Analisis *Flow cytometry* Jumlah Relatif Sel T $CD4^+$ yang Mengekspresikan Sitokin TNF-α^+ pada Trimester 1	46
12	Hasil Analisis *Flow cytometry* Jumlah Relatif Sel T $CD4^+$ yang Mengekspresikan Sitokin TNF-α^+ pada Trimester 2	47
13	Hasil Analisis *Flow cytometry* Jumlah Relatif Sel T $CD4^+$ yang Mengekspresikan Sitokin TNF-α^+ pada Trimester 3	48
14	Hasil Analisis *Flow cytometry* Jumlah Relatif Sel T $CD4^+$ yang Mengekspresikan Sitokin IL-4^+ pada Trimester 1	49

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

15 Hasil Analisis *Flow cytometry* Jumlah Relatif Sel T $CD4^+$ yang Mengekspresikan Sitokin IL-4^+ pada Trimester 2 50
16 Hasil Analisis *Flow cytometry* Jumlah Relatif Sel T $CD4^+$ yang Mengekspresikan Sitokin IL-4^+ pada Trimester 3 51
17 Hasil Uji Statistik SPSS Jumlah Relatif Sel T $CD4^+$ yang Mengekspresikan Sitokin IFN-γ 52
18 Hasil Uji Statistik SPSS Jumlah Relatif Sel T $CD8^+$ yang Mengekspresikan Sitokin IFN-γ 55
19 Hasil Uji Statistik SPSS Jumlah Relatif Sel T $CD4^+$ yang Mengekspresikan Sitokin TNF-α 58
20 Hasil Uji Statistik SPSS Jumlah Relatif Sel T $CD4^+$ yang Mengekspresikan Sitokin IL-4 61

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

Simbol/Singkatan	Keterangan
TNF	*Tumor Necrosis Factor*
IFN	Interferon
IL-4	Interleukin-4
APC	*Antigen Presenting Cell*
Th	T *helper*
NK	*Natural Killer*
CD	*Cluster of Differentiation*
CFU	*Colony Forming Unit*
FITC	*Fluorescein Isothiocynate*
PE	Polietilena
PBS	*Phosphate Buffer Saline*
pH	Potensial Hidrogen
rpm	rotasi per menit
cm	centimeter
m	meter
mm	milimeter
kg	kilogram
mg	miligram
ml	mililiter

Simbol/Singkatan	Keterangan
α	alfa
γ	gamma
µg	mikrogram
µl	mikroliter

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kehamilan berhubungan erat dengan respon imun maternal. Kehamilan merupakan suatu kondisi dimana terjadi reaksi penolakan oleh sel-sel fagosit ketika zat asing atau antigen berada di saluran reproduksi. Hal ini disebabkan dari gen paternal yang dianggap sebagai protein asing oleh tubuh maternal. Perubahan dalam sistem imun tubuh ibu yaitu dengan menurunnya aktivitas sel T. Di dalam tubuh sel T berfungsi sebagai agen pengontrol infeksi penyakit. Penurunan aktivitas sel T menyebabkan ibu hamil lebih rentan terkena infeksi penyakit (Saito dkk., 2010). Kehamilan secara umum dianggap sebagai kondisi imunosupresi (menekan reaksi sistem imun yang berlebihan). Perubahan respon imun dalam kehamilan dapat menurunkan genetalia dan dapat mempengaruhi kerentanan terhadap infeksi (Guyton, 2000).

Salah satu penyakit yang dapat menyerang genetalia wanita yaitu kandidiasis vulvovaginalis. Kandidiasis vulvovaginalis suatu penyakit yang menyerang mukosa vagina dan disebabkan oleh jamur *Candida albicans*. Kandidiasis vulvovaginalis rentan terjadi pada ibu hamil dan dapat menimbulkan iritasi, gatal dan keputihan (Tasik dkk., 2016). Jamur *Candida albicans* dapat menjadi patogen dan keputihan pada vagina. Perubahan keasaman daerah vagina berkaitan dengan kandidiasis vulvovaginalis, sehingga pH tidak seimbang. Ketidakseimbangan pH dalam vagina menyebabkan pertumbuhan jamur sehingga terjadi infeksi. *Candida albicans* dalam vagina akan dikontrol oleh bakteri vagina agar tetap berada dalam jumlah yang rendah dan seimbang (Habif, 2009).

Penyakit kandidiasis vulvovaginalis dapat diobati dengan menggunakan imunomodulator alami. Imunomodulator alami adalah senyawa tertentu yang terdapat dalam tanaman herbal yang dapat meningkatkan mekanisme pertahanan tubuh (sistem imun) (Ebadi, 2002). Tanaman yang diperkirakan memiliki peran sebagai imunomodulator yaitu tanaman Katuk (*Sauropus androgynus*) dan tanaman Tapak Liman (*Elephantopus scaber).* Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) dan Tapak Liman (*Elephantopus scaber*) mengandung senyawa flavonoid dan saponin. Menurut Faizah &

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Djati (2014), tanaman yang memiliki kandungan flavonoid dan saponin telah dikenal sebagai immunomodulator alami. Saponin dan flavonoid adalah bahan aktif yang dapat meningkatkan respon imunitas tubuh dan meningkatkan jumlah sel-sel imunokompeten seperti makrofag, sel T dan sel B. IFN-γ, TNF-α dan IL-4 merupakan sitokin yang dihasilkan secara endogen oleh sel limfosit T ($CD4^+$ dan $CD8^+$) dan sel *Natural Killer* (NK) yang telah teraktivasi. IFN-γ dan TNF-α berperan dalam aktivasi makrofag dan memiliki fungsi yang sangat penting dalam *cell mediated immunity* terhadap mikroba intraseluler. Sehingga penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas kombinasi ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus*) dan tapak liman (*Elephantopus scaber*) terhadap jumlah relatif produksi sitokin IFN-γ, TNF-α dan IL-4 pada mencit bunting yang terinfeksi *Candida albicans*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana efektivitas kombinasi ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus*) dan tapak liman (*Elephantopus scaber*) terhadap produksi sitokin IFN-γ, TNF-α dan IL-4 pada mencit bunting yang terinfeksi *Candida albicans*?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian bertujuan untuk mengetahui efektivitas kombinasi ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus*) dan tapak liman (*Elephantopus scaber*) terhadap produksi sitokin IFN-γ, TNF-α dan IL-4 pada mencit bunting yang terinfeksi *Candida albicans*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah masyarakat dapat memanfaatkan tumbuhan lokal seperti tanaman katuk (S. *androgynus*) dan tapak liman (E. *scaber*) sebagai alternatif pengganti obat-obatan sintetik untuk mengobati infeksi penyakit kandidiasis vulvovaginalis yang disebabkan oleh jamur *Candida albicans*, serta melakukan pengembangan dalam memanfaatkan tumbuhan yang memiliki potensi sebagai obat alami. Penelitian ini juga bermanfaat sebagai acuan dasar untuk penelitian selanjutnya.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Imunomodulator Alami

Imunomodulator adalah senyawa yang dapat meningkatkan mekanisme pertahanan tubuh baik secara spesifik maupun non spesifik. Imunomodulator merupakan suatu senyawa atau bahan yang masih dalam tingkat eksplorasi dan perdebatan. Imunomodulator berfungsi untuk meningkatkan respon imun dan dapat mengembalikan ketidakseimbangan sistem imun (Ebadi, 2002).

Menurut Felippe (2016), imunomodulator merupakan zat yang mampu memodifikasi atau mempengaruhi fungsi sistem imunitas tubuh. Peran imunomodulator terbagi menjadi dua, yaitu sebagai imunosupresan dan imunostimulan. Imunosupresan yaitu menekan reaksi sistem imun yang berlebihan dan imunostimulan yaitu menstimulasi sistem daya tahan tubuh. Sistem imun terdiri atas semua sel, jaringan dan organ yang diperlukan untuk respon imun. Fungsi sistem imun adalah melindungi tubuh dari patogen dan menghancurkan sel-sel yang telah tidak dikenali sebagai sel tubuh itu sendiri (James, 2008).

Menurut Stengler (2002), imunomodulator adalah substansi atau obat yang dapat memodulasi fungsi dan aktivitas sistem imun. Imunomodulator dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu imunostimulator yang berfungsi untuk meningkatkan fungsi dan aktivitas sistem imun, imunoregulator yang dapat meregulasi sistem imun, dan imunosupresor yang dapat menghambat atau menekan aktivitas sistem imun.

Menurut Tizard (2013), imunomodulator berfungsi meningkatkan kekebalan tubuh dan imunostimulan meningkatkan daya tahan tubuh. Bahan yang dapat menstimulasi sistem imun disebut *Biological Response Modifiers* (BRM), dibagi menjadi dua kelompok yaitu bahan biologis dan sintetik. Yang termasuk bahan biologis diantaranya adalah sitokin (interferon), hormon timus dan antibodi monoklonal, sedangkan bahan sintetik antara lain adalah senyawa *muramil dipeptida* (MDP) dan levamisol.

Imunostimulan merupakan bahan yang dapat merangsang sistem imun tubuh melalui mekanisme respon imun non spesifik dan respon imun spesifik (Schulz, 2004). Senyawa-senyawa yang dapat

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

meningkatkan aktivitas sistem imun biasanya berasal dari golongan flavonoid, kurkumin, limonoid, vitamin C, vitamin E (tokoferol) dan katekin. Kandungan flavonoid merupakan senyawa quercetin yang mampu meningkatkan kerja sistem imun dengan secara cepat menghasilkan leukosit sebagai pemakan antigen dan mengaktifkan sistem limfoid yang dapat meningkatkan aktivitas antibodi (Roit dkk., 1993).

Senyawa flavonoid yang merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas sebagai imunostimulator. Quercetin dan kampherol merupakan senyawa flavonol turunan dari flavonoid yang berperan dalam peningkatan sistem imun dengan cara meningkatkan aktivitas IL-2 dan proliferasi sel limfosit. Sel $CD4^+$ akan mempengaruhi sel limfosit kemudian menyebabkan sel Th1 teraktivasi. Sel Th1 yang teraktivasi akan mempengaruhi SMAF, yaitu molekul-molekul termasuk IFN-γ yang dapat mengaktifkan makrofag (Rauf dkk., 2017). Menurut Faizah & Djati (2014), tanaman yang memiliki kandungan saponin dan flavonoid telah dikenal sebagai immunomodulator alami. Saponin dan flavonoid adalah bahan aktif yang dapat meningkatkan respon imunitas tubuh karena berfungsi sebagai imunomodulator alami terutama meningkatkan jumlah sel-sel imunokompeten seperti makrofag, sel T dan sel B.

2.2 *Candida albicans*

Candida albicans merupakan jamur dimorfik karena kemampuannya untuk tumbuh dalam dua bentuk yang berbeda yaitu sebagai sel tunas yang akan berkembang menjadi blastospora dan menghasilkan kecambah yang akan membentuk hifa semu. Perbedaan bentuk ini tergantung pada faktor eksternal yang mempengaruhinya. Sel ragi (blastospora) berbentuk bulat, lonjong atau bulat lonjong dengan ukuran 2-5 µ x 3-6 µ hingga 2-5,5 µ x 5-28 µ. Jamur Candida tumbuh dengan cepat pada suhu 25-37˚C pada media perbenihan sederhana sebagai sel oval dengan pembentukan tunas untuk memperbanyak diri, dan spora jamur disebut blastospora atau sel ragi/sel khamir (Prasad, 2017).

C. *albicans* memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk hifa semu. Hifa semu terbentuk dengan banyak kelompok blastospora berbentuk bulat atau lonjong di

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

sekitar septum. Pada beberapa strain, blastospora berukuran besar, berbentuk bulat atau seperti botol, dalam jumlah sedikit. Sel ini dapat berkembang menjadi klamidospora yang berdinding tebal dan bergaris tengah sekitar 8-12 μ (Wunderlich, 1999). Sel jamur *Candida albicans* berbentuk bulat, lonjong atau bulat lonjong. Koloninya pada medium padat sedikit timbul dari permukaan medium dengan permukaan halus, licin atau berlipat-lipat, berwarna putih kekuningan dan berbau ragi (Gambar 1). Pada tepi koloni dapat dilihat hifa semu sebagai benang-benang halus yang masuk ke dalam medium. Pada medium cair jamur biasanya tumbuh pada dasar tabung (Griffiths dkk., 2016).

Klasifikasi ilmiah jamur *Candida albicans* adalah sebagai berikut (Griffiths dkk., 2016):

Kingdom: Fungi
Divisi : Ascomycota
Kelas : Saccharomycetes
Ordo : Saccharomycetales
Famili : Saccharomycetes
Genus : *Candida*
Spesies : *Candida albicans*

(Prasad, 2017)

Gambar 1. Jamur *Candida albicans*

C. *albicans* menimbulkan suatu keadaan yang disebut *kandidiasis*, yaitu penyakit pada selaput lendir, mulut, vagina dan saluran pencernaan. Infeksi biasanya terjadi bila ada faktor predisposisi. Faktor-faktor predisposisi utama infeksi C. *albicans* pada hakikatnya

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

dapat dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok pertama menyuburkan pertumbuhan C. *albicans* seperti diabetes mellitus dan kehamilan. Kelompok kedua yaitu memudahkan terjadinya invasi jaringan atau penyakit yang melemahkan tubuh penderita, misalnya penyakit menahun dan pemberian kortikosteroid (Nahmias, 2013).

2.3 Kandidiasis Vulvovaginalis

Kandidiasis merupakan infeksi jamur sistemik yang paling sering dijumpai yang terjadi bila *Candida albicans* masuk ke dalam aliran darah terutama ketika ketahanan fagositik host menurun. Respons imun *cell-mediated* terutama sel CD4 penting dalam mengendalikan kandidiasis (seperti pada kandidiasis), seringkali muncul beberapa bulan sebelum munculnya infeksi oportunistik yang lebih berat (Davey, 2005).

Jamur *Candida albicans* merupakan jamur yang dapat menginfeksi rongga mulut, saluran pencernaan dan vagina. Penyakit infeksi jamur *Candida albicans* pada vagina dinamakan kandidiasis vulvovaginalis. Kandidiasis vulvovaginalis merupakan suatu penyakit organ reproduksi pada wanita yang terdapat infeksi pada mukosa vulva dan vagina yang ditandai dengan adanya keputihan dan gatal dikarenakan terdapat pertumbuhan tidak terkendali oleh jamur *Candida albicans*. Kandidiasis vulvovaginalis dapat menyerang wanita yang memiliki riwayat diabetes dan pada kehamilan. Jamur tumbuh pada daerah vagina yang memiliki kondisi kurang bersih dan lembab. Kandidiasis vulvovaginalis berkaitan dengan beberapa faktor, yaitu penggunaan pembersih kewanitaan, penggunaan antibiotik, dan kurangnya higienis kewanitaan (Tasik dkk., 2016). Menurut Mayer dkk. (2013), pada manusia C. albicans hidup pada tingkat pH dari alkaline sampai asam, sedangkan dalam vagina C. *albicans* hidup pada pH 4.

Vulvovaginitis terjadi menyerupai sariawan tetapi menimbulkan iritasi, gatal yang hebat, dan pengeluaran sekret/lendir. Hilangnya Ph asam merupakan predisposisi timbulnya vulvovaginitis kandida. Dalam keadaan normal Ph yang asam dipertahankan oleh bakteri vagina. Diabetes, kehamilan, progesterone, atau pengobatan antibiotika merupakan predisposisi pada penyakit tersebut (Anurogo, 2016).

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

2.4 Tanaman Katuk (*Sauropus androgynus*)

Katuk (*Sauropus androgynus*) merupakan tanaman perdu yang banyak terdapat di Asia Tenggara. Penyebaran tanaman katuk di Indonesia banyak dijumpai di Jawa (Banyuwangi, Pekalongan, Rembang, Semarang, Jakarta, Purwokerto, Kediri, Pasuruan, Surakarta, Bogor, Subang, Situbondo, Malang, Jepara, Tulungagung, Madiun, dan Madura), Sumatera (Jambi, Palembang, Sibolangit, Padang, Lampung, Bangka, Pulau Enggano), Kalimantan (Anambas, Natuna, Pulau Bunguran), Kepulauan Sunda, dan Maluku. Penyebarannya di luar kawasan Indonesia, antara lain dijumpai di Filipina dan Malaysia (Setyowati, 1997).

Tanaman katuk tumbuh dengan baik di dataran rendah hingga 1300 m dpl dan dapat beradaptasi dengan curah hujan yang sangat tinggi serta tanah berat. Tanaman katuk produktif pada cuaca hangat dan cenderung dorman pada cuaca dingin. Tanaman katuk memiliki tinggi 2-5 m. Batang berkayu, bulat, bekas daun tampak jelas, tegak, daun muda berwarna hijau dan setelah tua berwarna cokelat kehijauan. Daun majemuk, bulat telur, ujung runcing, pangkal tumpul, tepi rata, panjang 1-6 cm, lebar 1-4 cm, pertulangan menyirip, warna hijau. Bunga majemuk berbentuk payung di ketiak daun, mahkota bulat telur, berwarna merah kecoklatan. Buah buni, bulat, beruang tiga, diameter kurang lebih 1,5 mm, berwarna hijau keputih-putihan (Hardiman, 2014).

Katuk (*Sauropus androgynus*) merupakan tanaman obat-obatan tradisional yang memiliki zat gizi tinggi, sebagai antibakteri, dan mengandung beta karoten sebagai zat aktif warna karkas. Senyawa fitokimia yang terkandung di dalamnya adalah saponin, flavonoid, dan tanin. *Isoflavonoid* yang menyerupai estrogen ternyata mampu memperlambat berkurangnya massa tulang (*osteomalasia*), sedangkan saponin terbukti berkhasiat sebagai antikanker, antimikroba, dan meningkatkan sistem imun dalam tubuh (Rukmana, 2008).

Menurut Faizah & Djati (2014), tanaman yang memiliki kandungan saponin dan flavonoid telah dikenal sebagai immunomodulator alami. Saponin dan flavonoid adalah bahan aktif yang dapat meningkatkan respon imunitas tubuh karena berfungsi sebagai imunomodulator alami terutama meningkatkan jumlah sel-sel imunokompeten seperti makrofag, sel T dan sel B. Beberapa

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

penelitian telah membuktikan pemberian ekstrak tanaman yang mengandung saponin maupun flavonoid mampu meningkatkan jumlah sel T CD8+ dan T CD4+.

Klasifikasi ilmiah tumbuhan katuk (*Sauropus androgynus*) adalah sebagai berikut (Ebadi, 2002):

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Euphorbialess
Famili : Euphorbiaceae
Genus : *Sauropus*
Spesies : *Sauropus androgynus*

(Hardiman, 2014)

Gambar 2. Katuk (*Sauropus androgynus*)

Menurut Hardiman (2014), daun katuk mengandung senyawa steroid, polifenol, quercetin dan kaempferol. Menurut Anggarani dkk. (2015), daun katuk mengandung beberapa senyawa kimia, antara lain alkaloid papaverin, protein, lemak, vitamin, mineral, saponin, flavonid dan tanin. Menurut Padmavanthi (1990), daun katuk mengandung alkaloida papaverin, yang jika dikonsumsi secara

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

rutin dapat menimbulkan efek rasa pusing, mabuk dan konstipasi. Menurut Anggarani dkk. (2015), senyawa flavonoid pada tanaman katuk berperan sebagai antibiotik dan antioksidan. Daun katuk dengan kandungan flavonoidnya berpotensi menghambat aktivitas dan pertumbuhan C. *albicans*. Flavonoid dapat berperan secara langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme bakteri, jamur dan virus. Selain itu, flavonoid juga bertindak sebagai antioksidan yang dapat membentuk mekanisme pertahanan sel terhadap kerusakan radikal bebas. Senyawa flavonoid ini merupakan antimikroba karena kemampuannya membentuk ikatan kompleks dengan protein ekstraseluler terlarut serta dinding sel mikroba. Flavonoid juga bersifat lipofilik akan merusak membran mikroba. Manfaat daun katuk yaitu dapat memperbanyak air susu, untuk demam, bisul, borok dan darah kotor. Daun katuk banyak dimanfaatkan sebagai sayuran dan oleh para ibu-ibu yang menyusui anak sebagai pelancar air susu ibu.

Daun katuk mengandung senyawa flavonoid yang merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas sebagai imunostimulator. Quercetin dan kampherol merupakan senyawa flavonol turunan dari flavonoid yang berperan dalam peningkatan sistem imun dengan cara meningkatkan aktivitas IL-2 dan proliferasi sel limfosit. Sel $CD4^+$ akan mempengaruhi sel limfosit kemudian menyebabkan sel Th1 teraktivasi. Sel Th1 yang teraktivasi akan mempengaruhi SMAF, yaitu molekul-molekul termasuk IFN-γ yang dapat mengaktifkan makrofag (Rauf dkk., 2017).

2.5 Tapak Liman (*Elephantopus scaber*)

Tapak liman (*Elephantopus scaber*) merupakan tanaman terna yang berasal dari Amerika di daerah tropis. Tanaman tapak liman telah lama dimasukkan ke pulau Jawa dan hidup di daerah rendah hingga ketinggian tempat kurang dari 1200 m dpl. Tanaman tapak liman sering digunakan sebagai antiinflamasi, analgesik dan laksatif (Dalimartha, 2003).

Tanaman tapak liman merupakan terna tegak dengan rimpang yang menjalar, tinggi 10 cm - 80 cm. Batang kaku, berambut panjang, dan bercabang. Daun berkumpul di bawah, membentuk roset, bentuk daun jorong, bundar telur sungsang, panjang 3 cm sampai 38 cm, lebar 1 cm sampai 6 cm, permukaan daun agak

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

berambut. Bunga berupa tonggol, bergabung banyak, berbentuk bulat telur dan sangat tajam, daun pelindung kaku, daun pembalut dari tiap bunga kepala berbentuk jorong, lanset, sangat tajam, dan berselaput, 4 daun pembalut dibagian dalam panjang 10 mm berambut rapat. Panjang mahkota bunga 7 mm - 9 mm, berbentuk tabung, berwarna putih, ungu, kemerahan, ungu pucat. Buah merupakan buah longkah, panjang 4 mm, berambut; papus berambut kasar, kadang-kadang 6, melebar pada bagian pangkalnya, kaku, berambut, panjang 5 mm - 6 mm (Hariana, 2012).

Klasifikasi ilmiah tumbuhan tapak liman (*Elephantopus scaber*) adalah sebagai berikut (Dalimartha, 2003):

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Asteraless
Famili : Asteraceae
Genus : *Elephantopus*
Spesies : *Elephantopus scaber*

(Dalimartha, 2003)
Gambar 3. Tapak Liman (*Elephantopus scaber*)

Tanaman tapak liman (*Elephantopus scaber*) mengandung flavonoid luteolin-7-glukosida, elephantopin, deoxyelephantopin, isodeoxyelepanthopin, 11, 13 dihydrodeoxyelepanthopin, elephantin, epifridelinol, stigmasterol, triacontan-1-ol, dotriacontan-1-ol, lupeol, lupeol acetat (Dalimartha, 2003). Menurut Hussin dkk. (2016), tanaman tapak liman mengandung senyawa fitokimia dengan aktivitas antimikroba yang dapat melawan jamur patogen. Menurut Anggarani dkk. (2015), flavonoid merupakan suatu kelompok

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

senyawa fenol yang terbesar ditemukan di alam. Tanaman dengan kandungan flavonoid berpotensi sebagai penghambat pertumbuhan jamur C. *albicans*. Menurut Faizah & Djati (2014), tanaman yang memiliki kandungan saponin dan flavonoid telah dikenal sebagai immunomodulator alami. Saponin dan flavonoid adalah bahan aktif yang dapat meningkatkan respon imunitas tubuh karena berfungsi sebagai imunomodulator alami terutama meningkatkan jumlah sel-sel imunokompeten seperti makrofag, sel T dan sel B. Beberapa penelitian telah membuktikan pemberian ekstrak tanaman yang mengandung saponin maupun flavonoid mampu meningkatkan jumlah sel T $CD8^+$ dan T $CD4^+$. Selain itu daun tapak liman juga berkhasiat merangsang proses hematopoesis.

Bagian tanaman yang sering digunakan yaitu daun dan akar. Daun tapak liman (*Elephantopus scaber*) berkhasiat sebagai obat mencret, obat batuk, obat sariawan, obat demam, peluruh kencing (diuretik) sedangkan akar dapat digunakan untuk mengobati malaria. Tanaman tapak liman juga dapat mengobati insomnia, diabetes, reumatik, hepatitis, bronkitis, dan arthralgia. Menurut Dalimartha (2003), Tapak liman digunakan sebagai obat tradisional dalam bentuk ekstrak kering yang dimasukkan dalam kapsul. Tipe penyakit yang dapat diobati dengan tapak liman yaitu beberapa penyakit inflamatori seperti inflamatori pada tonsil, influenza, inflamasi pada mata, inflamasi ginjal, inflamasi akut dan kronis pada uterus atau keputihan. Selain itu, tapak liman juga berfungsi sebagai laksatif pada urin, mengurangi demam, menghilangkan dahak, antioksidan, *booster* darah. Tapak liman juga berguna untuk mengatasi penyakit cacar air dan anemia (Agromedia, 2003).

2.6 Hormon Eksogenus sebagai Sikronisasi Estrus

Menurut Samper (2008), sinkronisasi merupakan suatu pengendalian estrus yang dilakukan pada sekelompok ternak betina sehat dengan memanipulasi mekanisme hormonal, sehingga keserentakan estrus dan ovulasi dapat terjadi pada hari yang sama atau dalam kurun dua sampai tiga hari setelah perlakuan. Sinkronisasi tersebut mengarah pada hambatan ovulasi dan penundaan aktivitas regresi *Corpus Luteum*. Sinkronisasi estrus merupakan teknik manipulasi siklus estrus untuk menimbulkan gejala estrus dan ovulasi pada sekelompok hewan secara bersamaan.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Prinsip sinkronisasi estrus adalah pengendalian siklus estrus yang dapat dilakukan melalui dua metode, yaitu memperpanjang masa luteal dan memperpendek fase luteal. Beberapa metode sinkronisasi estrus telah dikembangkan, antara lain dengan penggunaan sediaan progesteron, Prostaglandin F2alpha (PGF2α), serta kombinasinya dengan *Gonadotropin releasing hormone* (GnRH). Hormon reproduksi yang paling berpengaruh dalam siklus estrus adalah hormon estradiol dan progesteron, pada saat estrus hormon estrogen akan meningkat dan hormon progesteron akan menurun (Ismaya, 2014).

Sikronisasi siklus estrus dapat menggunakan berbagai kombinasi hormon seperti *luteolytic* (prostaglandin F2α, PGF2α) dan progestatif (progesteron). Sekresi PGF2α dapat menyebabkan lisis pada korpus luteum pada mamalia dan memberikan jalan ke fase folikuler dengan perilaku estrus, sehingga akan terjadi ovulasi. Pemberian PGF2α eksogen atau analognya, dapat menginduksi luteolysis secara cepat dan terkontrol. Jika diberikan satu injeksi, beberapa betina akan berada di fase non-luteal atau fase luteal awal dan akan gagal merespon (Pallares & Bulnes, 2009).

2.7 Respon Sel T terhadap Infeksi Jamur

Sistem imun tubuh pada manusia terbentuk dari dua kategori yaitu sistem imun *innate* dan sistem imun *adaptive*. Kedua sistem tidaklah berdiri sendiri namun saling bekerja sama secara sinergis untuk melindungi tubuh dari serangan organisme asing seperti jamur, bakteri ataupun virus. Mekanisme pertahanan tubuh yang paling awal terhadap infeksi jamur adalah sistem imun alamiah yang salah satu komponennya adalah kulit dan membran mukosa. Membran mukosa memiliki unsur-unsur seperti lysozyme (LZM), lactoferrin (Lf), calprotectin, peroxidase, dan defensin yang berperan dalam menghancurkan patogen (Brown, 2001). Lysozyme mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan jamur seperti *Candida* sp. dan *Cryptococcus* sp. (Lopera dkk., 2008). Lactoferrin mampu membatasi kemampuan jamur untuk mendapatkan zat besi dan calprotectin mencegah jamur mendapatkan zinc (Brown, 2001).

Aktivasi sistem imun adaptif adalah hal yang penting dalam menghadapi infeksi jamur. Transisi dari imun alamiah menuju imun adaptif difasilitasi terutama oleh DC dan makrofag yang merupakan

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

antigen presenting cell (APC). APC memproses dan menyajikan antigen jamur ke Sel T Naive $CD4^+$ dalam bentuk berikatan dengan MHC kelas II. DC juga mengaktifkan sel T $CD8^+$ dengan cara presentasi antigen melalui MHC kelas I. Untuk antigen yang masuk melalui jalur eksogen, pengaktifan dari sel $CD8^+$ berlangsung melalui mekanisme *cross-presentation* di mana antigen dimasukkan ke jalur MHC kelas I. Tidak seperti aktivasi sel T yang membutuhkan proses pengolahan antigen, sel B langsung bereaksi terhadap antigen jamur dan mensekresi imunoglobulin yang dapat memengaruhi hasil infeksi (Verma, 2014).

Sel T $CD8^+$ sangat penting untuk perlindungan terhadap virus patogen dan tumor. Pada infeksi jamur pembentukan sel T sitotoksik $CD8^+$ dipacu oleh *DC* melalui proses *cross-presentation* (presentasi antigen eksogen pada *MHC* kelas I). Mekanisme kerja sel T $CD8^+$ adalah dengan melepaskan IFN-γ dan IL-17, dan efek sitotoksik pada sel yang terinfeksi. Pemberian vaksin yang memicu respon sel T $CD8^+$ dapat digunakan sebagai strategi alternatif untuk mencegah infeksi jamur pada pasien dengan kondisi imunokompromis (Schulz, 2004).

2.8 Interferon Gamma (IFN-γ)

Sitokin (*cytokines*) merupakan senyawa protein endogen yang dilepaskan oleh sel-sel untuk saling berkomunikasi (*cross-talk*). Protein endogen memiliki Berat Molekul (BM) yang rendah (10.30) kDa) dan memperantarai berbagai fungsi yang terkait dengan sistem imunitas dan berbagai organ dalam tubuh, seperti proliferasi dan diferensiasi sel, fibrosis, hematopoiesis, inflamasi, dan perbaikan jaringan yang cedera. Sitokin dihasilkan oleh sel leukosit dan berbagai sel dalam tubuh (Ikawati, 2018).

Sitokin proinflamasi diproduksi oleh sel T CD4, CD8 dan sel NK (*Natural Killer*) teraktivasi. Contoh sitokin proinflamasi yaitu *Tumor Necrosis Factor* (TNF), interleukin (IL-1), dan Interferon-γ (IFN-γ) yang bekerja membantu sel untuk menghancurkan mikroorganisme yang menginfeksi. Dalam mengatur respon imun, IFN-γ berfungsi sebagai aktivator potensial untuk fagosit mononuklear. IFN-γ dapat secara langsung menginduksi sintesis enzim respiratory burst sehingga makrofag dapat membunuh mikroorganisme yang difagositnya. Selain itu IFN-γ juga dapat mengaktivasi neutrophil,

meningkatkan *respiratory burst*, adhesi sel T-CD4, dan perubahan morfologik yang memudahkan ekstravasasi limfosit (Antari, 2017).

Interferon (IFN) merupakan jenis protein yang tergabung ke dalam keluarga besar sitokin. Interferon dibagi ke dalam 2 jenis berdasarkan struktur, fungsi, dan stimulus yang merangsang ekspresi protein ini, yaitu: (i) IFN tipe I yang muncul saat merespon adanya infeksi virus, terbagi ke dalam beberapa kelas yaitu IFN (-a, -ß, -e, -., -., -d, -t). (ii) IFN tipe II, yang disebut juga dengan IFN-γ, yang disekresikan oleh sel sel yang telah mendapatkan rangsangan dari berbagai stimulus inflamasi maupun reaksi imun lainnya. Interferon-γ merupakan produk dari gen tunggal yang berasal kromosom 12 (pada manusia) dan kromosom 10 (pada mencit). Peran alami yang dimainkan oleh IFN-γ adalah sebagai modulator sistem imun (Wahyuni, 2017).

IFN-γ terutama dihasilkan secara endogen oleh sel limfosit T ($CD4^+$ dan $CD8^+$) dan sel Natural Killer (NK) yang telah teraktivasi akibat adanya respon terhadap stimulus antigen spesifik. IFN-γ merupakan sitokin utama yang berperan dalam aktivasi makrofag dan memiliki fungsi yang sangat penting dalam *cell mediated immunity* terhadap mikroba intraseluler. Terdapat dua jalur mekanisme produksi IFN-γ yang telah ditemukan dengan menggunakan sel T $CD4^+$, yaitu: (i) *T cell receptor* (TCR) *antigen-dependent pathway*, *cyclosporinesensitive*, dan (ii) *cytokine-induced, cyclosporine-insensitive pathway*. Secara eksperimental, produksi IFN-γ juga dapat diinduksi dengan menggunakan stimulus yang menyerupai aktivasi via TCR, yaitu meliputi penggunaan mitogen (seperti *concanavalin* A atau *phytohemaglutinin*), *cross-linking antibodies*, atau agen-agen farmakologis (seperti kombinasi *phorbol myristate acetate* dan *calcium ionophore*) (Wahyuni, 2017).

2.9 *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF-α)

Sitokin merupakan suatu glikoprotein yang berasal dari sel T helper, sel *natural killer* (NK) dan makrofag, yang memiliki peranan penting untuk respon tubuh melawan infeksi. Sel T helper terdiri dari dua subset yang menghasilkan sitokin pengatur yang berbeda untuk fungsi imun efektor dan dapat bereaksi satu sama lain. Sel T helper tipe I (Th-1) menghasilkan IL-2, TNF-α dan IFN-γ. Sitokin ini dapat mengaktifkan makrofag untuk membentuk sitokin proinflamasi

seperti TNF-α, IL-1 dan IL-6 dan menginduksi mekanisme imun efektor sitotoksik dari makrofag. Sedangkan sel T helper tipe 2 (Th-2) menghasilkan IL-4, IL-5, IL-10 dan IL-13. Sitokin ini dapat menginduksi pembentukan antibodi tetapi juga menghambat fungsi makrofag yang disebut dengan sitokin antiinflamasi (Irawati dkk, 2008).

Sitokin merupakan mediator mayor pada sistem imun yang terstimulasi akibat dari respon inflamasi. Sitokin dapat dibedakan menjadi dua yaitu sitokin proinflamasi dan antiinflamasi. Sitokin antiinflamasi terdiri dari IL-4 dan TGF-β, sedangkan sitokin proinflamasi terdiri dari IL-1β, IL-2, TNF-α, IL-6, IL-8 dan IFN-γ. Produksi sitokin proinflamasi dapat terstimulasi saat terjadi inflamasi karena terjadi aktivasi transkripsi faktor (Penstiowati, 2016).

2.10 Interleukin 4 (IL-4)

Sel T-helper CD4 (Th) memproduksi 2 jenis sitokin yang berbeda. Sel Th1 menghasilkan IFN-γ dan IL-2. Sel Th2 menghasilkan IL-3, IL-4, IL-5, IL10 dan IL-13. IL-4 merupakan glikoprotein 18-20 kD terdiri dari 153 asam amino yang diproduksi oleh sel T, sel mast dan sel basofil. Produksi IL-4 cepat dan bersifat transient. Sitokin Th1 menghambat produksi sitokin Th2 dan sebaliknya. IL-4 diproduksi oleh sel T dan sel mast yang teraktivasi serta memiliki efek pro-inflamasi maupun anti-inflamasi. Interleukin 4 (IL-4) dapat mempengaruhi perkembangan sel T-helper (Th) dan meningkatkan respon imunitas humoral di tubuh. IL-4 merupakan prototip sitokin Th2 yang dapat meningkatkan diferensiasi sel Th0 menjadi efektor Th1 dan Th2 (Sargowo, 2015).

IL-4 merupakan sitokin pleiotropik yang dapat meregulasi alergi dan berfungsi sebagai imuno-protektif dalam melawan parasit ekstraseluler. IL-4 merupakan sitokin utama perkembangan sel Th2 dan juga menekan perkembangan sel Th1 dan menginduksi sel B melakukan *class-switching* menghasilkan IgE. IL-4 meningkatkan ekspresi MHC kelas II pada sel B, meningkatkan ekspresi reseptor sel B, memperpanjang rentang hidup sel T dan B dalam biakan kultur, dan memediasi adesi jaringan dan proses inflamasi.IL-4 merupakan sitokin yang menginduksi diferensiasi sel T helper naive (Th0 *cells*) menjadi Th2 (Rifa'i, 2018).

BAB III
METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2018 – Juli 2019, yang dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi, Struktur dan Perkembangan Hewan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.

3.2 Rancangan dan Perlakuan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan tujuh perlakuan dan tiga pengulangan untuk setiap perlakuan dan tiga kelompok bedah. Sehingga mencit betina yang digunakan dalam penelitian yaitu berjumlah 63 ekor.

Penelitian ini menggunakan model hewan coba mencit jantan dan betina (*Mus musculus*) Balb/c. Mencit yang berumur 6 minggu dengan kondisi sehat, aktif bergerak, dan tidak mengalami kecacatan. Mencit yang akan digunakan tersebut diaklimasi selama 7 hari. Mencit tersebut diletakkan pada bak plastik sebagai kandang dan bagian atas bak atau kandang ditutup dengan kawat. Bagian dalam kandang diberi sekam (serut kayu) yang digunakan sebagai alas. Kemudian terdapat botol air dan makanan mencit. Kandang mencit selalu dijaga kebersihannya dengan mengganti sekam maksimal 3 hari sekali. Makanan yang diberikan secara teratur.

Kelompok perlakuan mencit terdiri atas perlakuan kontrol dan perlakuan pemberian ekstrak, yaitu sebagai berikut:

K- : Mencit bunting tidak diberikan infeksi *Candida albicans* dan tidak diberi kombinasi ekstrak.

K+: Mencit bunting diberikan infeksi *Candida albicans* dan tidak diberikan kombinasi ekstrak.

P1 : Mencit bunting diberikan infeksi *Candida albicans* dengan pemberian ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus*) 100%.

P2 : Mencit bunting diberikan infeksi *Candida albicans* dengan pemberian ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus*) 75% dan tapak liman (*Elephantopus scaber*) 25%.

P3 : Mencit bunting diberikan infeksi *Candida albicans* dengan pemberian ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus*) 50% dan tapak liman (*Elephantopus scaber*) 50%.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

P4 : Mencit bunting diberikan infeksi *Candida albicans* dengan pemberian ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus*) 50% dan tapak liman (*Elephantopus scaber*) 75%.
P5 : Mencit bunting diberikan infeksi *Candida albicans* dengan pemberian ekstrak daun tapak liman (*Elephantopus scaber*) 100%.

3.3 Pembuatan dan Pemberian Ekstrak Daun

Daun segar tapak liman (E. *scaber*) dan katuk (S. *androgynus*) didapatkan dari Balai Materia Medica Batu, Malang, Indonesia. Daun segar tapak liman (E. *scaber*) dan katuk (S. *androgynus*) dikeringkan pada suhu ruang. 1 kg daun kering pada tanaman tersebut digiling sampai menjadi bubuk. Bubuk daun tersebut dimaserasi dalam 70% etanol pada suhu suhu ruang selama 24 jam. Ekstrak etanol disaring dan diuapkan pada suhu 50˚C dengan menggunakan pompa vacuum evaporator. Ekstrak ethanol tanaman yang kental ditimbang sesuai dengan hasil rumus yang digunakan dan dilarutkan dalam air mineral untuk untuk digunakan dalam percobaan penelitian. Dosis tapak liman (E. *scaber*) dan katuk (S. *androgynus*) yaitu 150 mg/kg dari berat badan mencit. Pemberian kombinasi ekstrak daun tapak liman (E. *scaber*) dan katuk (S. *androgynus*) pada hari pertama kebuntingan. Pemberian kombinasi ekstrak daun diberikan kepada mencit secara oral sesuai dengan kelompok perlakuan hingga dilakukan pembedahan.

.

3.4 Sikronisasi Siklus Estrus dan Proses Pembuntingan

Mencit betina yang telah diaklimasi diinjeksi dengan menggunakan hormon. Mencit betina diinjeksi dengan 2 dosis 0,5 µg cloprostenol secara intraperitoneal pada hari ke-3 sebelum pembuntingan dan hari ke-0 pembuntingan. Kemudian dilakukan injeksi dengan 1 dosis 3 µg progesteron secara subkutan pada hari ke-3 sebelum pembuntingan. Proses pembuntingan dilakukan dengan cara mencit jantan dan betina dikumpulkan pada satu kandang dengan perbandingan 1:2 pada hari ke-0 pembuntingan. Lalu pada pagi hari diamati vaginal plug untuk memastikan kebuntingan mencit. Jika masih tidak ditemukan adanya vaginal plug, maka diuji dengan *vaginal smear*.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

3.5 Vaginal Smear

Metode *vaginal smear* yang dilakukan yaitu dengan cara cotton bud dibilas dengan aquades dan dimasukkan ke dalam vagina mencit betina dengan sudut 45˚. *Cotton bud* diusap sebanyak 2-3 kali putaran untuk dibuat preparat apusan. Preparat kemudian dimasukkan ke dalam larutan alkohol fiksatif 70% selama 5 menit kemudian diangkat dan dikeringanginkan. Setelah itu di tetesi pewarna Giemsa selama 10 menit kemudian dibilas air kran dan dikeringanginkan. Preparat yang telah jadi diamati morfologi sel epitel dengan menggunakan mikroskop perbesaran 400x.

3.6 Infeksi *Candida albicans* dan Uji Konfirmasi

Pemberian infeksi *Candida albicans* ke mencit betina dilakukan pada hari ke-5 kebuntingan. *Candida albicans* diinokulasi dengan menggunakan stok koloni subkultur dari media Saboraud Dextrose Agar (SDA). Mencit diinokulasi C. *albicans* sebanyak 40 µl suspensi yang mengandung 10^5 CFU/ml C. *albicans* sebagai inokulum yang diinokulasikan ke dalam vagina mencit betina. Infeksi C. *albicans* menggunakan mikropipet yang dimasukkan ke dalam bagian lumen vagina mencit.

Uji konfirmasi mencit terinfeksi C. *albicans* dilakukan pada hari ketujuh kebuntingan. Mencit yang telah diinfeksi *Candida albicans* dilakukan uji konfirmasi vagina lavage dengan cara dipegang pada bagian bawah pangkal ekor mencit betina dengan dua jari sehingga lubang vagina terbuka. Lalu lumen vagina dialiri dengan 40 µl PBS dan cairan dikumpulkan ke dalam mikrotube. Cairan yang dikumpulkan ditanam sebanyak 20 µl ke media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA). Kemudian dilakukan inkubasi selama 48-72 jam pada suhu ruang untuk melihat keberadaan *Candida albicans*.

3.7 Isolasi Limfosit

Pembedahan mencit dilakukan pada hari ke-10, ke-14, dan ke-18 kebuntingan. Mencit didislokasi pada bagian leher pada papan bedah, bagian ventral mencit disemprot dengan alkohol 70% dan diambil organ limpa. Limpa hasil isolasi digerus dengan pangkal spuit dalam cawan berisi *Phosphate Buffer Saline* (PBS) dan disaring menggunakan *wire*. Suspensi sel tersebut dipindah ke dalam tabung

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

propilen dan disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 5 menit pada suhu 10ºC. Pelet diresuspensi dengan 1 mL PBS untuk diambil 60 µl kemudian dimasukkan dalam microtube berisi 500 µl PBS untuk disentrifugasi kembali pada 1500 rpm suhu 100˚C. selama 5 menit.

3.8 Analisis *Flow cytometry*

Analisis *Flow cytometry* dapat digunakan untuk mendeteksi populasi sel yang mengekspresikan $CD4^+$, $CD8^+$, IFN-γ, TNF-α dan IL-4. Kombinasi antibodi yang digunakan yaitu:

1. FITC-*conjugated rat anti-mouse* CD4, PE-*conjugated rat anti-mouse* CD8 dan PE/Cy5-*conjugated rat anti-mouse* IFN-γ.
2. FITC-*conjugated rat anti-mouse* CD4, PE-*conjugated rat anti-mouse* TNF-α dan PE/Cy5-*conjugated rat anti-mouse* IL-4.

Suspensi sel dipindahkan ke dalam *cuvet flow cytometer*, ditambah 500 µl PBS berisi antibodi dan dihomogenkan. Kemudian diinkubasi sekitar 20 menit. Setelah itu dilakukan koneksi antara komputer dan *flow cytometer* yang telah berada pada keadaan aquiring. Setelah semua instrum siap, cuvet dipasang pada nozzle BD Bioscience FACS Calibur TM *Flow cytometry* . Data dari *flow cytometer* selanjutnya diolah dengan software BD CellQuest Pro™ dan ditampilkan dalam bentuk histogram.

3.9 Analisis Data

Jumlah produksi sitokin IFN-γ, TNF-α dan IL-4 dianalisis menggunakan *parametric two way* ANOVA dengan tingkat kepercayaan $p < 0,05$ (95%). Desain penelitian menggunakan rancangan acak lengkap. Apabila terdapat perbedaan nyata pada masing-masing perlakuan, dilanjutkan dengan uji Duncan.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Produksi sitokin IFN-γ

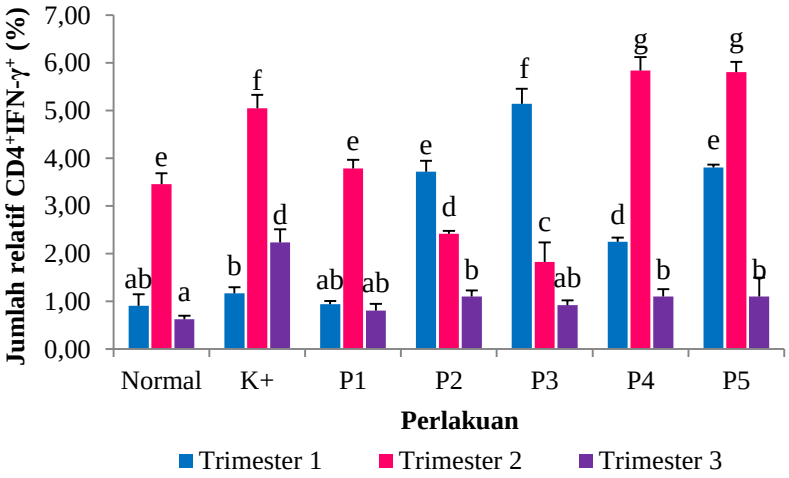
4.1.1 Produksi sitokin IFN-γ oleh sel T $CD4^+$ ($CD4^+IFN\text{-}\gamma^+$)

Respon imun terhadap suatu infeksi salah satunya yaitu melalui respon inflamasi. IFN-γ merupakan sitokin proinflamasi yang berperan dalam proses inflamasi. Infeksi *Candida albicans* akan mengaktivasi limfosit sel T $CD4^+$ sehingga meningkatkan produksi sitokin proinflamasi seperti IFN-γ. Berdasarkan hasil analisis *Flow cytometry* (Gambar 4) didapatkan variasi jumlah relatif sitokin IFN-γ yang diproduksi oleh sel T $CD4^+$. Hasil analisis pada trimester 1 (hari kebuntingan ke-10) menunjukkan tidak adanya perbedaan nyata pada jumlah sitokin IFN-γ antara kelompok mencit normal (K-) dengan kelompok mencit yang terinfeksi *Candida albicans*, pada kelompok mencit normal jumlah sitokin IFN-γ yang terekspresi adalah sekitar 0,91% sedangkan pada kelompok mencit yang terinfeksi *Candida albicans* adalah sekitar 1,17%. Hasil analisis pada trimester 2 (hari kebuntingan ke-14) sitokin IFN-γ yang terekspresi pada kelompok mencit normal adalah sekitar 3,46% dan pada kelompok mencit yang terinfeksi *Candida albicans* adalah sekitar 5,05%. Hasil analisis pada trimester 3 (hari kebuntingan ke-18) sitokin IFN-γ yang terekspresi pada kelompok mencit normal adalah sekitar 0,63% dan pada kelompok mencit yang terinfeksi *Candida albicans* adalah sekitar 2,24%. Berdasarkan Gambar 4, terdapat perbedaan yang signifikan ($P \leq 0,05$) antara kelompok mencit normal dengan kelompok mencit yang terinfeksi *Candida albicans* pada trimester 2 (hari kebuntingan ke-14) dan trimester 3 (hari kebuntingan ke-18).

Presentase jumlah sitokin IFN-γ pada kelompok mencit yang terinfeksi C. *albicans* lebih tinggi dari pada kelompok mencit normal pada tiap trimester. Hal tersebut menunjukkan bahwa terjadi peningkatan jumlah sitokin IFN-γ yang diproduksi oleh sel T $CD4^+$ pada kelompok mencit yang terinfeksi *Candida albicans*. Menurut Sardjono (2005), infeksi suatu parasit pada mencit bunting menyebabkan produksi IFN-γ meningkat, karena terjadi peningkatan respon imun yang berkaitan dengan meningkatnya aktivitas sel terhadap antigen. IFN-γ merupakan sitokin Th1 yang berperan

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

sebagai mediator utama dalam proses penanganan infeksi, termasuk infeksi *Candida albicans*. Jumlah sitokin IFN-γ pada kelompok mencit normal mengalami peningkatan pada trimester 2 dan menurun pada trimester 3 (Gambar 4). Menurut Purnamasari (2004), mencit bunting yang normal memiliki jumlah sitokin IFN-γ yang meningkat dari trimester 1 ke trimester 2 dan menurun pada trimester 3 atau saat mendekati kelahiran. Peningkatan jumlah sitokin IFN-γ diperlukan untuk implantasi yang normal dan kelangsungan hidup sel.



Gambar 4. Jumlah relatif sitokin IFN-γ yang diproduksi oleh sel T CD4⁺ setelah perlakuan dengan kombinasi *S. androgynus* dan *E. scaber* pada trimester yang berbeda. Data diperoleh dari rata-rata ± SD pada masing-masing perlakuan dengan $p \leq 0,05$. Huruf yang berbeda menunjukkan beda nyata berdasarkan Uji Duncan.

Menurut Purnamasari (2004), sel T CD4⁺ berperan penting dalam pertahanan terhadap suatu infeksi. Apabila terjadi infeksi, maka akan terjadi respon imun Th1 yaitu sel T CD4⁺ akan secara langsung memproduksi sitokin proinflamasi seperti IFN-γ. Menurut Wuthrich dkk. (2012), respon imun Th1 berperan penting dalam pertahanan tubuh melawan infeksi jamur patogen. Sel Th1 mengatur respon

imun melalui pelepasan sitokin proinflamasi seperti IFN-γ. IFN-γ menginduksi aktivasi makrofag dalam menekan pertumbuhan jamur patogen intraseluler. Berdasarkan Gambar 4, jumlah sitokin IFN-γ pada kelompok mencit bunting yang terinfeksi C. *albicans* mengalami peningkatan pada trimester 2 dan kemudian menurun pada trimester 3. Dalam penelitian ini, mencit bunting diinfeksi C. *albicans* pada hari ke-5 kebuntingan atau pada saat trimester satu. Menurut Purnamasari (2004), kadar hormon progesteron yang dihasilkan akan semakin tinggi seiring dengan bertambahnya umur kebuntingan, sehingga respon imun ke arah Th2 semakin kuat, sedangkan respon imun ke arah Th1 semakin berkurang. Jadi, apabila infeksi C. *albicans* terjadi pada trimester satu pada saat kadar hormon progesteron rendah dan Th2 juga rendah, sedangkan respon Th1 tinggi, maka menyebabkan peningkatan produksi IFN-γ dari trimester 1 hingga ke trimester 2. Jumlah IFN-γ menurun pada trimester 3 karena hormon progesteron meningkat sehingga respon imun Th2 juga meningkat. Menurut Miyaura & Iwata (2002), progesteron menyebabkan penurunan produksi IFN-γ. Diketahui bahwa Th2 menghambat respon imun Th1 yang menyebabkan menurunnya jumlah sitokin IFN-γ yang dihasilkan oleh sel T $CD4^+$ (Robert, 2001).

Berdasarkan hasil analisis menunjukkan adanya perubahan jumlah sitokin IFN-γ yang diproduksi oleh sel T $CD4^+$ pada kelompok mencit perlakuan yang diberi kombinasi ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus*) dan tapak liman (*Elephantopus scaber*) (Gambar 4). Setelah pemberian ekstrak daun katuk (S. *androgynous*) dan tapak liman (S. *scaber*) pada kelompok mencit perlakuan P1 (100% S. *androgynus*) menunjukkan adanya perbedaan nyata dengan kelompok mencit yang terinfeksi C. *albicans*) ($P \leq 0,05$). Jumlah IFN-γ pada kelompok mencit perlakuan P1 dari trimester 1 hingga trimester 3 secara berturut-turut adalah 0,94%, 3,79% dan 0,81%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa setelah pemberian ekstrak, jumlah IFN-γ pada kelompok mencit perlakuan P1 (100% S. *androgynus*) mengalami penurunan hampir mendekati normal pada trimester 1 hingga trimester 3. Menurut Asfi & Djati (2014), senyawa aktif flavonoid dan saponin yang terdapat pada daun katuk dan tapak liman memiliki kemampuan imunosupresan, sehingga mampu menurunkan jumlah sitokin IFN-γ pada mencit bunting yang terinfeksi C. *albicans*.

4.1.2 Produksi sitokin IFN-γ oleh sel T $CD8^+$ ($CD8^+IFN\text{-}\gamma^+$)

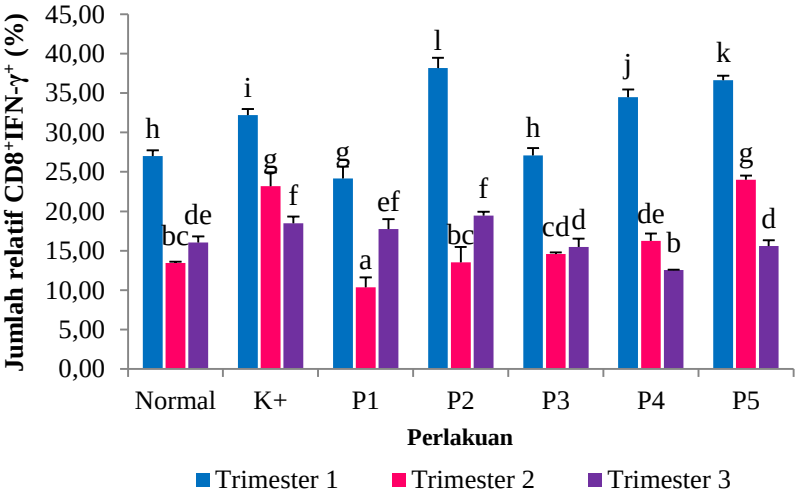
Respon imun terhadap suatu infeksi salah satunya yaitu melalui respon inflamasi oleh sitokin proinflamasi seperti IFN-γ. Infeksi *Candida albicans* akan mengaktivasi limfosit sel T $CD8^+$ sehingga meningkatkan produksi sitokin proinflamasi seperti IFN-γ. Berdasarkan analisis *Flow cytometry* (Gambar 5) didapatkan variasi jumlah relatif sitokin IFN-γ yang diproduksi oleh sel T $CD8^+$. Hasil analisis pada trimester 1 hingga trimester 3 menunjukkan adanya perbedaan nyata ($P \leq 0,05$) jumlah sitokin IFN-γ yang diproduksi oleh sel T $CD8^+$ antara kelompok mencit normal (K-) dengan kelompok mencit yang terinfeksi *Candida albicans* (sakit). Hasil analisis pada trimester 1 (hari kebuntingan ke-10) sitokin IFN-γ yang terekspresi pada kelompok mencit normal adalah sekitar 26,99% dan pada kelompok mencit yang terinfeksi *Candida albicans* adalah sekitar 32,19%. Hasil analisis pada trimester 2 (hari kebuntingan ke-14) sitokin IFN-γ yang terekspresi pada kelompok mencit normal adalah sekitar 13,43% dan pada kelompok mencit yang terinfeksi *Candida albicans* adalah sekitar 23,21%. Hasil analisis pada trimester 3 (hari kebuntingan ke-18) sitokin IFN-γ yang terekspresi pada kelompok mencit normal adalah sekitar 16,05% dan pada kelompok mencit yang terinfeksi *Candida albicans* adalah sekitar 18,46%. Hal tersebut menunjukkan bahwa terjadi peningkatan jumlah sitokin IFN-γ yang terekpresi dari sel T $CD8^+$ pada kelompok mencit terinfeksi *Candida albicans* pada tiap trimester.

Menurut Harijanto (2000), sel sitotoksik ($CD8^+$) merupakan sel yang berperan langsung untuk fagositosis. Sel tersebut akan memproduksi IFN-γ jika terjadi infeksi. Sehingga jumlah sitokin IFN-γ pada kelompok mencit yang terinfeksi mengalami peningkatan. Jumlah sitokin IFN-γ pada kelompok mencit normal mengalami penurunan dari trimester 1 ke trimester 2 dan meningkat pada trimester 3. Menurut Purnamasari (2004), mencit bunting yang normal memiliki jumlah sitokin IFN-γ yang meningkat dari hari kebuntingan ke-6 hingga ke-10. Peningkatan jumlah sitokin IFN-γ diperlukan untuk implantasi dan kelangsungan hidup sel.

Jumlah sitokin IFN-γ pada kelompok mencit terinfeksi *Candida albicans* mengalami penurunan dari trimester 1 hingga trimester 3. Menurut Purnamasari (2004), produksi IFN-γ merupakan respon imun melawan infeksi. IFN-γ diproduksi oleh makrofag dan sel

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

limfosit T, seperti sel T CD8^{+}. Oleh sebab itu, maka kelompok mencit bunting yang terinfeksi C. *albicans* mengalami peningkatan jumlah sitokin IFN-γ. Menurut Lin dkk. (2005), pada infeksi jamur pembentukan sel T sitotoksik CD8^{+} dipacu oleh DC (*Dendrit Cell*) melalui proses presentasi antigen pada MHC kelas I. Sel T CD8+ mengenali antigen yang dipaparkan oleh molekul MHC I. Oleh sebab itu, molekul MHC I dapat ditemukan pada sel-sel tubuh yang memiliki nukleus, maka sel T CD8+ dengan mudah memonitor sel jika terjadi tanda-tanda infeksi. Sehingga sel T CD8+ akan diaktivasi menjadi sel T efektor setelah bertemu langsung dengan antigen pada APC dan akan memproduksi sitokin proinflamasi seperti IFN-γ (Roffico & Djati, 2014).



Gambar 5. Jumlah relatif sitokin IFN-γ yang diproduksi oleh sel T CD8^{+} setelah perlakuan dengan kombinasi S. *androgynus* dan E. *scaber* pada trimester yang berbeda. Data diperoleh dari rata-rata ± SD pada masing-masing perlakuan dengan $p \leq 0,05$. Huruf yang berbeda menunjukkan beda nyata berdasarkan Uji Duncan.

Penurunan pada kelompok mencit yang terinfeksi C. *albicans* pada trimester 1 hingga trimester 3 terjadi karena respon imun Th1 terhambat oleh Th2. Selain itu pada akhir trimester 2 hingga trimester 3 kadar hormon progesteron meningkat dan respon imun Th2 juga meningkat. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan Purnamasari (2004), seiring bertambahnya umur kebuntingan, kadar hormon progesteron yang dihasilkan akan semakin tinggi sehingga respon imun ke arah Th2 semakin kuat. Menurut Miyaura & Iwata (2002), progesteron menyebabkan penurunan produksi IFN-γ. Diketahui bahwa Th2 menghambat respon imun Th1 yang menyebabkan menurunnya jumlah sitokin IFN-γ yang dihasilkan oleh sel T $CD8^+$ (Robert, 2001).

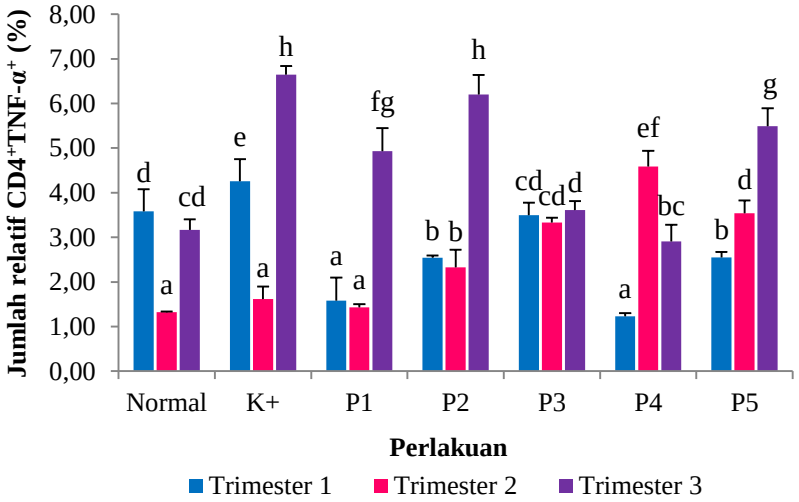
Berdasarkan hasil analisis menunjukkan adanya perubahan jumlah sitokin IFN-γ yang diproduksi oleh sel T $CD8^+$ pada kelompok mencit perlakuan yang diberi kombinasi ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus*) dan tapak liman (*Elephantopus scaber*) (Gambar 5). Setelah pemberian ekstrak daun katuk (S. *androgynous*) dan tapak liman (S. *scaber*) pada kelompok mencit perlakuan P3 (50% S. *androgynous* dan 50% E. *scaber*) menunjukkan adanya perbedaan nyata dengan kelompok mencit yang terinfeksi C. *albicans*) ($P \leq 0,05$). Jumlah IFN-γ pada kelompok mencit perlakuan P3 dari trimester 1 hingga trimester 3 secara berturut-turut adalah 27,08%, 14,58% dan 15,48%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa setelah pemberian ekstrak, jumlah IFN-γ pada kelompok mencit perlakuan P3 (50% S. *androgynous* dan 50% E. *scaber*) mengalami penurunan hampir mendekati normal pada tiap trimester. Menurut Asfi dan Djati (2014), senyawa aktif flavonoid dan saponin yang terdapat pada daun katuk dan tapak liman memiliki kemampuan imunosupresan, sehingga mampu menurunkan jumlah sitokin IFN-γ pada mencit bunting yang terinfeksi C. *albicans*.

4.2 Produksi sitokin TNF-α ($CD4^+TNF\text{-}\alpha^+$)

TNF-α memiliki kemampuan untuk menjadi mediator penting dari inflamasi, contohnya infeksi *Candida albicans*. Berdasarkan analisis *Flow cytometry* didapatkan variasi jumlah relatif sitokin TNF-α yang diproduksi oleh sel T $CD4^+$. Hasil analisis pada trimester 1 dan trimester 3 menunjukkan adanya perbedaan nyata jumlah sitokin TNF-α yang diproduksi oleh sel T $CD4^+$ antara

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

kelompok mencit normal (K-) dengan kelompok mencit yang terinfeksi *Candida albicans* ($P \leq 0,05$), namun pada trimester 2 tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata. Hasil analisis pada trimester 1 (hari kebuntingan ke-10) sitokin TNF-α yang terekspresi pada kelompok mencit normal adalah sekitar 3,58% dan pada kelompok mencit yang terinfeksi *Candida albicans* adalah sekitar 4,26%. Hasil analisis pada trimester 2 (hari kebuntingan ke-14) sitokin TNF-α yang terekspresi pada kelompok mencit normal adalah sekitar 1,32% dan pada kelompok mencit yang terinfeksi *Candida albicans* adalah sekitar 1,62%. Hasil analisis pada trimester 3 (hari kebuntingan ke-18) sitokin 5 TNF-α yang terekspresi pada kelompok mencit normal adalah sekitar 3,17% dan pada kelompok mencit yang terinfeksi *Candida albicans* adalah sekitar 6,65%.



Gambar 6. Jumlah relatif sitokin TNF-α yang diproduksi oleh sel T $CD4^+$ setelah perlakuan dengan kombinasi S. *androgynus* dan E. *scaber* pada trimester yang berbeda. Data diperoleh dari rata-rata ± SD pada masing-masing perlakuan dengan $p \leq 0,05$. Huruf yang berbeda menunjukkan beda nyata berdasarkan Uji Duncan.

Persentase jumlah sitokin TNF-α yang terekspresi dari sel T $CD4^+$ pada kelompok mencit yang terinfeksi lebih tinggi dari pada kelompok mencit normal tiap trimester. Hal tersebut menunjukkan bahwa terjadi peningkatan jumlah sitokin TNF-α yang terekspresi dari sel T $CD4^+$ pada kelompok mencit yang terinfeksi *Candida albicans* (Gambar 6). Menurut Sardjono (2005), infeksi suatu parasit pada mencit bunting menyebabkan peningkatan produksi TNF-α, karena terjadi peningkatan respon imun yang berkaitan dengan meningkatnya aktivitas sel terhadap antigen. TNF-α merupakan sitokin Th1 yang berperan sebagai mediator utama dalam proses penanganan infeksi, termasuk infeksi *Candida albicans*.

Jumlah sitokin TNF-α pada kelompok mencit normal dan mencit terinfeksi C. *albicans* mengalami penurunan dari trimester 1 ke trimester 2. Namun jumlah TNF-α meningkat pada trimester 3 (Gambar 6). Menurut Purnamasari (2004), mencit bunting yang normal memiliki jumlah sitokin proinflamasi seperti TNF-α yang meningkat dari hari kebuntingan ke-6 hingga ke-10. Kadar progesteron akan menurun saat mendekati hari kelahiran (hari kebuntingan ke-18-21). Sehingga pada trimester 3 (hari kebuntingan ke-18) kadar progesteron menurun dan respon imun Th1 menjadi tinggi. Oleh sebab itu, maka jumlah sitokin TNF-α yang diproduksi oleh sel T $CD4^+$ akan meningkat.

Berdasarkan hasil analisis menunjukkan adanya perubahan ekspresi sitokin TNF-α yang diproduksi oleh sel T $CD4^+$ pada kelompok mencit yang diberi kombinasi ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus*) dan tapak liman (*Elephantopus scaber*) (Gambar 6). Setelah pemberian ekstrak daun katuk (S. *androgynous*) dan tapak liman (S. *scaber*) pada kelompok mencit perlakuan P3 (50% S. *androgynous* dan 50% E. *scaber*) menunjukkan adanya perbedaan nyata dengan kelompok mencit yang terinfeksi C. *albicans*) ($P \leq 0,05$). Jumlah TNF-α pada kelompok mencit perlakuan P4 dari trimester 1 hingga trimester 3 secara berturut-turut adalah 3,50%, 3,33% dan 3,61%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa setelah pemberian ekstrak, jumlah TNF-α pada kelompok mencit perlakuan P3 (50% S. *androgynous* dan 50% E. *scaber*) mengalami penurunan hampir mendekati normal pada trimester 1 dan 3. Menurut Asfi & Djati (2014), senyawa aktif flavonoid dan saponin yang terdapat pada daun katuk dan tapak liman memiliki

kemampuan imunosupresan, sehingga mampu menurunkan jumlah sitokin TNF-α pada mencit bunting yang terinfeksi C. *albicans*.

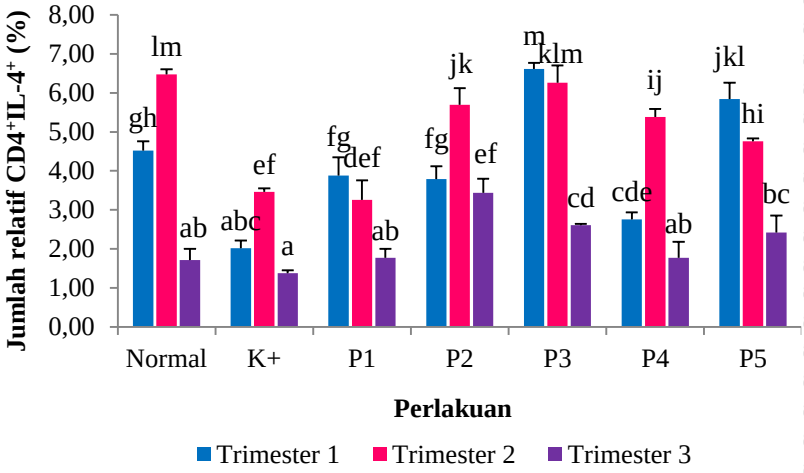
4.3 Produksi sitokin IL-4 ($CD4^+$IL-4)

Berdasarkan analisis *Flow cytometry* didapatkan variasi jumlah relatif sitokin IL-4 yang diproduksi oleh sel T $CD4^+$. Hasil analisis pada trimester 1 dan 2 menunjukkan adanya perbedaan nyata jumlah sitokin IL-4 yang diproduksi oleh sel T $CD4^+$ antara kelompok mencit normal (K-) dengan kelompok mencit yang terinfeksi *Candida albicans* ($P \leq 0,05$), namun pada trimester 3 tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata. Hasil analisis pada trimester 1 (hari kebuntingan ke-10) sitokin IL-4 yang terekspresi pada kelompok mencit normal adalah sekitar 4,52% dan pada kelompok mencit yang terinfeksi *Candida albicans* adalah sekitar 2,02%. Hasil analisis pada trimester 2 (hari kebuntingan ke-14) sitokin IL-4 yang terekspresi pada kelompok mencit normal adalah sekitar 6,47% dan pada kelompok mencit yang terinfeksi *Candida albicans* adalah sekitar 3,46%. Hasil analisis pada trimester 3 (hari kebuntingan ke-18) sitokin IL-4 yang terekspresi pada kelompok mencit normal adalah sekitar 1,72% dan pada kelompok mencit yang terinfeksi *Candida albicans* adalah sekitar 1,38%. Hal tersebut menunjukkan bahwa terjadi penurunan jumlah sitokin IL-4 yang diproduksi oleh sel T $CD4^+$ dari kelompok mencit normal ke kelompok mencit yang terinfeksi *Candida albicans*.

Menurut Sardjono (2005), infeksi suatu parasit pada mencit bunting menyebabkan produksi IL-4 menurun. Jumlah sitokin IL-4 pada kelompok mencit normal dan mencit terinfeksi C. *albicans* mengalami peningkatan dari trimester 1 ke trimester 2. Pada trimester 2 kebuntingan terjadi predominansi fase antiinflamatori, sehingga pada trimester 2 terjadi peningkatan IL-4. Namun jumlah IL-4 menurun pada trimester 3. Peningkatan IL-4 terjadi karena kadar progesteron dalam tubuh meningkat sehingga respon imun Th2 juga meningkat. Selain itu pada akhir trimester 2 hingga trimester 3 kadar hormon progesteron menurun dan respon imun Th2 juga meningkat. Menurut Mor (2007), kadar hormon progesteron akan semakin tinggi saat bertambahnya umur kebuntingan, sehingga respon imun ke arah Th2 semakin kuat. Namun kadar progesteron akan menurun saat mendekati hari kelahiran (hari kebuntingan ke-

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

18-21). Sehingga pada trimester 3 (hari kebuntingan ke-18) kadar progesteron menurun dan respon imun Th2 juga rendah. Oleh sebab itu, jumlah IL-4 yang diproduksi oleh sel T CD4⁺ akan menurun.



Gambar 7. Jumlah relatif sitokin IL-4 yang diproduksi oleh sel T CD4⁺ setelah perlakuan dengan kombinasi S. *androgynus* dan E. *scaber* pada trimester yang berbeda. Data diperoleh dari rata-rata ± SD pada masing-masing perlakuan dengan $p \leq 0,05$. Huruf yang berbeda menunjukkan beda nyata berdasarkan Uji Duncan

Berdasarkan hasil analisis menunjukkan adanya perubahan ekspresi sitokin IL-4 yang diproduksi oleh sel T CD4⁺ pada kelompok mencit yang diberi kombinasi ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus*) dan tapak liman (*Elephantopus scaber*) (Gambar 7). Setelah pemberian ekstrak daun katuk (S. *androgynous*) dan tapak liman (S. *scaber*) pada kelompok mencit perlakuan P3 (50% S. *androgynous* dan 50% E. *scaber*) menunjukkan adanya perbedaan nyata dengan kelompok mencit yang terinfeksi C. *albicans*) ($P \leq 0,05$). Jumlah IL-4 pada kelompok mencit perlakuan P3 dari trimester 1 hingga trimester 3 secara berturut-turut adalah

6,61%, 6,26% dan 2,61%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa setelah pemberian ekstrak, jumlah IL-4 pada kelompok mencit perlakuan P3 (50% S. *androgynous* dan 50% E. *scaber*) mengalami peningkatan hampir mendekati normal pada tiap trimester. Menurut Asfi & Djati (2014), senyawa aktif flavonoid dan saponin yang terdapat pada daun katuk dan tapak liman memiliki kemampuan imunostimulan, sehingga mampu meningkatkan jumlah sitokin IL-4 pada mencit bunting yang terinfeksi C. *albicans*.

BAB V
KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, infeksi *Candida albicans* pada mencit bunting menyebabkan peningkatan inflamasi berkaitan dengan peningkatan jumlah sitokin proinflamasi seperti IFN-γ dan TNF-α serta penurunan sitokin antiinflamasi seperti IL-4 yang diproduksi oleh sel limfosit T. Pemberian ekstrak kombinasi daun katuk (*Sauropus androgynus*) dan tapak liman (*Elephantopus scaber*) pada dosis P3 (50% S. *androgynus* dan 50% E. *scaber*) mampu menurunkan jumlah sitokin proinflamasi IFN-γ dan TNF-α serta meningkatkan produksi sitokin IL-4 yang berguna untuk respon inflamasi.

5.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah dapat dilakukan studi lanjutan secara *in silico* sehingga dapat diketahui secara lebih jelas dan detail peran ekstrak kombinasi daun katuk (*Sauropus androgynus*) dan tapak liman (*Elephantopus scaber*) terhadap mencit bunting yang terinfeksi *Candida albicans*.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR PUSTAKA

Agromedia. 2003. **Tanaman obat untuk mengatasi rematik dan asam urat**. Penerbit Agromedia. Jakarta.

Anggarani, M. A., Kusumawati D., & Erlix R. P. 2015. Komparasi daya hambat tanaman Katuk (*Sauropus androgynus*), Kenikir (*Cosmos caudatus*), Beluntas (*Pluchea indica*), dan Kemangi (*Ocimum sanctum*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. *Jurnal Kimia*. 1(1): 121-127.

Antari, A. L. 2017**. Imunologi dasar**. Deepublish. Jakarta.

Anurogo, D. 2016. **The art of medicine**. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Asfi, N. & M. S. Djati. 2014. Perkembangan sel T CD4 dan CD62L pada Organ Spleen Mencit yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* setelah pemberian Ekstrak Ethanol Daun *Polyscias obtusa* dan *Elephantopus scaber*. *Jurnal Biotropika*. 2(4): 223-228.

Brown, G. D. 2011. Innate antifungal immunity: the key role of phagocytes, *Annual Review of Immunology*. 29: 1-21.

Dalimartha, S. 2003. **Atlas tumbuhan obat**. Puspa Swara. Jakarta.

Davey, P. 2005. **At a glance medicine**. Penerbit Erlangga. Jakarta.

Ebadi, M. S. 2002. **Pharmacodynamic basis of herbal medicine**. CRC Press. New York.

Faizah, N. & M. S. Djati. 2014. Pengaruh ekstrak daun *Elephantopus scaber* dan *Polyscias obtusa* terhadap modulasi sel T $CD8^+$ dan $CD8^+CD62L^+$ mencit Balb/c. *Jurnal Biotropika*. 2(3): 148-153.

Felippe, B. 2016. **Equine clinical immunology**. John Wiley & Sons. New York.

Griffiths, C., Jonathan B., Tanya B., Robert C., & Daniel C. 2016. **Rook's textbook of dermatology**. John Wiley & Sons. New York.

Guyton, A. C. 2000. **Fisiologi manusia dan mekanisme penyakit**. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.

Habif, T. P. 2009. **Clinical dermatology**. Elsevier Health Sciences. New York.

Hardiman, I. 2014. **Sehat alami dengan herbal: 250 tanaman berkhasiat obat**. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Hariana, H. A. 2012. **Tumbuhan obat dan khasiatnya**. Niaga Swadaya. Bandung.

Harijanto, P. N. 2000. **Malaria: Epidomiologi, patogenesis, manifestasi klinis dan penanganan**. EGC. Jakarta.

Hussin, N. A., Mohammad H. B. dan Yeo F. K. S. 2016. Antifungal Properties of *Elephantopus scaber* L. (Asteraceae) against crop pathogenic fungi. *Journal of Science and Technology*. 6(2): 48-52.

Ikawati, Z. 2018. **Farmakologi molekuler: Target aksi obat dan mekanisme molekulernya**. UGM Press. Yogyakarta.

Irawati, L., N. Acang & N. Irawati. 2008. Ekspresi tumor necrosis faktor-alfa (TNF-α) dan interleukin-10 (IL-10) pada infeksi malaria falciparum. *Majalah Kedokteran Andalas*. 1(32): 16-28.

Ismaya. 2014. **Bioteknologi inseminasi buatan**. UGM Press. Yogyakarta.

James, J. 2008. **Prinsip-prinsip sains untuk keperawatan**. Penerbit Erlangga. Jakarta.

Lin, JS., Yang CW., Wang DW., & Wu-Hsieh BA. 2005. Dendritic cells cross-present exogenous fungal antigens to stimulate a protective CD8 T cell response in infection by Histoplasma capsulatum. *Journal of Immunology*. Vol.174:6282–6291.

Lopera, D., Aristizabal B. H., Restrepo A., Cano L. E., & Gonzalez A. 2008. Lysozyme plays a dual role against the dimorphic fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. *Journal of Medicine Tropica*. 50: 169–75.

Mayer, F. L., Duncan W.. & Bernhard H. 2013. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Journal of Virulence*. 2(4): 119-128.

Miyaura, H dan Iwata, M. 2002. Direct and indirect inhibition of Th1 development by progesteron and glucocorticoids. *Journal of Immunology*. Vol. 168: 1087-1094.

Mor, G. 2007. **Immunology of pregnancy**. Springer Science & Business Media. New York.

Nahmias, A. J. 2013. **Immunology of human infection**. Springer Science & Bussiness Media. New York.

Padmavanthi, P. 1990. Nutritive value of *Sauropus androgynus* leaves. *Journal of Plant Foods for Human Nutrition*. 40: 107-113.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Pallares, P & A.G Bulnes. 2009. A new method for induction and synchronization of oestrus and fertile ovolations in mice by using exogenous hormones. *Laboratory Animals*. 43: 295-299.

Penstiowati, Y. 2016. **Monograf**. Indomedia Pustaka. Yogyakarta

Prasad, R. 2017. ***Candida albicans*: Cellular and molecular biology**. Springer. New York.

Purnamasari, N. A. 2004. **Kadar interferon gamma (IFN-γ) sistemik pada mencit bunting yang diinfeksi *Toxoplasma gondii***. Universitas Airlangga. Surabaya. Skripsi.

Rauf, A., Haeria., & Dina D. A. 2017. Efek imunostimulan fraksi daun katuk (*Sauropus androgynus* L. MERR.) terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag pada mencit jantan (*Mus musculus*). *JF FIK UINAM*. 4(1): 9-15.

Rifa'i, M. 2018. **Autoimun dan bioregulator**. UB Press. Malang.

Robert, C. 2001. Sex association hormones and immunity to protozoan parasites. *Journal of Microbiology*. 14(3): 476-488.

Roffico & M. S. Djati. 2014. Efektivitas pemberian ekstrak ethanol daun *Polyscias obtusa* dan *Elephantopus scaber* terhadap modulasi Sel T CD4+ dan CD8+ pada mencit bunting BALB/c. *Jurnal Biotropika*. 1(1): 1-7.

Roit, I. M., Brostoff J., & Male J. 1993. **Immunology**. CRC Press. New York.

Rukmana, R. 2008. **Katuk: Potensi dan manfaatnya**. Kanisius. Yogyakarta.

Saito, S., Nakashima A., Shima T., & Ito M. 2010. Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy. *Am J Reprod Immunol*. 73: 601-610.

Samper, J. C. 2008. **Artificial insemination**. Elsevier Health Sciences. New York.

Sardjono, T. W. 2005. Kegagalan kehamilan akibat infeksi *Toxoplasma gondii* galur RH dipicu oleh overproduksi interferon gamma. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 21(3): 133-138.

Sargowo, D. 2015. **Patogenesis aterosklerosis**. Universitas Brawijaya Press. Malang.

Schulz, V. 2004. **Rational Phytotherapy**. Springer Verlag. Berlin.

Setyowati, F. M. 1997 . Arti katuk bagi masyarakat dayak kenyah, Kalimantan Timur. *The Journal on Indonesian Medicine Plants*. 3(3): 54-55.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Stengler, M. 2002. **Maitakegold**. Basic Health Publications. London.

Tasik, N. L., Grace M. K., & Renate T. K. 2013. Profil kandidiasis vulvovaginalis di Poliklinik Kulit dan Kelamin RSUP Prof. DR. R. D. Kandou Manado periode Januari-Desember 2013. *Jurnal E-Clinic*. 4(1): 207-214.

Tizard, I. R. 2013. **Veterinary Immunology**. Elsevier Health Sciences. New York.

Verma, A. 2014. **Adaptive Immunity to Fungi**. Cold Spring Harbour. New York.

Wahyuni, N. 2017. Peran interferon gamma pada infeksi *Mycobacterium tuberculosis*. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*. 17(2): 126-132.

Wunderlich, R. C. 1999. ***Candida albicans***. McGraw Hill Professional. New York.

Wuthrich, M., Deepe GS Jr., & Klein B. 2012. Adaptive immunity to fungi. *Annual Review of Immunology*. 30(1):115–148.

LAMPIRAN

Lampiran 1. ***Ethical Clearence***

KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARENCE"

No: 1069-KEP-UB

KOMISI ETIK PENELITIAN (*ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE*)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:

PENELITIAN BERJUDUL	: UJI AKTIVITAS KOMBINASI EKSTRAK *Elephantopus scaber* DAN *Sauropus androgynus* TERHADAP HISTOLOGI DAN IMUNITAS MENCIT BUNTING BALB/C SETELAH INFEKSI CANDIDA ALBICANS
PENELITI	: MOCH. SASMITO DJATI
UNIT/LEMBAGA/TEMPAT	: UNIVERSITAS BRAWIJAYA
DINYATAKAN	: LAIK ETIK

Malang, 17 Februari 2019
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. dh. Aulanni'am, DES.
NIP. 19600903 198802 2 001

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Lampiran 2. Kunci Determinasi Tapak Liman (E. *scaber*)

PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074 / 229 / 102.7 / 2018
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Tapak Liman**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : MEYLA
NIM : 145090101111026
Fakultas : FAK. MIPA, UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG

1. Perihal determinasi tanaman tapak liman
   - Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
   - Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
   - Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
   - Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
   - Sub Kelas : Asteridae
   - Ordo : Asterales
   - Famili : Asteraceae
   - Genus : Elephantopus
   - Spesies : *Elephantopus scaber* L. :-
   - Nama Daerah : Tapak liman (Indonesia); Tutup bumi (Sumatera); Balagaduk, jukut cancang, tapak liman (Sunda); Tampak liman, tapak tangan (Jawa); talpak tana (Madura).
   - Kunci determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109b-119b-120a-121a-122a-1a-2b-3a.
2. Morfologi : Terna tahunan, tegak, berambut, dengan akar yang besar, tinggi 10-80 cm, batang kaku berambut panjang dan rapat, bercabang dan beralur. Daun tunggal berkumpul di bawah membentuk roset, berbulu, bentuk daun jorong, bundar telur memanjang, tepi melekuk dan bergerigi tumpul. Panjang daun 10 -18 cm, lebar 3-5 cm. Daun pada percabangan jarang dan kecil, dengan panjang 3-9 cm, lebar 1-3 cm. Bunga bentuk bonggol, banyak, warna ungu. Buah berupa buah longkah.
3. Nama Simplisia : Elephantopii Folium / Daun Tapak Liman.
4. Kandungan kimia : Daun mengandung epifriedelinol, lupeol, stiqmasterol, triacontan-1-ol, dotriacontan-1-ol, lupeol acetate, deoxyelephantopin, isodeoxyelephantopin. Bunga mengandung luteolin-7-glucoside.
5. Penggunaan : Penelitian.
6. Daftar Pustaka
   - Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Hutapea, Johny Ria.1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I.* Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
   - Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di* Indonesia. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 04 Juni 2018
Kepala UPT. Materia Medica Batu

Dr. Husin R.Ms. Drs., Apt., M.Kes.
NIP. 19611102 199103 1 003

Lampiran 3. Kunci Determinasi Katuk (S. *androgynus*)

PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074 / 228 / 102.7 / 2018
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Katu**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : MEYLA
NIM : 145090101111026
Fakultas : FAK. MIPA, UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG

1. Perihal determinasi tanaman katu
   - Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
   - Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
   - Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
   - Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
   - Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
   - Sub Kelas : Rosida
   - Ordo : Euphorbiales
   - Famili : Euphorbiaceae
   - Genus : Euphorbia
   - Species : *Sauropus androgynus* (L.) Merr.
   - Sinonim : *S. albicus* Bl. = *S. sumatranus* Miq = *S. indicus* Wight.
   - Nama Daerah : Katuk, memata (Melayu), simani (Minang).
   - Kunci determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-15a-109b-119b-120a-121b-124b-125b-239a-240b-241a.
2. Morfologi : Habitus: Tanaman perdu, tinggi 2-5 meter. Batang: Berkayu, bulat, bekas daun tampak jelas, tegak, daun muda berwarna hijau dan setelah tua berwarna cokelat kehijauan. Daun: Majemuk, bulat telur, ujung runcing, pangkal tumpul, tepi rata, panjang 1-6 cm, lebar 1-4 cm, pertulangan menyirip, warna hijau. Bunga: Majemuk bentuk payung di ketiak daun, mahkota bulat telur, warna ungu. Buah: Buni, bulat, beruang tiga, diameter lebih kurang 1,5 mm, warna hijau keputih-putihan.
3. Nama Simplisia : Sauropi Folium / Daun Katu.
4. Kandungan : Senyawa steroid dan senyawa polifenol. Daun juga mengandung protein, serat kasar, vitamin K, provitamin A (betakaroten), vit B dan C, dan berbagai, antara lain kalsium, kalium, besi, magnesium, fosfor dan juga alkaloid papaverine.
5. Penggunaan : Penelitian.
6. Daftar Pustaka
   - Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Hutapea, Johny Ria.1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I.* Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
   - Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di* Indonesia. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 04 Juni 2018
Kepala UPT Materia Medica Batu

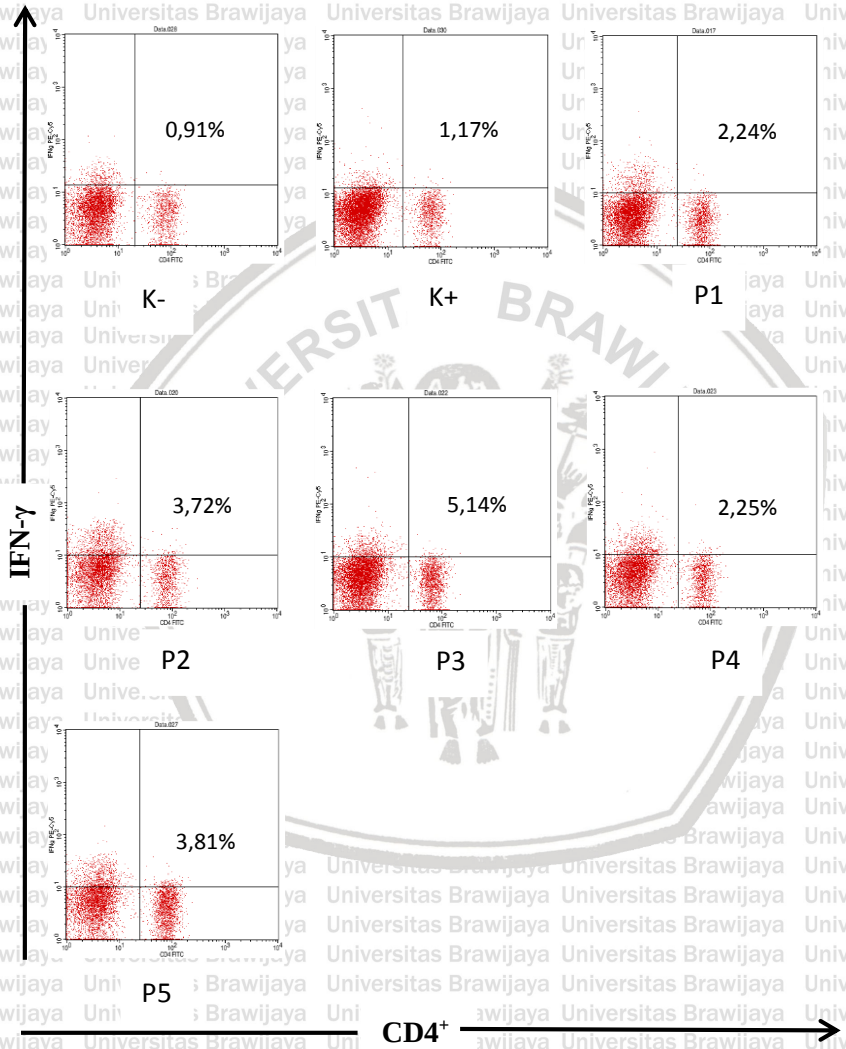
Dr. Husin R.M., Drs., Apt., M.Kes.
NIP.19611102 199103 1 003

Lampiran 4. Perhitungan Stok Dosis

Dosis awal ekstrak daun *E. scaber* dan *S. androgynus* yaitu 150 mg/kg Berat badan, dengan rumus konsentrasi sonde yaitu:

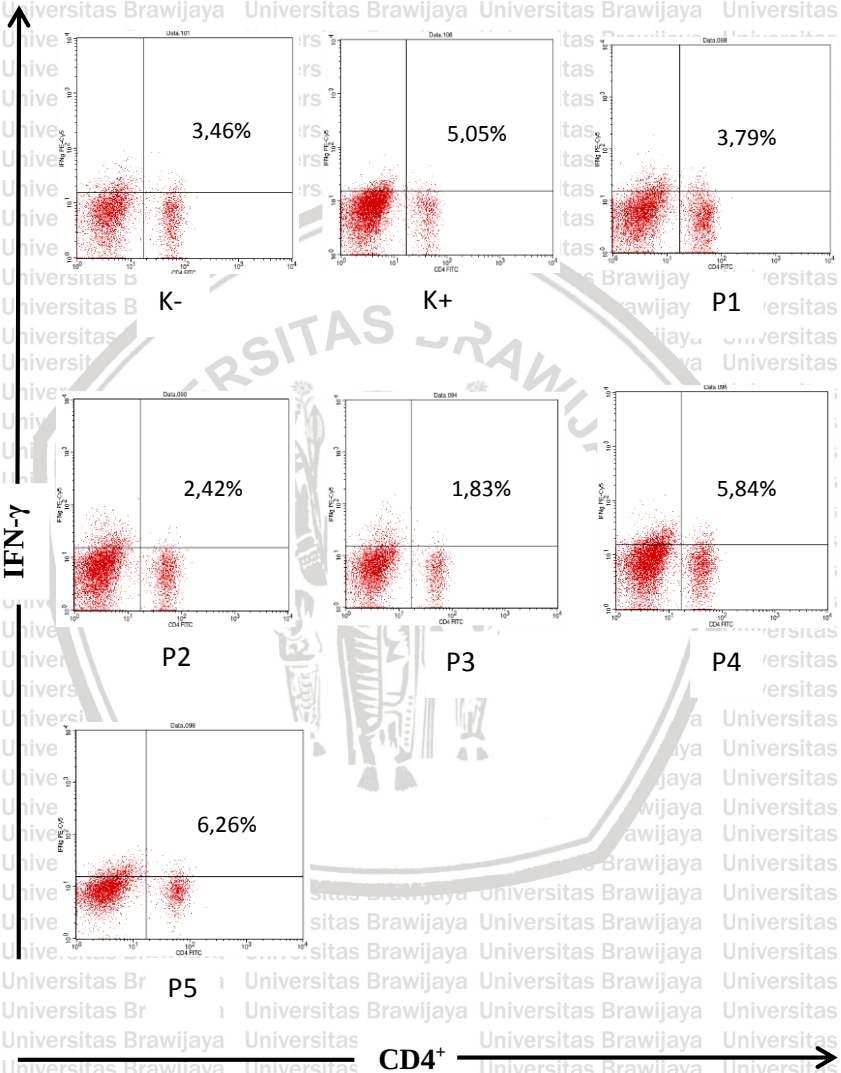
$$\text{Konsentrasi sonde}\left(\frac{\text{mg}}{\mu\text{l}}\right) = \frac{\frac{\text{Berat badan mencit}}{1000}\, x \text{ dosis}}{\text{Volume}}$$

Lampiran 5. Hasil Analisis *Flow cytometry* Jumlah Relatif Sel T $CD4^+$ yang Mengekspresikan Sitokin IFN-γ^+ pada Trimester 1



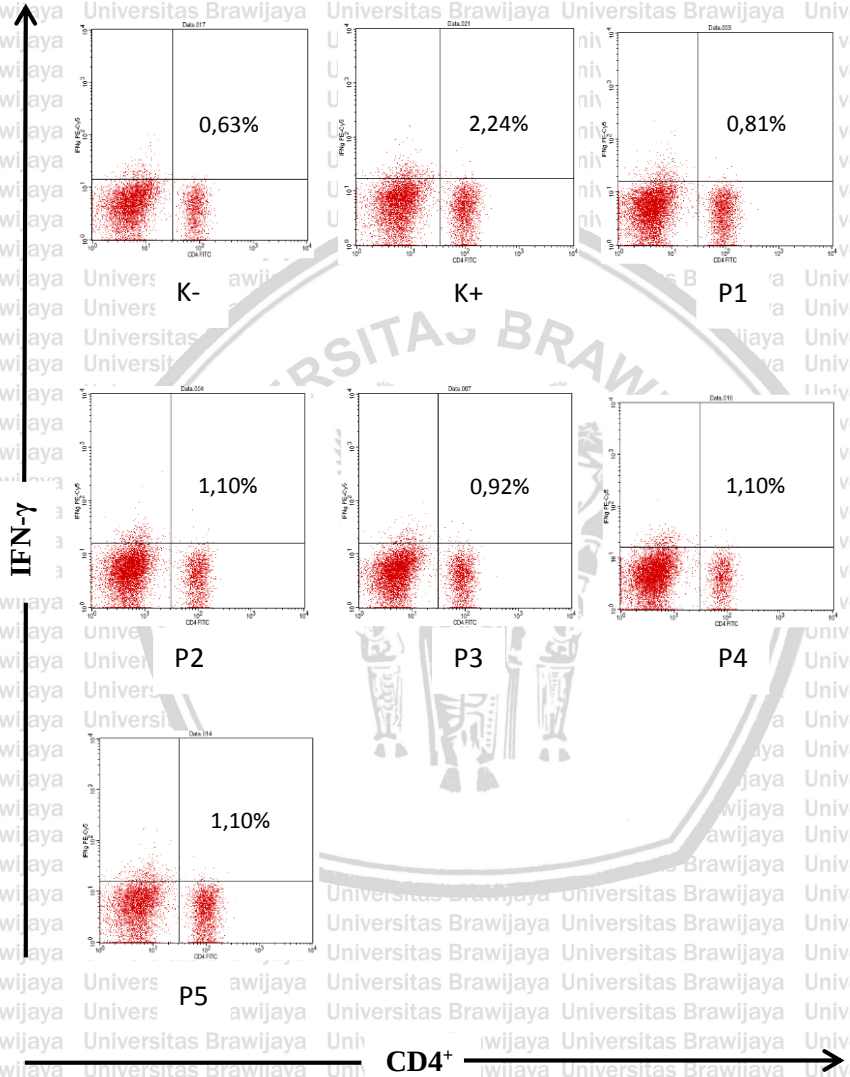
repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Lampiran 6. Hasil Analisis *Flow cytometry* Jumlah Relatif Sel T $CD4^+$ yang Mengekspresikan Sitokin IFN-γ^+ pada Trimester 2



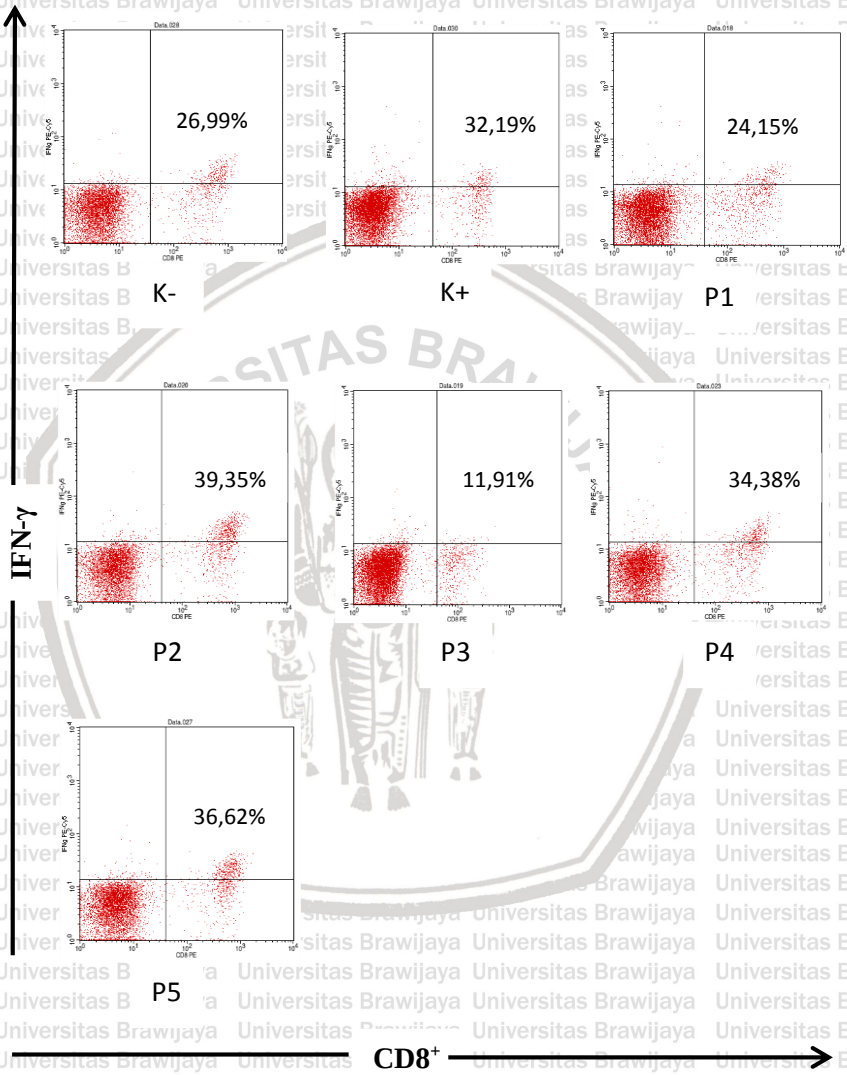
repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Lampiran 7. Hasil Analisis *Flow cytometry* Jumlah Relatif Sel T $CD4^+$ yang Mengekspresikan Sitokin IFN-γ^+ pada Trimester 3

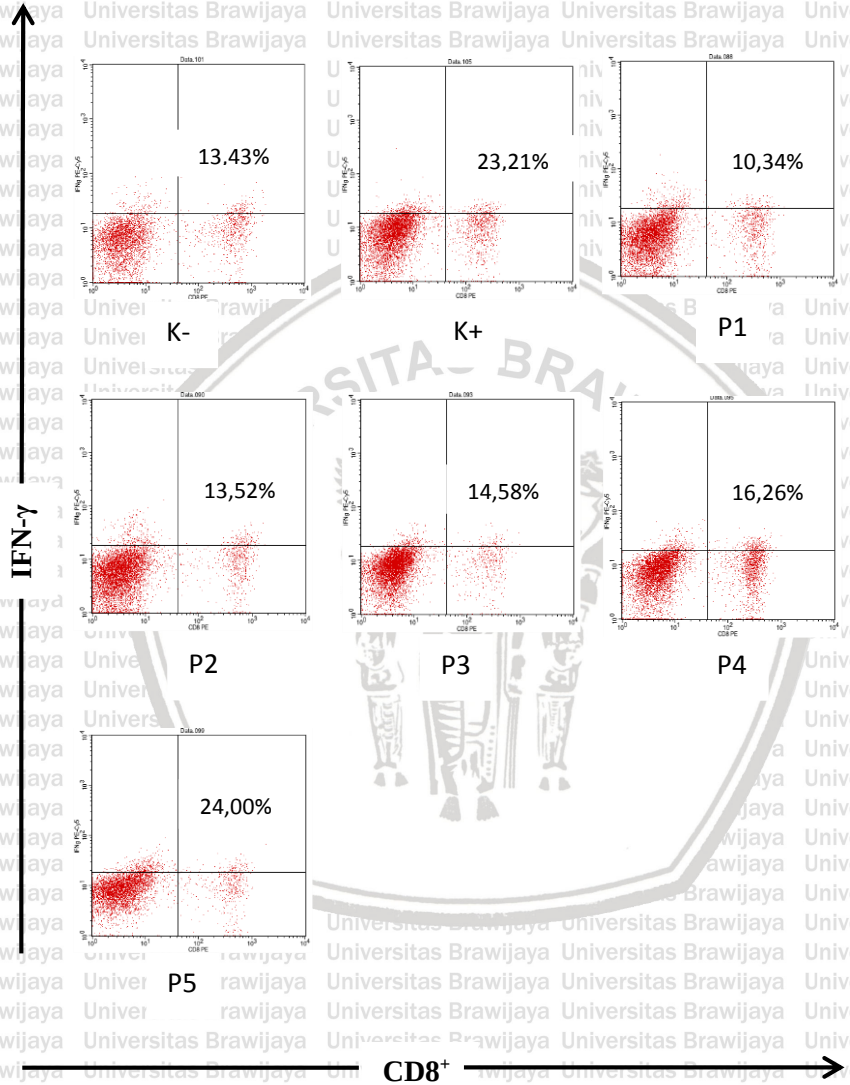


repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Lampiran 8. Hasil Analisis *Flow cytometry* Jumlah Relatif Sel T CD8⁺ yang Mengekspresikan Sitokin IFN-γ pada Trimester 1

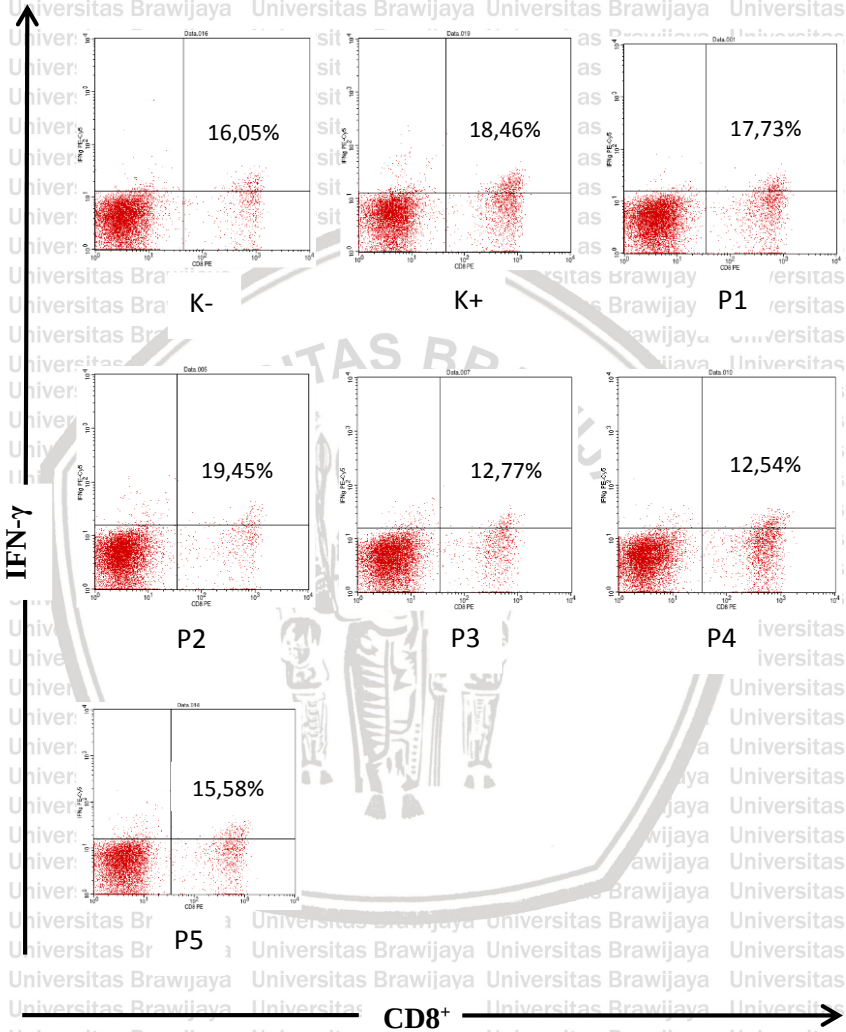


Lampiran 9. Hasil Analisis *Flow cytometry* Jumlah Relatif Sel T $CD8^+$ yang Mengekspresikan Sitokin IFN-γ^+ pada Trimester 2

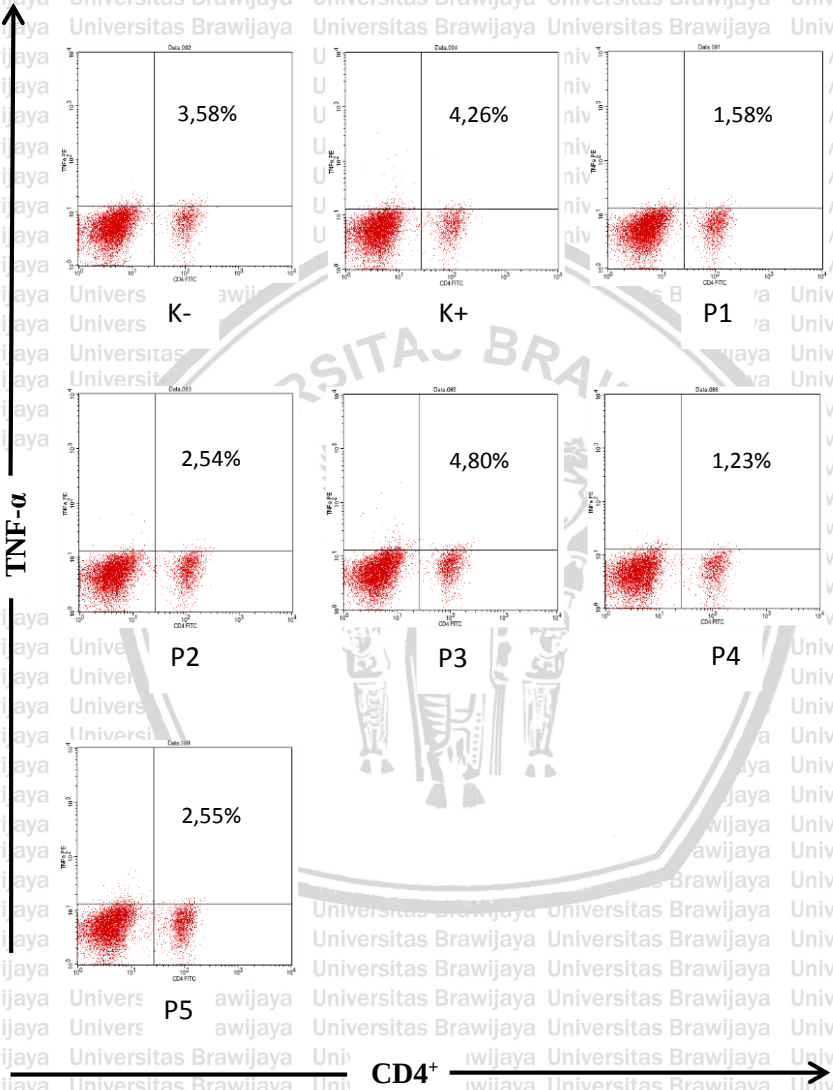


repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Lampiran 10. Hasil Analisis *Flow cytometry* Jumlah Relatif Sel T CD8⁺ yang Mengekspresikan Sitokin IFN-γ⁺ pada Trimester 3

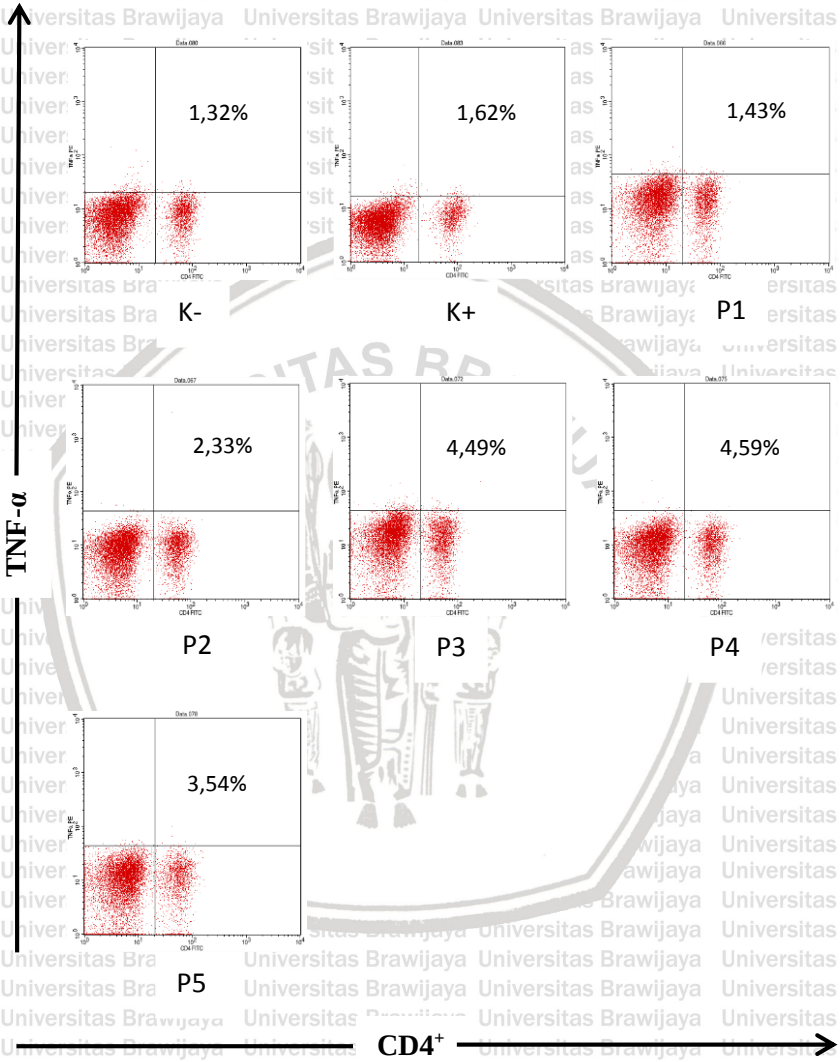


Lampiran 11. Hasil Analisis *Flow cytometry* Jumlah Relatif Sel T CD4⁺ yang Mengekspresikan Sitokin TNF-α⁺ pada Trimester 1



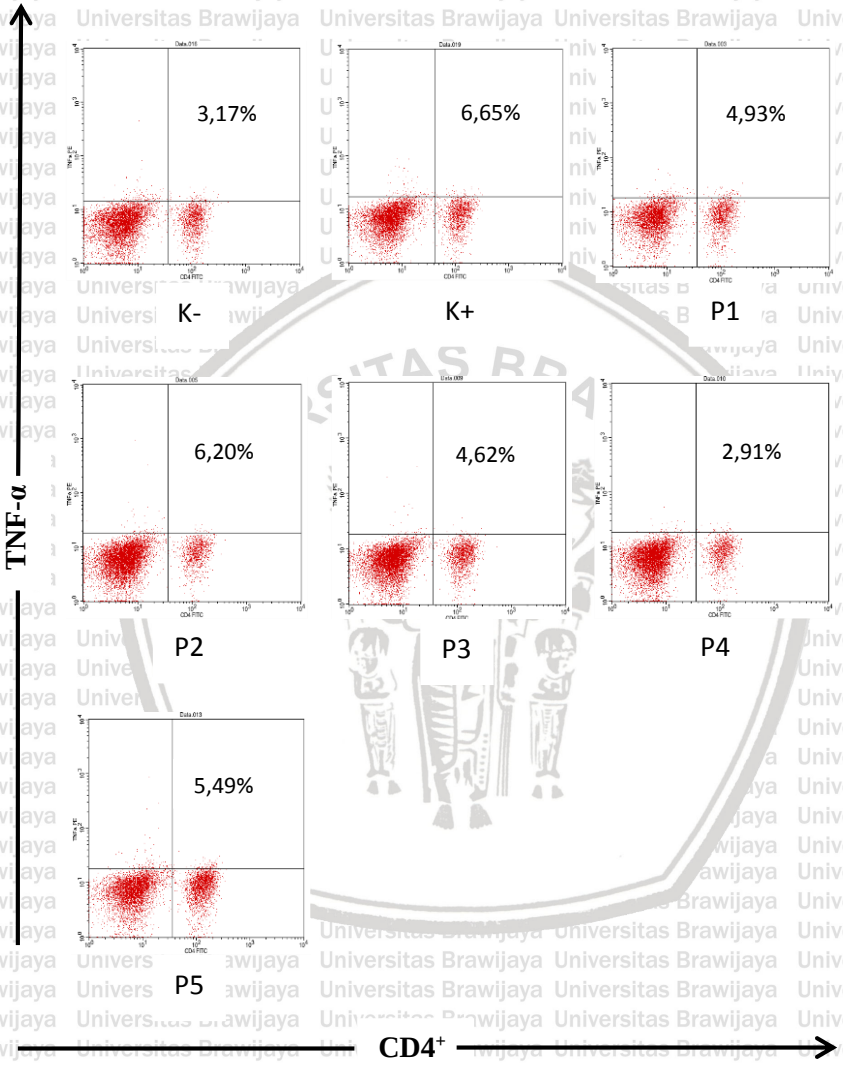
repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Lampiran 12. Hasil Analisis *Flow cytometry* Jumlah Relatif Sel T CD4⁺ yang Mengekspresikan Sitokin TNF-α⁺ pada Trimester 2



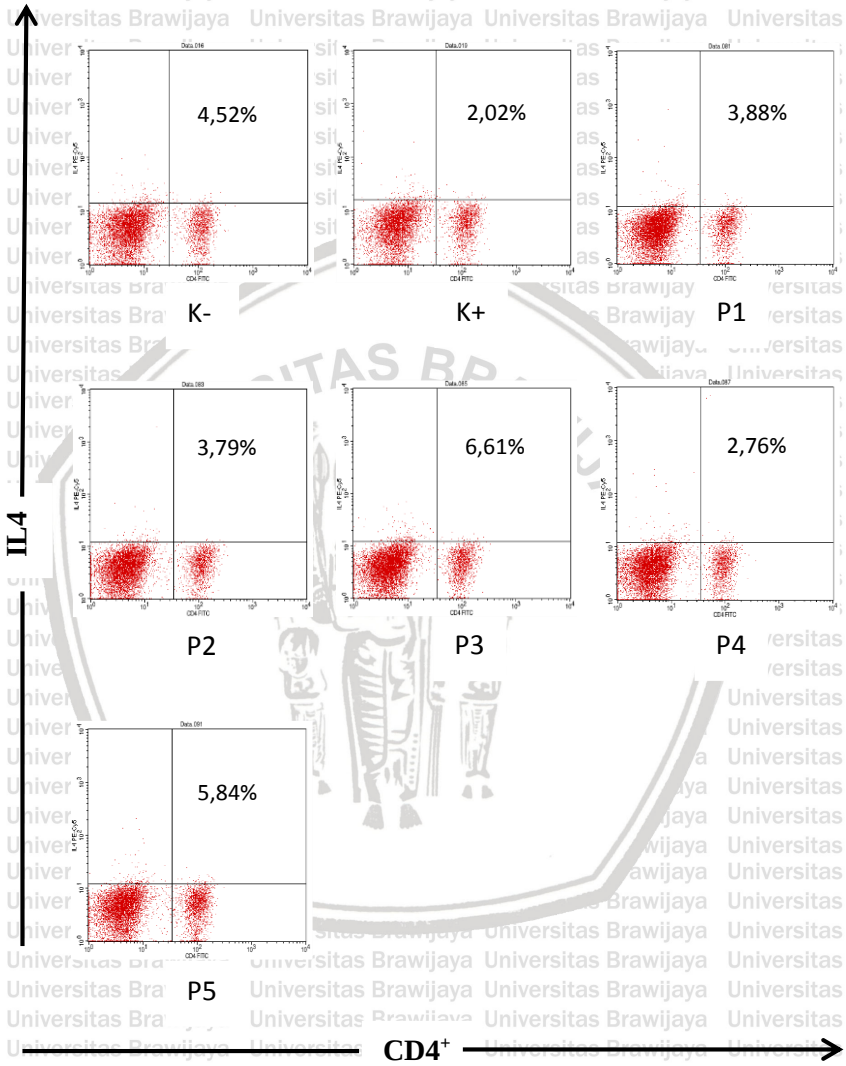
repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Lampiran 13. Hasil Analisis *Flow cytometry* Jumlah Relatif Sel T $CD4^+$ yang Mengekspresikan Sitokin TNF-α^+ pada Trimester 3

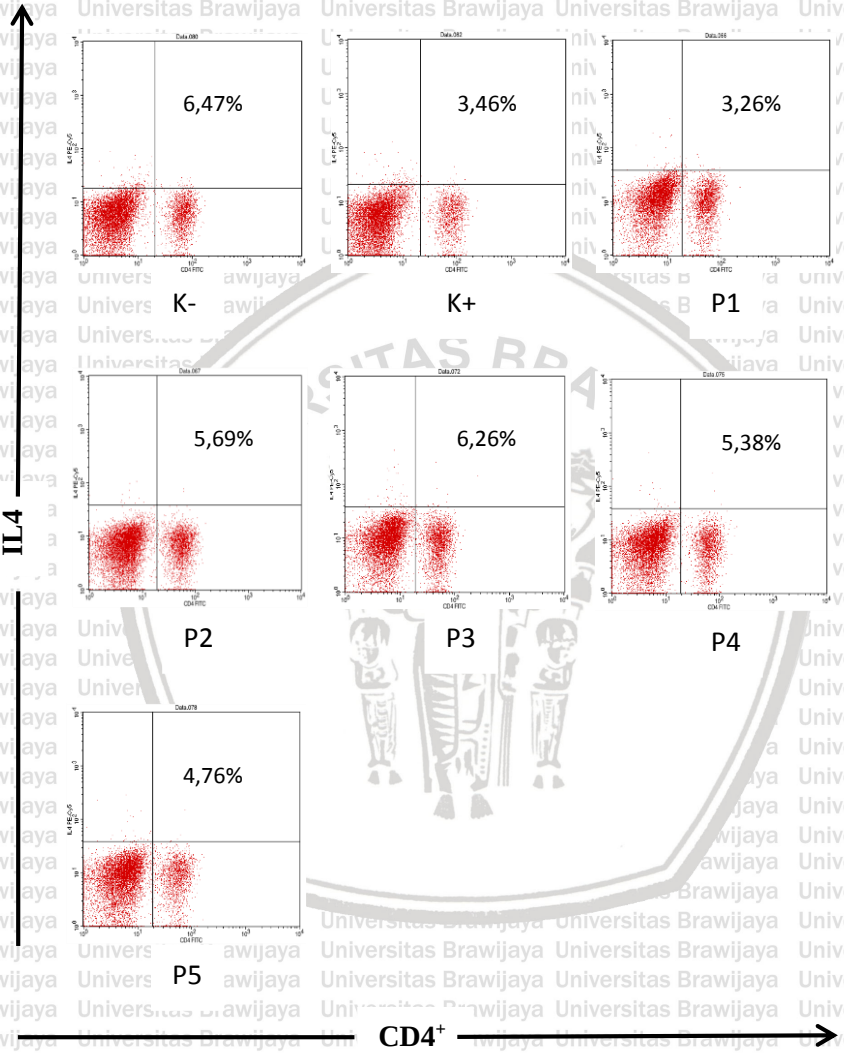


repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Lampiran 14. Hasil Analisis *Flow cytometry* Jumlah Relatif Sel T CD4⁺ yang Mengekspresikan Sitokin IL4⁺ pada Trimester 1

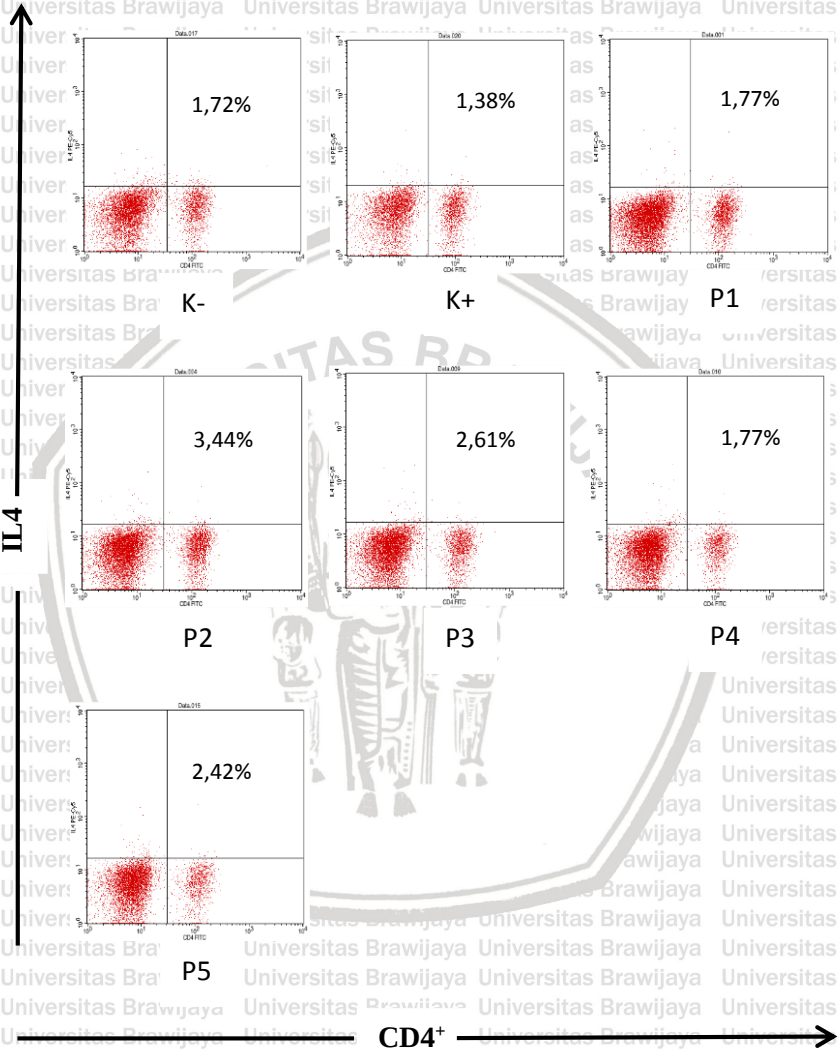


Lampiran 15. Hasil Analisis *Flow cytometry* Jumlah Relatif Sel T CD4⁺ yang Mengekspresikan Sitokin IL-4⁺ pada Trimester 2



repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Lampiran 16. Hasil Analisis *Flow cytometry* Jumlah Relatif Sel T CD4⁺ yang Mengekspresikan Sitokin IL-4⁺ pada Trimester 3



Lampiran 17. Hasil Uji Statistik SPSS Jumlah Relatif Sel T $CD4^+$ yang Mengekspresikan Sitokin IFN-γ

LT1. Uji normalitas jumlah relatif sel T $CD4^+$ yang mengekspresikan sitokin IFN-γ

Tests of Normality

	Interaksi	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
CD4IFNg	K-TM1	.183	3	.	.999	3	.933
	K+TM1	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P1TM1	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P2TM1	.176	3	.	1.000	3	.975
	P3TM1	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P4TM1	.182	3	.	.999	3	.935
	P5TM1	.175	3	.	1.000	3	1.000
	K-TM2	.176	3	.	1.000	3	.975
	K+TM2	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P1TM2	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P2TM2	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P3TM2	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P4TM2	.265	3	.	.954	3	.586
	P5TM2	.175	3	.	1.000	3	1.000
	K-TM3	.184	3	.	.999	3	.927
	K+TM3	.176	3	.	1.000	3	.979
	P1TM3	.177	3	.	1.000	3	.962
	P2TM3	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P3TM3	.181	3	.	.999	3	.942
	P4TM3	.177	3	.	1.000	3	.964
	P5TM3	.176	3	.	1.000	3	.986

a. Lilliefors Significance Correction

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

LT2. Uji homogenitas jumlah relatif sel T CD4$^+$ yang mengekspresikan sitokin IFN-γ

Levene's Test of Equality of Error Variances[a]

Dependent Variable: CD4IFNg

F	df1	df2	Sig.
1.035	20	42	.447

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Trimester + Perlakuan + Interaksi

LT3. Uji *two way* ANOVA jumlah relatif sel T CD4$^+$ yang mengekspresikan sitokin IFN-γ

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CD4IFNg

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	191.195[a]	20	9.560	186.523	.000
Intercept	444.593	1	444.593	8674.586	.000
Trimester	.000	0	.	.	.
Perlakuan	.000	0	.	.	.
Interaksi	76.103	12	6.342	123.739	.000
Error	2.153	42	.051		
Total	637.941	63			
Corrected Total	193.347	62			

a. R Squared = ,989 (Adjusted R Squared = ,984)

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

LT4. Uji duncan jumlah relatif sel T CD4^{+} yang mengekspresikan sitokin IFN-γ

CD4IFNg

Duncan

Interaksi	N	Subset						
		1	2	3	4	5	6	7
K-TM3	3	.6333						
P1TM3	3	.8067	.8067					
K-TM1	3	.9100	.9100					
P3TM3	3	.9167	.9167					
P1TM1	3	.9433	.9433					
P5TM3	3		1.0967					
P2TM3	3		1.1000					
P4TM3	3		1.1033					
K+TM1	3		1.1700					
P3TM2	3			1.8300				
K+TM3	3				2.2433			
P4TM1	3				2.2467			
P2TM2	3				2.4200			
K-TM2	3					3.4567		
P2TM1	3					3.7233		
P1TM2	3					3.7900		
P5TM1	3					3.8100		
K+TM2	3						5.0500	
P3TM1	3						5.1400	
P5TM2	3							5.8100
P4TM2	3							5.8400
Sig.		.126	.085	1.000	.354	.074	.614	.866

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = .047.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.
b. Alpha = ,05.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
Universitas Brawijaya

Lampiran 18. Hasil Uji Statistik SPSS Jumlah Relatif Sel T CD8$^+$ yang Mengekspresikan Sitokin IFN-γ

LT5. Uji normalitas jumlah relatif sel T CD8$^+$ yang mengekspresikan sitokin IFN-γ

Tests of Normality

	Interaksi	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
CD8IFNg	K-TM1	.175	3	.	1.000	3	1.000
	K+TM1	.175	3	.	1.000	3	.993
	P1TM1	.175	3	.	1.000	3	.996
	P2TM1	.182	3	.	.999	3	.936
	P3TM1	.205	3	.	.993	3	.839
	P4TM1	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P5TM1	.175	3	.	1.000	3	1.000
	K-TM2	.175	3	.	1.000	3	1.000
	K+TM2	.175	3	.	1.000	3	.997
	P1TM2	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P2TM2	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P3TM2	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P4TM2	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P5TM2	.241	3	.	.974	3	.691
	K-TM3	.175	3	.	1.000	3	.993
	K+TM3	.175	3	.	1.000	3	.994
	P1TM3	.175	3	.	1.000	3	.996
	P2TM3	.176	3	.	1.000	3	.989
	P3TM3	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P4TM3	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P5TM3	.175	3	.	1.000	3	1.000

a. Lilliefors Significance Correction

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

LT6. Uji homogenitas jumlah relatif sel T CD8$^+$ yang mengekspresikan sitokin IFN-γ

Levene's Test of Equality of Error Variances[a]

Dependent Variable: CD8IFNg

F	df1	df2	Sig.
1.076	20	42	.407

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Trimester + Perlakuan + Interaksi

LT7. Uji *two way* ANOVA jumlah relatif sel T CD8$^+$ yang mengekspresikan sitokin IFN-γ

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CD8IFNg

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4592.087[a]	20	229.604	233.968	.000
Intercept	26856.771	1	26856.771	27367.235	.000
Trimester	.000	0	.	.	.
Perlakuan	.000	0	.	.	.
Interaksi	1092.388	12	91.032	92.763	.000
Error	41.217	42	.981		
Total	31490.075	63			
Corrected Total	4633.304	62			

a. R Squared = ,991 (Adjusted R Squared = ,987)

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

LT8. Uji *Duncan* jumlah relatif sel T CD8^{+} yang mengekspresikan sitokin IFN-γ

CD8IFNg

Duncan

Interaksi	N	Subset											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
P1TM2	3	10.3400											
P4TM3	3		12.5400										
K-TM2	3		13.4300	13.4300									
P2TM2	3		13.5200	13.5200									
P3TM2	3			14.5800	14.5800								
P3TM3	3				15.4767								
P5TM3	3				15.5800								
K-TM3	3				16.0467	16.0467							
P4TM2	3				16.2600	16.2600							
P1TM3	3					17.7267	17.7267						
K+TM3	3						18.4567						
P2TM3	3						19.4467						
K+TM2	3							23.2067					
P5TM2	3							24.0000					
P1TM1	3							24.1467					
K-TM1	3								26.9900				
P3TM1	3								27.0867				
K+TM1	3									32.1933			
P4TM1	3										34.4800		
P5TM1	3											36.6200	
P2TM1	3												39.3467
Sig.		1.000	.266	.192	.072	.058	.052	.286	.906	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1.004.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = ,05.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Lampiran 19. Hasil Uji Statistik SPSS Jumlah Relatif Sel T $CD4^+$ yang Mengekspresikan Sitokin TNF-α

LT9. Uji normalitas jumlah relatif sel T $CD4^+$ yang mengekspresikan sitokin TNF-α

Tests of Normality

	Interaksi	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
CD4TNF	K-TM1	.175	3	.	1.000	3	.992
	K+TM1	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P1TM1	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P2TM1	.191	3	.	.997	3	.900
	P3TM1	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P4TM1	.184	3	.	.999	3	.927
	P5TM1	.178	3	.	.999	3	.952
	K-TM2	.175	3	.	1.000	3	1.000
	K+TM2	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P1TM2	.184	3	.	.999	3	.927
	P2TM2	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P3TM2	.175	3	.	1.000	3	.991
	P4TM2	.241	3	.	.974	3	.688
	P5TM2	.176	3	.	1.000	3	.981
	K-TM3	.175	3	.	1.000	3	1.000
	K+TM3	.338	3	.	.852	3	.246
	P1TM3	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P2TM3	.247	3	.	.969	3	.661
	P3TM3	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P4TM3	.235	3	.	.978	3	.715
	P5TM3	.175	3	.	1.000	3	1.000

a. Lilliefors Significance Correction

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
Universitas Brawijaya

LT10. Uji homogenitas jumlah relatif sel T CD4$^+$ yang mengekspresikan sitokin TNF-α

Levene's Test of Equality of Error Variances[a]

Dependent Variable: CD4TNF

F	df1	df2	Sig.
1.130	20	42	.359

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Trimester + Perlakuan + Interaksi

LT11. Uji *two way* ANOVA jumlah relatif sel T CD4$^+$ yang mengekspresikan sitokin TNF-α

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CD4TNF

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	161.947[a]	20	8.097	58.993	.000
Intercept	778.696	1	778.696	5673.195	.000
Trimester	.000	0	.	.	.
Perlakuan	.000	0	.	.	.
Interaksi	72.468	12	6.039	43.997	.000
Error	5.765	42	.137		
Total	946.407	63			
Corrected Total	167.712	62			

a. R Squared = ,966 (Adjusted R Squared = ,949)

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

LT12. Uji *Duncan* jumlah relatif sel T CD4^{+} yang mengekspresikan sitokin TNF-α

CD4TNF

Duncan

Interaksi	N	Subset							
		1	2	3	4	5	6	7	8
P4TM1	3	1.2333							
K-TM2	3	1.3200							
P1TM2	3	1.4267							
P1TM1	3	1.5800							
K+TM2	3	1.6200							
P2TM2	3		2.3300						
P2TM1	3		2.5433						
P5TM1	3		2.5533						
P4TM3	3		2.9067	2.9067					
K-TM3	3			3.1700	3.1700				
P3TM2	3			3.3267	3.3267				
P3TM1	3			3.4967	3.4967				
P5TM2	3				3.5367				
K-TM1	3				3.5767				
P3TM3	3				3.6067				
K+TM1	3					4.2600			
P4TM2	3					4.5933	4.5933		
P1TM3	3						4.9300	4.9300	
P5TM3	3							5.4900	
P2TM3	3								6.2000
K+TM3	3								6.6533
Sig.		.226	.065	.059	.179	.240	.235	.052	.112

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = .117.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.
b. Alpha = ,05.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Lampiran 20. Hasil Uji Statistik SPSS Jumlah Relatif Sel T $CD4^+$ yang Mengekspresikan Sitokin IL-4

LT13. Uji normalitas jumlah relatif sel T $CD4^+$ yang mengekspresikan sitokin IL4

Tests of Normality

	Interaksi	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
CD4IL4	K-TM1	.175	3	.	1.000	3	1.000
	K+TM1	.177	3	.	1.000	3	.972
	P1TM1	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P2TM1	.175	3	.	1.000	3	.990
	P3TM1	.192	3	.	.997	3	.893
	P4TM1	.177	3	.	1.000	3	.968
	P5TM1	.175	3	.	1.000	3	1.000
	K-TM2	.175	3	.	1.000	3	1.000
	K+TM2	.181	3	.	.999	3	.942
	P1TM2	.296	3	.	.918	3	.447
	P2TM2	.176	3	.	1.000	3	.987
	P3TM2	.176	3	.	1.000	3	.987
	P4TM2	.197	3	.	.996	3	.872
	P5TM2	.175	3	.	1.000	3	1.000
	K-TM3	.175	3	.	1.000	3	1.000
	K+TM3	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P1TM3	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P2TM3	.175	3	.	1.000	3	.990
	P3TM3	.175	3	.	1.000	3	1.000
	P4TM3	.175	3	.	1.000	3	.992
	P5TM3	.175	3	.	1.000	3	.992

a. Lilliefors Significance Correction

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

LT14. Uji homogenitas jumlah relatif sel T CD4$^+$ yang mengekspresikan sitokin IL4

Levene's Test of Equality of Error Variances[a]

Dependent Variable: CD4IL4

F	df1	df2	Sig.
1.674	20	42	.079

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Trimester + Perlakuan + Interaksi

LT15. Uji *two way* ANOVA jumlah relatif sel T CD4$^+$ yang mengekspresikan sitokin IL4

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CD4IL4

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	177.705[a]	20	8.885	49.312	.000
Intercept	910.176	1	910.176	5051.366	.000
Trimester	.000	0	.	.	.
Perlakuan	.000	0	.	.	.
Interaksi	33.253	12	2.771	15.379	.000
Error	7.568	42	.180		
Total	1095.449	63			
Corrected Total	185.273	62			

a. R Squared = ,959 (Adjusted R Squared = ,940)

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

LT16. Uji *Duncan* jumlah relatif sel T CD4⁺ yang mengekspresikan sitokin IL4

CD4IL4

Duncan

Interaksi	N	Subset												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
K+TM3	3	1.3800												
K-TM3	3	1.7200	1.7200											
P1TM3	3	1.7700	1.7700											
P4TM3	3	1.7733	1.7733											
K+TM1	3	2.0233	2.0233	2.0233										
P5TM3	3		2.4233	2.4233										
P3TM3	3			2.6100	2.6100									
P4TM1	3			2.7567	2.7567	2.7567								
P1TM2	3				3.2633	3.2633	3.2633							
P2TM3	3					3.4433	3.4433							
K+TM2	3					3.4633	3.4633							
P2TM1	3						3.7867	3.7867						
P1TM1	3						3.8800	3.8800						
K-TM1	3							4.5200	4.5200					
P5TM2	3								4.7600	4.7600				
P4TM2	3									5.3767	5.3767			
P2TM2	3										5.6933	5.6933		
P5TM1	3										5.8400	5.8400	5.8400	
P3TM2	3											6.2567	6.2567	6.2567
K-TM2	3												6.4700	6.4700
P3TM1	3													6.6100
Sig.		.104	.076	.058	.081	.068	.119	.051	.492	.082	.215	.132	.092	.343

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,180.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

b. Alpha = ,05.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA