

PENGARUH PEMBERIAN JUS UMBI BIT (Beta vulgaris L) TERHADAP PENINGKATAN IMUNOGLOBULIN M (IgM) PADA TIKUS PUTIH (Rattus norvegicus) DENGAN METODE HEMAGLUTINASI

THE EFFECT OF ADMINISTRATION OF BEETROLE JUICE (Beta vulgaris L) ON INCREASING IMMUNOGLOBULIN M (IgM) IN WHITE RATS (Rattus norvegicus) USING THE HEMAGLUTINATION METHOD

Muhammad Aris¹

Universitas Pancasakti Makassar¹ email: <u>muh.aris.s.si.m.si@gmail</u> .com Abstrak: Penelitian pengaruh jus umbi bit (Beta vulgaris L) terhadap peningkatan imunoglobulin M (IgM) telah dilakukan terhadap 15 ekor tikus putih dengan metode hemaglutinasi. Parameter yang diamati adalah terjadinya aglutinasi antara serum tikus putih yang telah diberi perlakuan dengan antigen. Tikus putih dikelompokkan menjadi 5 kelompok, setiap kelompok terdiri dari 3 ekor tikus putih. Kelompok 1 (kontrol negatif) diberi aquadest, kelompok 2, 3 dan 4 diberi jus umbi bit dengan konsentrasi 20% b/v, 40% b/v dan 80% b/v serta kelompok 5 (kontrol positif) diberi stimuno forte, masing-masing 5 hari. Pada hari ke 6 diinduksi dengan SDMD 2% v/v secara intraperitoneal. Pada hari ke 10 serum diambil dan dilakukan pengujian. Data hasil pengamatan aglutinasi dianalisis dengan menggunakan ANOVA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jus umbi bit memberikan efek tidak berbeda nyata antara masing-masing konsentrasi dan kontrol positif, sedangkan berbeda nyata dengan kontrol negatif. Hal ini menunjukkan jus umbi bit dapat meningkatkan Imunoglobulim M (IgM) pada konsentrasi 20% b/v, 40% b/v dan 80% b/v.

Kata Kunci: Umbi Bit (Beta vulgaris L), Imunoglobulin M, Tikus Putih (Rattus norvegicus), Metode Hemaglutinasi

Abstract: The research on the effect of beetroot juice (Beta vulgaris L) on the increase in immunoglobulin M (IgM) has been carried out on 15 white rats by hemagglutination method. The parameter observed was agglutination between the serum of white rats that had been treated with antigens. White rats are grouped into 5 groups, each group consists of 3 white rats. Group 1 (negative control) were given aquadest, group 2, 3 and 4 were given beetroot juice with concentrations of 20% w/v, 40% w/v and 80% w/v and group 5 (positive control) were given stimuno forte, respectively for 5 days. On the 6th day intraperitoneally 2% v/v SDMD was induced. On the 10th day serum is taken and tested. Agglutination observation data were analyzed using ANOVA. The results showed that the beetroot juice gave no significantly different effect between each concentration and positive control, whereas it was significantly different from negative control. This shows that beetroot juice can increase immunoglobulin M (IgM) are concentration of 20% w/v, 40% w/v and 80% w/v.

Keywords: Beetroot (Beta vulgaris L), Immunoglobulin M, White Rats (Rattus norvegicus), Hemagglutination Method

PAPS JOURNALS E-ISSN: 2830-7070 Vol. 2, No. 1, Juni, 2023





PENDAHULUAN

Bahan alam adalah bahan kimia yang terdapat di alam, baik yang berasal dari tumbuhan, hewan maupun mineral. Istilah bahan alam sangat luas, termasuk bahan alam yang dihasilkan atau terdapat pada fosil dan/atau hasil tambang. Bahan alam sudah dikenal bermanfaat untuk kesehatan. Pemanfaatan bahan alam terutama tumbuhan, hewan dan organisme laut tidak terlepas dari kandungan kimia yang terkandung didalamnya. Sering kali, bahan alam menjadi sumber senyawa bioaktif yang bermanfaat serta dapat dikembangkan melalui proses sintesis. Banyak obat yang dihasilkan dari pengembangan senyawa bioaktif bahan alam, baik bahan alam dari darat ataupun dari laut (Hanani, 2016)

Pada tahun 1918 – 1919 pernah terjadi pandemi influenza yang membunuh sekitar 20 – 50 juta populasi dunia. Virus influenza menyerang saluran napas bagian atas dan saluran napas utama pada manusia, kuda, burung, babi dan anjing laut. Beberapa penyakit fatal lainnya telah dilaporkan antara lain yang disebabkan oleh virus Ebola. Wabah Ebola pertama dilaporkan di Afrika pada tahun 1976 dan telah mendapat perhatian karena beratnya dan progress penyakit yang cepat menimbulkan kematian segera setelah timbul gejala. Virus Ebola terutama menimbulkan panas dengan perdarahan yang berat dan kematian pada 50% penderitanya (Baratawidjaja & Rengganis, 2010)

Umbi Bit (Beta vulgaris L)mengandung zat-zat yang sangat diperlukan kesehatan, di antaranya zat besi, vitamin C, kalium, fosfor, magnesium, asam folat dan serat. beberapa nutrisi yang terkandung dalam umbi Bit yaitu, karbohidrat, protein, serat, berbagai mineral serta kadar air yang tinggi. (Rasyid, 2015)

Dewasa ini, salah satu metode yang dikembangkan dalam dunia pengobatan adalah penggunaan obat tradisional dalam meningkatkan sistem imunitas tubuh. Ketika penyakit menyerang termasuk penyakit infeksi, maka sistem imunitas tubuh akan membunuh penyebab penyakit tersebut dengan cara meningkatkan ketahanan sel. Ini merupakan salah satu alasan meningkatkan sistem imun pasien (Lantapi, 2011)

Salah satu tumbuhan yang dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional adalah umbi bit. Umbi bit merupakan salah satu jenis tanaman dari suku Chenopodiaceae dan memiliki nama latin Beta vulgaris L. Bit mengandung pigmen betasianin yang berfungsi sebagai pewarna alami. Selain sebagai pewarna alami betasianin memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi (Mastuti & Retno, 2010)

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas melalui perlindungan terhadap protein, sel, jaringan, dan organ-organ tubuh. Antioksidan telah terbukti dapat mencegah penuaan dini (anti aging) dan meningkatkan kekebalan tubuh (Nugroho & Kusriadi, 2015)



Sistem imun adalah sistem pertahanan yang ada pada tubuh manusia yang berfungsi untuk menjaga tubuh dari benda-benda yang asing bagi tubuh. Sistem imun berkaitan dengan antibodi, antibodi adalah protein imunoglobulin yang dibentuk oleh sel B. Immunoglobulin M (IgM) merupakan antibodi pertama yang dihasilkan tubuh untuk melawan antigen yang masuk kedalam tubuh (Hasdianah, 2014)

Penelitian terdahulu tentang tanaman bit melakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian jus umbi bit (Beta vulgaris L) terhadap peningkatan kadar hemoglobin dengan menggunakan konsentrasi 20% b/v, 40% b/v dan 80% b/v. Pada konsentrasi 80% b/v dapat meningkatkan kadar hemoglobin yang optimal (Rasyid, 2015)

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian jus umbi bit (Beta vulgaris L) sebagai peningkat kekebalan tubuh (immunodulator) khususnya terhadap peningkatan Imunoglobulin M (IgM) pada tikus putih.

METODE

Alat yang digunakan

Batang pengaduk, gelas piala 50 mL, 100 mL, 250 mL, gelas ukur 10 mL, 50 mL, 100 mL, inkubator, lemari es, labu ukur 100 mL, mikropipet, penangas air, pipet tetes, pisau, sentrifuge, spoid oral, spoid injeksi 1 mL, sendok tanduk, sumur mikrotitrasi, timbangan analitik dan tabung vakutainer.

Bahan yang digunakan

Aluminiumfoil, air suling, jus umbi bit (Beta vulgaris L), kapas steril, kertas Perkamen, larutan Phospat Buffer Saline (PBS) NaCl pH 7,4, Na.CMC 1% b/v, tikus putih (Rattus norvegicus), sel darah merah domba (SDMD) 2% v/v dan stimuno forte.

Prosedur Kerja

Pengambilan Bahan Uji

Bahan penelitian yang digunakan adalah umbi bit (Beta vulgaris L). Umbi bit di peroleh Swalayan Kecamatan Panakkukang, diambildari daerah Dieng, Jawa Tengah. Dieng merupakan salah satu daerah yang membudidayakan umbi bit (Beta vulgaris L.). Umbi bit (Beta vulgaris L) merupakan tanaman yang berasal dari Swedia dan Britania.

Pengolahan Bahan Uji

Sampel umbi bit dibersihkan dengan air bersih dan mengalir. Setelah bersih, kupas kulit umbi bit. Daging umbi bit dipotong-potonglalu dikumpulkan dicuci dengan air bersih dan mengalir, kemudian ditiriskan. Setelah itu, dimasukkan ke dalam alat pembuat jus (blender) untuk dibuat jus dengan konsentrasi 20%, 40% dan 80%

Pembuatan pensuspensi Na.CMC 1% b/v

Suspensi Natrium Karboksimetil selulosa 1% dibuat dengan cara menimbang sebanyak 1 gram dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam 50 mL air yang telah dipanaskan sambil diaduk hingga membentuk suspensi, kemudian



dimasukkan kedalam labu ukur lalu dicukupkan volumenya dengan aquadest hingga 100 mL.

Pembuatan Konsentrasi Jus

Jus umbi bit di buat dalam 3 konsentrasi yaitu 20%, 40 % dan 80% dengan cara umbit bit di potong-potong kecil, ditimbang 20 gram umbi bit dalam 100 ml air suling, kemudian dimasukkan kedalam blender dan diblender sampai halus lalu disaring. Untuk pembuatan jus 40% dan 80% digunakan cara yang seperti diatas yaitu timbang umbi bit masing-masing 40 gram dan 80 gram dalam masing-masing 100 ml air suling.

Pembuatan Suspensi Stimuno Forte Sebagai Kontrol Positif

Ditimbang satu persatu Stimuno Forte sebanyak 20 kapsul, kemudian dijumlahkan dan dihitung berat rata-rata kapsul. Ditimbang 0,1521 gram serbuk Stimuno Forte dan disuspensikan dengan Na.CMC 1% b/v hingga volumenya 100 mL.

Pembuatan Phospate Buffer Saline (PBS) NaCl pH 7,4

- Di pipet 80 mL Na2HPO4 0,947% dan 20 mL NaH2PO4 0,8%, kemudian dihomogenkan (Larutan A).
- Ditimbang 0,44 g NaCl yang diperlukan untuk isotonis, kemudian dilarutkan dengan aquadest 50 mL (Larutan B).
- Dihomogenkan larutan A dan larutan B, kemudian ditambahkan aquadest hingga 100 mL.

 Campurantersebut disterilkan dengan autoklaf pada suhu 1210C selama 15 menit, kemudian disimpan dengan wadah tertutup rapat pada suhu kamar.

Pembuatan Pengenceran SDMD (Sel Darah Merah Domba) 2% v/v

- Ditampung darah domba murni dalam tabung EDTA (Ethylenediaminetetraacetic Acid) bersih dan kering.
- Dicuci domba darah murni untuk memperoleh sel darah domba merah (SDMD) dengan ditambahkan PBS NaCl pH μL, lalu disentrifus dengan 7,4 2000 kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Setelah itu, dibuang lapisan atasnya dan diambil lapisan bawahnya. Diulang 2 kali pencucian dengan cara yang sama.
- Diambil sel darah merah domba (SDMD) sebanyak 2 mL, kemudian ditambahkan dengan PBS NaCl pH 7,4 sebanyak 100 mL untuk mendapatkan konsentrasi 2% v/v.

Perlakuan Terhadap Hewan Uji

- Hewan uji tikus putih jantan sebanyak 15 ekor dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok sebanyak 3 ekor.
- Hewan uji diberi perlakuan selama 5 hari dengan:
 - Kelompok I diberi Aquadest secara peroral sesuai dengan berat badan.
 - Kelompok II diberi jus umbi bit dengan konsentrasi 20% secara peroral sesuai dengan berat badan.



- Kelompok III diberi jus umbi bit dengan konsentrasi40% secara peroral sesuai dengan berat badan.
- Kelompok IV diberi jus umbi bit dengan konsentrasi 80% secara peroral sesuai dengan berat badan.
- Kelompok V diberi suspensi Stimuno
 Forte 50 mg secara peroral sesuai dengan berat badan.
- Diberikan sel darah merah domba 2% v/v (SDMD) sebagai antigen pada hari ke enam sebanyak 1 mL.
- Pada hari ke sepuluh diambil darahnya secara intraokular,lalu disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, lalu diambil serumnya.

Uji Aktivitas Imunoglobulin M (IgM) dengan Metode Hemaglutinasi

- Sumuran yang ada pada mikroplate diberi nomor atau tanda sesuai urutan sampel.
- Serum yang diperoleh lalu diencerkan secara "double dilution" dengan PBS NaCl pH 7,4 dengan perbandingan 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, dan 1/512.
- Pertama-tama di pipet 75 μL PBS untuk setiap sumur, lalu ditambahkan 25 μL serum ke pengenceran terendah 1/, kemudian di pipet 50 μL PBS NaCl pH 7,4 pada setiap pengenceran dari pengenceran 1/8 hingga 1/512.
- Di pipet 50 μL dari pengenceran 1/4 kepengenceran 1/8, lalu dihomogenkan. Di

- pipet 50 μL dari pengenceran 1/8 ke pengenceran 1/16, lalu dihomogenkan.
- Dilakukan prosedur yang sama untuk tiap pengenceran sampai pada pengenceran tertinggi yaitu 1/512, sehingga volume tiap pengenceran menjadi 50 μL.
- Di pipet 50 μL SDMD 2% v/v ke setiap pengenceran sehingga volumenya menjadi 100 μL, lalu dihomogenkan (digoyanggoyangkan selama 5 menit).
- Selanjutnya di inkubasi pada suhu 37oC selama 60 menit dan didiamkan 1x24 jam pada suhu kamar, lalu diamati aglutinasi yang terjadi.

HASIL DAN DISKUSI

Tabel 1. Hasil pengamatan peningkatan imunoglobulin M (IgM) serum darah tikus putih setiap kelompok perlakuan pada sumur mikrotiter setelah diinkubasi 1x24 jam pada suhu kamar pada berbagai tingkat pengenceran.

	D 121	Titer Imunoglobulin M (IgM)						
Replikasi	Kontrol (-)	20% b/v	40% b/v	80% b/v	Kontrol (+)			
	1	0,20	4,44	4,44	4,44	4,44		
	2	0,20	4,44	4,44	4,44	4,44		
	3	1,40	4,44	4,44	4,44	4,44		

Lingkungan sekitar terdapat banyak agen infeksius maupun noninfeksius atau agen – agen yang dapat memapar tubuh. Banyak faktor lain yang dapat melemahkan kekebalan tubuh seperti pola makan maupun pola hidup yang tidak sehat. Pertahanan tubuh erat kaitannya dengan antibodi yang merupakan protein



imunoglobulin. Imunoglobulin adalah sistem imun spesifik dan merupakan substansi pertama yang diidentifikasi sebagai molekul dalam serum yang mampu menetralkan sejumlah mikroorganisme penyebab infeksi.

Tabel 2. Hasil konversi data peningkatan imunoglobulin M (IgM) berdasarkan tingkat pengenceran tertinggi serum darah tikus putih setiap kelompok perlakuan

D ==1:1:	Titer Imunoglobulin M (IgM)						
Replikasi	Kontrol (-)	20% b/v	40% b/v	80% b/v	Kontrol (+)		
1	1/4	1/512	1/512	1/512	1/512		
2	1/4	1/512	1/512	1/512	1/512		
3	1/16	1/512	1/512	1/512	1/512		

Berbagai upaya telah dilakukan untuk meningkatkan sistem imun manusia agar penyakit – penyakit infeksi yang disebabkan oleh mikroba dapat dicegah bahan diobati. Pengobatan tradisional merupakan salah satu alternatif yang mulai banyak dilirik oleh masyarakat.

Penelitian ini menggunakan umbi bit (Beta vulgaris L) yang merupakan salah satu tumbuhan tradisional Indonesia. Menurut Slavov, dkk., 2013 umbi bit kaya akan pigmen betalain, yang terbagi menjadi betasianin dan betaxantin. Senyawa betasianin memiliki sifat fungsional sebagai antimikroba dan antioksidan yang mampu menghambat perkembangan selsel tumor pada tubuh manusia. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jus umbi bit terhadap peningkatan

imunoglobulin M (IgM) sebagai imunitas spesifik.

Pengujian aktivitas imunoglobulin M (IgM) menggunakan metode hemaglutinasi berdasarkan titer imunoglobulin M (IgM). Kelebihan metode hemaglutinasi adalah proses pengamatan yang dapat dilakukan dengan cepat, karena hanya melihat reaksi aglutinasi positif dari sampel. Selain itu bahan dan alat yang digunakan mudah didapatkan.

Pada penelitian ini digunakan antigen berupa sel darah merah domba (SDMD) yang merupakan antigen polivalen yang mempunyai lebih dari satu determinan dibandingkan antigen monovalen. Semakin asing antigen yang digunakan, semakinefektif ia menimbulkan respon imun. Antigen imi diinjeksikan ke tubuh tikus secara intraperitoneal.

Pada hari pertama diberikan jus umbi bit dengan konsentrasi masing- masing 20% b/v, 40% b/v, 80% b/v, aquadest sebagai kontrol negatif, dan stimuno 50 mg sebagai kontrol positif ke tikus putih secara oral hingga hari ke-5. Pada hari ke-6 diberikan antigen SDMD 2% v/v pada setiap hewan uji tikus putih secara intraperitoneal. Kemudian pada hari ke-11 diambil darah setiap hewan uji tikus putih secara intraokular untuk pengamatan imunoglobulin M (IgM).

Darah yang telah diambil kemudian didiamkan pada suhu kamar lalu di sentrifuge untuk memisahkan antara cairan serum dan plasma darah. Uji hemaglutinasi dilakukan



dengan mengencerkan serum yang diperoleh pada sumur mikrotitrasi (well plate) menggunakan Phosphate Buffer Saline (PBS) pH 7,4 secara double dilution dan menambahkan antigen yang sama yaitu SFMD 2% v/v.

Interaksi antara antigen dengan antibodi menyebabkan terjadinya reaksi sekunder, yaitu berupa aglutinasi sebab antigen merupakan partikel-partikel kecil yang tidak larut. Gumpalan yang terbentuk antara antigen dan anti serum spesifik akan bersatu dan akhirnya mengendap sebagai gumpalan-gumpalan besar. Hal ini terjadi karena pada umumnya antibodi memiliki lebih dari satu reseptor pengikat antigen sehingga antibodi bereaksi dengan molekul antigen lain yang mungkin sudah berikatan dengan salah satu molekul antibodi dan terbentuklah gumpalan. Reaksi aglutinasi baru dapat terjadi bila rasio antara antigen dan antibodi seimbang, sehingga terbentuk zona ekuivalen, dibantu oleh suhu tinggi (370- 560) dan dan gerakan yang menambah kontak antigen dan antibodi (misalnya memutar) serta berkumpulnya gumpalan memerlukan garamgaram yang berasal dari PBS yang digunakan.

Pengamatan aktivitas imunoglobulin dilakukan dengan melihat agltinasi yang terjadi dan dihitung sebagai titer antibodi yaitu pengenceran tertinggi dari serum darah tikus putih yang masih menunjukkan reaksi aglutinasi positif pada sumur mikrotitrasi. Semakin terjadi aglutinasi pada pengenceran tertinggi

(pengenceran terencer) maka semakin banyak imunoglobulin M yang terbentuk, sebab konsentrasi jus pada serum darah tikus putih pada pengenceran tertinggi semakin sedikit tetapi antibodi yang terbentuk masih dapat menghambat antigen dengan terjadi penggumpalan darah, dimana proses ini merupakan pertahanan tubuh dari benda asing (antigen).

Umbi bit merupakan umbi yang memiliki kandungan betasianin yang merupakan antioksidan telah diketahui dan dapat memodulasi perkembangan dan respon seluler dari tipe-tipe variasi sel sistem imun dimana mempengaruhi sel T, sel B, makrofag, neutrophil, sel NK, dan sel dendrite. Jika sel T atau CD4 aktif akan memproduksi sytokin (IL-2) dan akan mengaktivasi sel T-Helper I dan II. Sel T- Helper II akan menghasilkan IL-4, IL-6, IL-10, dan IL-5, kemudian oleh sel limfosit B membantu Interleukin (IL) menjadi sel plasma yang akan melepaskan Imunoglobulin atau antibodi (IgE, IgG, IgM, IgD, dan IgA). Imunoglobulin akan menandai antigen kemudian akan mengeliminasi antigen tersebut Berdasarkan hasil titer imunoglobulin (IgM) pada sumur mikrotitrasi dengan metode hemaglutinasi menunjukkan bahwa jus umbi bit (Beta vulgaris L) pada konsentrasi 20% b/v, 40% b/v dan 80% b/v serta stimuno forte terjadi penggumpalan hingga pada pengenceran tertinggi 1/512.



penelitian Pada ini, metode yang digunakan adalah metode Analisis of Varian (ANOVA). Berdasarkan ANOVA menunjukkan bahwa control negatif signifikan atau berbeda nyata dengan konsentrasi jus 20%b/v, 40%b/v, 80% b/vdan stimuno forte. Sedangkan konsentrai jus 20%b/v, 40%b/v, 80%b/v dan stimuno forte, non signifikan atau tidak berbeda nyata. Selanjutnya uji lanjutan menggunakan uji LSD yang menunjukkan bahwa aquadest memiliki perbedaan yang nyata dengan jus 20% b/v, jus 40% b/v, jus 80% b/v dan kontrol positif Stimuno Forte dimana nilai sig > 0,05. Sedangkan untuk Stimuno Forte tidak memiliki perbedaan yang nyata dengan Jus 20% b/v, 40% b/v dan 80% b/v dimana nilai sig < 0,05.

Berdasarkan data diatas dapat disimpulkan bahwa jus umbi bit (Beta vulgaris L) berpengaruh meningkatkan sistem imun tubuh khususnya pada peningkatan imunoglobulin M (IgM) pada konsentrasi 20% b/v, 40% b/v, 80% b/v.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa pemberian jus umbi bit (Beta vulgaris L) berpengaruh atau dapat meningkatkan imunoglobulin M (IgM) pada tikus putih (Rattus norvegicus), pada konsentrasi jus 20% b/v, 40% b/v, 80% b/v.

REFERENSI

- Baratawidjaja, K. G., & Rengganis, I. (2010). *Imunologi Dasar Edisi Ke* – 9. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Hanani, E. (2016). *Analisis Fitokimia*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran ECG.
- Hasdianah. (2014). Imunologi Diagnosis Dan Teknik Biologi Molekuler. *Nuha Medika* : Yogyakarta.
- Lantapi, N. (2011). Uji Efek Jus Buah Mengkudu (Morinda citrifolia Linn) Terhadap Aktivitas Imunoglobulin M (IgM) dan Imunoglobulin G (IgG) Pada Mencit (Mus muscullus). .*Universitas Hasanuddin : Makassar*.
- Mastuti, & Retno. (2010). Pigmen Betalain Pada Famili Amaranthaceae.Basic Science.
- Nugroho, Y. A., & Kusriadi. (2015). Aplikasi Kulit Manggis pada Es Krim. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya: Malang.
- Rasyid, M. (2015). Pengaruh Pemberian Jus Umbi Bit (Beta vulgaris L) Terhadap Peningkatan Kadar Hemoglobulin Pada Mencit (Mus musculus). *Universitas Indonesia: Jakarta*.