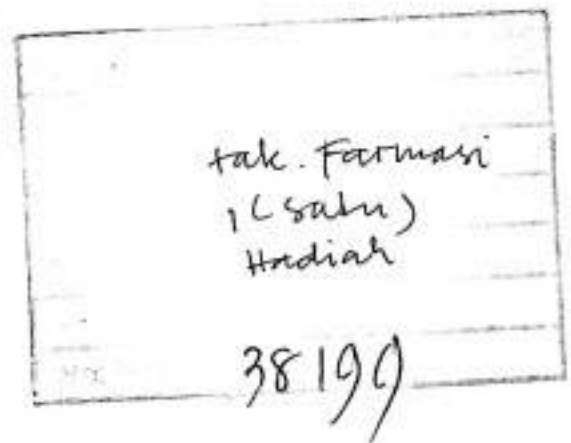


**EFEK EKSTRAK METANOL  
KULIT BUAH MANGGIS (*Garcinia mangostana* Linn.)  
TERHADAP AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN G (IgG)  
PADA KELINCI (*Oryctolagus cuniculus*) JANTAN**

**RESIANA  
H 511 03 030**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2007**

**EFEK EKSTRAK METANOL  
KULIT BUAH MANGGIS (*Garcinia mangostana* Linn.)  
TERHADAP AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN G (IgG)  
PADA KELINCI (*Oryctolagus cuniculus*) JANTAN**

**SKRIPSI**

**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi  
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**RESIANA  
H511 03 030**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2007**

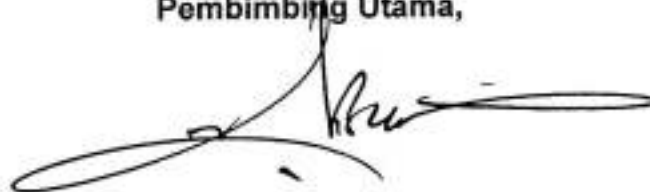
**EFEK EKSTRAK METANOL  
KULIT BUAH MANGGIS (*Garcinia mangostana* Linn.)  
TERHADAP AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN G (IgG)  
PADA KELINCI (*Oryctolagus cuniculus*) JANTAN**

**RESIANA**

**H511 03 30**

**Disetujui oleh :**

**Pembimbing Utama,**



**Drs. H. Hasyim Bariun, M.Si., Apt.  
NIP. 130 878 519**

**Pembimbing Pertama,**



**Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.  
NIP. 131 876 917**

**Pembimbing Kedua,**



**Usmar, S.Si., M.Si., Apt.  
NIP. 132 166 480**

**Pada tanggal**

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan Rahmat-Nya sehingga penulis berhasil menyelesaikan Skripsi ini dan dapat berjalan dengan baik.

Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat yang harus dipenuhi dalam menyelesaikan studi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, dengan judul : " Efek Ekstrak Metanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana*) Terhadap Aktivitas Immunoglobulin G (IgG) Pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) Jantan.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis banyak mendapat hambatan. Namun berkat usaha, kemauan, doa, arahan dan bimbingan serta dukungan dari berbagai pihak, sehingga penulis dapat mengatasinya. Untuk itu perkenankanlah penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Tuhanku Yesus Kristus. Tanpa-Mu semuanya tak akan berarti. Segala pujian, hormat dan kemuliaan hanya kuserahkan bagi-Mu. Amin
2. Bapak Drs. H. Hasyim Bariun, M.Si, Apt sebagai pembimbing utama, bapak Dr. Gemini Alam, M.Si, Apt sebagai pembimbing pertama, dan bapak Usmar, S.Si, M.Si, Apt sebagai pembimbing kedua atas sumbangsih saran, waktu, dan perhatian yang telah beliau berikan kepada penulis dalam menyusun skripsi ini.
3. Ibu Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

4. Bapak dan Ibu Dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
5. Bapak Drs. Abd. Muzakkir Rewa, M.Si, selaku pembimbing akademik penulis.
6. Ayahanda J. Djamir, BA dan ibunda Yosephina Siman A.Ma, yang senantiasa mendoakan, membiayai, serta memberi dukungan yang tak terkira dan tak terbalas dengan apapun jua. Kepadanyalah penulis persembahkan skripsi ini.
7. Kakak-kakakku (Rusmin dan Rikha), adikku (Mantho), tanteku (Pdt. Wasni Siman, S.Th), omku (Otto Gala) dan sepupuku (Berlim dan Arlim) beserta keluargaku yang ada di Makassar terima kasih atas segala dukungan dan perhatian serta doa selama penulis melakukan penelitian.
8. Partnerku Cory Lollo sebagai teman berbagi, suka dan duka semoga apa yang kita alami menjadikan kita lebih mengenal satu sama lain.
9. Buat kakak PAku kak Eva yang selalu memberi semangat dan teman PAku Ani, Stella, Cory dan Chika terima kasih untuk dukungan dan doa kalian semua.
10. Segenap teman-teman biofar lainnya, Stella, Entus, Kak Abo, Kak Neneng, Kak Maria, Kak Bejo, Kak yuyun, dll kehadiran kalian semua meringankan beban dan membuat segalanya menjadi indah.

11. Teman-teman farmasi angkatan '03 yang tak dapat ku sebutkan satu per satu, terima kasih untuk dukungan berupa nasihat dan bantuannya.
12. Buat : Kak Roni, Kak' Habibi, dan Kak Nini terima kasih atas bantuannya selama penelitian.
13. Teman-teman sepersekutuan di PPGT-JT, Pembimbing KAR-GT dan GMKI F-MIPA UNHAS. Terima kasih atas dukungannya dalam doa dan kebersamaan serta canda tawa yang kita lewati bersama.
14. Terima kasih juga buat semua pihak yang telah turut membantu dalam penyusunan skripsi ini, saya tidak dapat menyebutkan satu per satu tapi saya yakin apa yang kalian lakukan telah dilihat Bapa di sorga.

Penulis menyadari bahwa dalam tulisan ini masih banyak terdapat kesalahan, kekeliruan dan kekurangan, oleh karena itu saran dan kritik yang membangun dari pembaca sangat diharapkan.

Makassar, 2007

Penulis

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang efek ekstrak metanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) terhadap aktivitas imunoglobulin G (IgG) kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) jantan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaruh ekstrak metanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) terhadap aktivitas imunoglobulin G (IgG) kelinci jantan dengan menggunakan metode hemaglutinasi. Metode hemaglutinasi, dengan menginduksi aktivitas IgG menggunakan sel darah merah domba (SDMD). Sebelum diinduksi, kelinci diberi ekstrak selama 9 hari berturut-turut. Pengamatan dilakukan setelah 10 hari penginduksian dengan menghitung nilai titer pengenceran tertinggi. Berdasarkan hasil analisis statistika dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan Analisis Sidik Ragam (ASR) serta analisis lanjutan dengan metode uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND) memperlihatkan bahwa pemberian ekstrak metanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) pada semua konsentrasi tidak meningkatkan aktivitas imunoglobulin G (IgG) pada kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) jantan.

Kata kunci : imunoglobulin G (IgG), hemaglutinasi, kulit buah manggis

## ABSTRACT

A research about the effect of methanol extract of mangosteen pericarp (*Garcinia mangostana* Linn.) on the immunoglobulin activity in male rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) has been conducted by hemagglutination method. The IgG activity was induced with Sheep Red Blood Cells. Before induced, rabbit was given extract for 9 days continuously. Then, the hemagglutination was observed 10 days after inducing by calculating the highest dilution value as titer value. The result of statistical analysis with the Complete Random Design (CRD), Duncan Random Significant Difference (DRSD) method showed that administration of methanol extract of mangostine pericarp (*Garcinia mangostana* Linn.) of all concentration don't increase the immunoglobulin G (IgG) activity in male rabbits.

Key word : immunoglobulin G (IgG), hemagglutination, mangosteen pericarp



## DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Uraian Tanaman Manggis ( <i>Garcinia mangostana</i> Linn.).....	4
II.1.1 Sistematika.....	4
II.1.2 Nama Daerah.....	4
II.1.3 Morfologi Tanaman.....	5
II.1.4 Tempat Tumbuh.....	5
II.1.5 Kandungan Kimia.....	6
II.1.6 Kegunaan.....	6
II.2 Uraian Sistem Imun Tubuh.....	7
II.2.1 Definisi.....	7
II.2.2 Imunitas.....	7
II.2.3 Klasifikasi.....	7

II.3 Antigen.....	11
II.4 Antibodi.....	11
II.4.1 Definisi.....	11
II.4.2 Immunoglobulin.....	12
II.4.3 Struktur Immunoglobulin.....	12
II.4.4 Fungsi Immunoglobulin.....	13
II.4.5 Klasifikasi Immunoglobulin.....	13
II.5 Immunoglobulin G (IgG).....	15
II.5.1 Sifat Fisikokimia.....	15
II.5.2 Struktur dan Sifat.....	16
II.5.3 Aktivitas Biologi dan Immunologi.....	16
II.6 Teknik Immunokimia.....	17
II.6.1 Immunopresipitasi.....	18
II.6.2 Aglutinasi.....	18
II.6.3 Hemaglutinasi Pasif.....	19
II.7 Ekstrak dan Ekstraksi.....	20
II.7.1 Definisi Ekstrak.....	20
II.7.2 Definisi Ekstraksi.....	20
II.7.3 Metode Maserasi.....	21
II.8 Uraian Tentang Natrium Carboxymethylcellulosa....	21
<b>BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN.....</b>	<b>22</b>
III.1 Alat dan Bahan yang Digunakan.....	22

III.2 Penyiapan Sampel Penelitian.....	22
III.2.1 Pengambilan Sampel.....	22
III.2.2 Pengolahan Sampel.....	22
III.2.3 Ekstraksi Sampel.....	23
III.2.4 Pembuatan larutan Koloidal NaCMC 1 %b/v.....	23
III.2.5 Pembuatan Suspensi Ekstrak Metanol Garcinia Fructus Cortex.....	23
III.3 Pengujian Aktivitas IgG Pada Hewan Uji.....	24
III.3.1 Pembuatan Phospat Buffer Saline (PBS).....	24
III.3.2 Pembuatan Suspensi Sel Darah Merah Domba (SDMD).....	24
III.3.3 Pemilihan dan Penyiapan Hewan Uji.....	25
III.3.4 Uji Aktivitas Ig Awal.....	25
III.3.5 Perlakuan Terhadap Hewan Uji.....	25
III.3.6 Pengambilan Sampel Darah Hewan Uji.....	25
III.3.7 Uji Hemaglutinasi.....	26
III.3.8 Pengambilan dan Analisis Data.....	26
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>27</b>
IV.1 Hasil Penelitian.....	27
IV.2 Pembahasan.....	28
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>32</b>
V.1 Kesimpulan.....	32
V.2 Saran.....	32

DAFTAR PUSTAKA.....	33
LAMPIRAN.....	36

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja.....	36
2. Analisis Statistika Rasio Aktivitas Imunoglobulin G (IgG) Sebelum Pemberian Ekstrak Metanol Kulit Buah Manggis Dengan Menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) .....	37
3. Analisis Statistika Rasio Aktivitas Imunoglobulin G (IgG) Sesudah Pemberian Ekstrak Metanol Kulit Buah Manggis Dengan Menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan Uji Nyata jarak Duncan (BNJD).....	39
4. Analisis Statistika Rasio Aktivitas Imunoglobulin G (IgG) Awal dengan Rasio Aktivitas Imunoglobulin G (IgG) Sesudah Pemberian Ekstrak Metanol Kulit Buah Manggis Dengan Menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) .....	42
5. Histogram Aktivitas Imunoglobulin G (IgG) Terhadap Konsentrasi Ekstrak Metanol Kulit Buah Manggis ( <i>Garcinia mangostana</i> Linn.).....	45

## DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
1.	Hasil Pengamatan Titer Immunoglobulin G (IgG) Awal Kelinci Jantan.....	27
2.	Hasil Pengamatan Titer Immunoglobulin G (IgG) Setelah Pemberian Esktrak Metanol Kulit Buah manggis Pada Kelinci Jantan.....	27
3.	Data Titer Immunoglobulin G (IgG) Awal Setelah Ditransformasi Dengan $[2 \log (\text{titer})]+1$ .....	37
4.	Hasil Analisis Sidik Ragam (ASR) Perlakuan Terhadap Aktivitas Immunoglobulin G (IgG) Awal.....	38
5.	Data Titer Immunoglobulin G (IgG) Setelah Ditransformasi Dengan $[2 \log (\text{titer})]+1$ .....	39
6.	Hasil Analisis Sidik Ragam (ASR) Perlakuan Terhadap Rasio Perubahan Aktivitas Immunoglobulin G (IgG) .....	40
7.	Hasil Uji BJND (Beda Jarak Nyata Duncan).....	41
8.	Data rata-rata titer imunoglobulin (IgG) awal dan setelah pemberian ekstrak metanol kulit buah manggis setelah ditransformasi dengan : $[2 \log (\text{titer})] + 1$ .....	42
9.	Hasil Analisis Sidik Ragam (ASR) Perlakuan Terhadap Rasio perubahan aktivitas Immunoglobulin C (IgC).....	44

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Histogram Aktivitas Immunoglobulin G (IgG) Terhadap Konsentrasi Ekstrak Metanol Kulit Buah Manggis ( <i>Garcinia mangostana</i> Linn.).....	45
2. Hasil Titer Immunoglobulin G (IgG) Awal Pada Sumur Mikrotitrasi.....	46
3. Hasil Titer Immunoglobulin G (IgG) Setelah Perlakuan Pada Sumur Mikrotitrasi.....	46
4. Domba Sumber Antigen Sel Darah merah Domba (SDMD).....	47
5. Pengambilan Antigen Sel Darah merah Domba (SDMD).....	47
6. Pencucian Sel Darah merah Domba (SDMD).....	48
7. Pengisian Sumur Mikrotitrasi.....	48
8. Penambahan Antigen (SDMD) Ke Dalam Sumur Yang Sebelumnya Telah Diisi Dengan PBS dan Serum Darah Kelinci.....	49
9. Tanaman Manggis ( <i>Garcinia mangostana</i> Linn.).....	49

## BAB I PENDAHULUAN

Beberapa penyebab penting dari penyakit pada manusia adalah agen infeksi, trauma mekanis, bahan kimia beracun, radiasi, suhu yang ekstrim, masalah gizi dan stress psikologik. Salah satu penyebab terjadinya penyakit adalah menurunnya atau kurangnya sistem kekebalan tubuh (sistem imun) (1).

Sistem imun adalah gabungan sel, molekul dan jaringan yang berperan dalam resistensi terhadap infeksi. Sistem imun diperlukan tubuh untuk mempertahankan keutuhannya terhadap bahaya yang dapat ditimbulkan berbagai bahan lingkungan hidup (2). Immunoglobulin (Ig) atau antibodi adalah molekul protein yang sebagian strukturnya mempunyai urutan asam-asam amino khas yang memungkinkan interaksi sangat khusus dengan antigen sesuai. Immunoglobulin dibentuk oleh sel plasma yang berasal dari proliferasi sel B yang terjadi setelah kontak dengan antigen. Immunoglobulin merupakan protein yang mengandung molekul antibodi yang terdapat dalam serum (3). Immunoglobulin (Ig) terbagi 5 kelas yaitu IgM, IgG, IgE, IgA dan IgD. Dan immunoglobulin G adalah immunoglobulin terbanyak dalam darah, cairan serebro spinal dan peritoneal dan merupakan antibodi utama dalam respon imun sekunder pada hampir semua antigen (4).

Salah satu penyebab terjadinya penyakit adalah menurunnya aktivitas dan kadar immunoglobulin dalam tubuh, sehingga untuk



mengembalikannya menjadi normal, maka diperlukan upaya dengan cara pemberian obat. Namun pengobatan dengan menggunakan obat-obat sintetik yang banyak digunakan sekarang membutuhkan harga yang cukup mahal, apalagi melihat kondisi perekonomian bangsa Indonesia saat ini yang sangat lemah sehingga membuat sebagian besar rakyat Indonesia yang pendapatannya rendah sulit untuk membeli obat (5). Selain itu, faktor lain yang juga dapat dipertimbangkan yaitu obat sintetik memberikan efek samping yang cukup besar bagi tubuh. Oleh karena itu, dipilih pengobatan alternatif yaitu menggunakan bahan-bahan alam berupa tanaman obat untuk mengobati penyakit dan salah satu tanaman obat yang dipercaya dapat mengobati penyakit tersebut adalah manggis (*Garcinia mangostana* Linn.)(5).

Manggis (*G. Mangostana* Linn.) adalah pohon tropika yang berasal dari kepulauan Sunda dan Maluku, merupakan familia dari *Clusiaceae* (*Guttiferae*). Pohon manggis tumbuh dengan ketinggian antara 7-25 meter dan menghasilkan buah berwarna ungu pekat yang bisa dimakan. Kulit buah manggis (*Garcinia Fructus Cortex*) agak keras dengan garis pusat 4-6 cm, mengandung zat-zat berkhasiat yaitu xanton, tanin, banyak getah dan zat samak yang sangat baik unuk menjaga kesehatan dan kebugaran, adstringen, sariawan, disentri, antidiare, nyeri urat dan sembelit. Selain itu, xanton juga memiliki aktivitas lain sebagai neuroprotektif, antioksidan, antiproliferasi dan antiinflamasi (7,8,9).

Belakangan ini kulit buah manggis (*G. Mangostana* Linn.) disinyalir dapat mempengaruhi aktivitas IgG pada kelinci jantan. Maka dari itu, dilakukan uji efek ekstrak metanol kulit buah manggis (*G. Mangostana* Linn.) terhadap aktivitas IgG dengan maksud untuk mengetahui dan melihat apakah ekstrak metanol *Garcinia Fructus Cortex* berefek terhadap aktivitas imunoglobulin G (IgG) kelinci jantan (*Oryctolagus cuniculus*) dengan menggunakan metode eksperimen yaitu uji hemaglutinasi dimana antibodi diinduksi dengan antigen dari Sel Darah Merah Domba (SDMD), dan selama 9 hari berturut-turut diberi ekstrak metanol kulit buah manggis. Kemudian, data yang diperoleh dikumpulkan yang selanjutnya dianalisis secara statistika dengan menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL). Sehingga dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang penggunaan kulit buah manggis sebagai sumber obat.

**BAB II**  
**TINJAUAN PUSTAKA**

**II.1 Uraian Tanaman Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.)**

**II.1.1 Sistematika (10,11,12)**

Regnum	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Sub Kelas	: Dialypetalae
Bangsa	: Guttiferales (Clusiales)
Keluarga	: Guttiferae (Clusiaceae)
Marga	: <i>Garcinia</i>
Jenis	: <i>Garcinia mangostana</i> Linn.

**II.1.2 Nama Daerah (7,10,12,)**

Jawa	: Manggis
Aceh	: Manggoita
Lampung	: Manggus, Manggos
Dayak	: Sungkup
Bali	: Manggis, Manggista
Makassar	: Manggusta
Halmahera	: Mangustang

### II.1.3 Morfologi Tanaman (10,11)

Pohon tinggi 6-20 m, helaian daun umumnya tidak utuh, warna kelabu sampai hijau kecoklatan, bentuk jorong sampai jorong memanjang, 12-23 kali 4,5-12 cm. Ujung daun meruncing, pangkal daun meruncing, pinggir daun rata. Tangkai daun 1 cm sampai 1,5 cm. Tulang cabang menyirip hampir sejajar. Permukaan atas agak mengkilap, permukaan bawah agak buram. Disini hanya dikenal bunga betina 1-3 pada ujung ranting, garis tengah 5-6 cm. 2 daun kelopak yang hijau kuning, 2 yang terdalam lebih kecil, bertepi merah, melengkung kuat, tumpul. Daun mahkota bentuk telur terbalik, berdaging tebal, hijau kuning, tepi merah atau hampir semua merah. Staminodia kerap kali dalam kelompok. Bakal buah beruang 4-8. Buah berbentuk bola tertekan, garis tengah 3,5-7 cm. Dinding buah tebal, berdaging, ungu, dengan getah kuning. Biji 1-3, diselimuti oleh selaput biji yang tebal berair, putih, dapat dimakan (juga biji yang gagal tumbuh sempurna).

### II.1.4 Tempat Tumbuh (11)

Manggis (*G. Mangostana* Linn.) adalah pohon tropika yang berasal dari kepulauan Sunda dan Maluku, merupakan familia dari *Clusiaceae* (*Guttiferae*). Pohon manggis tumbuh dengan ketinggian antara 7-25 meter. Dapat tumbuh dengan ketinggian hingga 1500 m di atas permukaan laut terutama di daerah-daerah rendah.

### **II.1.5 Kandungan Kimia (7,10, 12)**

Kandungan zat yang terdapat dalam daun manggis di antaranya adalah triterpenoid, tanin, resin, mangostin, getah damar, kalsium, zat besi dan vitamin B12. Dinding buah banyak mengandung getah dan zat samak, getah banyak mengandung damar dan mangoastine (zat warna kuning berbentuk hablur).

### **II.1.6 Kegunaan (7, 10, 12)**

Beberapa bagian dari tanaman manggis yang dapat digunakan di antaranya adalah : akar, seduhan akarnya dapat diminum untuk haid yang tidak teratur. Gelam kulit kayu dapat diolah menjadi sambal untuk menyembuhkan mukus berat, dilumatkan dengan air kemudian dikumur akan menyembuhkan sariawan, terhadap buang air darah dan mulas dapat diambil gelam kayu yang berair beserta daun yang muda yang seluruhnya dikunyah dengan sedikit kulit lawan kemudian cairannya ditelan. Kulit buah dapat dipakai sebagai adstringen berupa obat dalam yang berbentuk seduhan ataupun dikeringkan dan digerus menjadi serbuk, sebagai pencuci perut (lavement) dan rendam duduk, sebagai obat dalam diberikan dalam wujud seduhan untuk mengobati mencret tanpa tonus, disentri menahun, peradangan saluran kemih yang menahun, pendarahan usus, sebagai obat cacing, tumor dalam rongga mulut dan kerongkongan, pembentukan ludah berlebih. Daun dapat digunakan sebagai adstringen dan antipiretik

## **II.2 Uraian Sistem Imun Tubuh**

### **II.2.1 Definisi (2)**

Sistem imun adalah gabungan sel, molekul dan jaringan yang berperan dalam resistensi terhadap infeksi. Sistem imun diperlukan tubuh untuk mempertahankan keutuhannya terhadap bahaya yang dapat ditimbulkan berbagai bahan dalam lingkungan hidup. Respon imun seseorang terhadap unsur-unsur patogen sangat bergantung pada kemampuan sistem imun untuk mengenal molekul-molekul asing atau antigen yang terdapat pada permukaan unsur patogen dan kemampuan untuk melakukan reaksi yang tepat untuk menyingkirkan antigen.

### **II.2.2 Imunitas**

Imunitas adalah resistensi terhadap penyakit terutama penyakit infeksi (2). Imunitas adalah merupakan jawaban reaksi tubuh terhadap bahan asing secara molekular maupun seluler yang mekanismenya terbagi 2 yaitu sistem imun nonspesifik dan sistem imun spesifik(13). Sebagai bahan pemicu respon imun tersebut dikenal dengan antigen dan sebagai jawaban reaksi imun dikenal dengan antibodi (13).

### **II.2.3 Klasifikasi**

Sistem imun tubuh terdiri dari 2 kelompok yaitu :

#### **1. Sistem Imun Nonspesifik**

Mekanisme fisiologik imunitas nonspesifik berupa komponen normal tubuh yang selalu ditemukan pada individu sehat dan siap mencegah mikroba masuk tubuh dan dengan cepat menyingkirkan

mikroba tersebut. Sistem imun ini telah ada dan siap berfungsi sejak lahir dan mekanismenya tidak menunjukkan spesifitas terhadap bahan asing dan mampu melindungi tubuh terhadap banyak patogen potensial. Sistem ini merupakan pertahanan terdepan dalam menghadapi serangan berbagai mikroba dan memberikan respon langsung (2).

Sistem imun nonspesifik terdiri atas 4 komponen yaitu (2) :

a. Pertahanan Fisik/Mekanik

Pertahanan fisik/mechanik merupakan garis pertahanan terdepan terhadap infeksi yang meliputi kulit, selaput lendir, silia saluran napas, batuk dan bersin. Keratinosit dan lapisan epidermis kulit sehat dan epitel mukosa yang utuh tidak dapat ditembus kebanyakan mikroba. Sebaliknya, kulit yang luka akibat luka bakar dan selaput lendir saluran napas yang rusak oleh asap rokok akan meningkatkan resiko infeksi.

b. Pertahanan Biokimia

Kebanyakan mikroba tidak dapat menembus kulit yang sehat, namun beberapa dapat masuk tubuh melalui kelenjar sebaceous dan folikel rambut. pH asam keringat dan sekresi sebaceous, berbagai asam lemak yang dilepas kulit mempunyai efek denaturasi terhadap protein membran sel sehingga dapat mencegah infeksi yang terjadi melalui kulit. Lisozim dalam keringat, ludah, air mata dan air susu ibu, melindungi tubuh terhadap berbagai kuman positif-Gram oleh karena dapat menghancurkan lapisan peptidoglikan dinding bakteri. Asam hidroklorida dalam lambung, enzim proteolitik, antibodi dan empedu dalam usus halus membantu

menciptakan lingkungan yang dapat mencegah infeksi banyak mikroba. Bahan yang disekresi mukosa saluran napas (enzim dan antibodi) dan telinga berperan pula dalam pertahanan tubuh secara biokimiawi.

#### c. Pertahanan Humoral

Bahan-bahan dalam sirkulasi yang berperan dalam pertahanan humoral adalah komplemen, interferon, CRP dan kolektin. Serum normal dapat memusnahkan dan menghancurkan beberapa bakteri negatif-Gram.

#### d. Pertahanan Selular

Fagosit, makrofag dan sel NK berperan dalam sistem imun nonspesifik selular.

### 2. Sistem Imun Spesifik

Sistem imun spesifik adalah merupakan sistem pertahanan tubuh lapis kedua, jika sistem imun nonspesifik tidak mampu mengeliminasi agen penyakit (13).

Berbeda dengan sistem imun nonspesifik, sistem imun spesifik mempunyai kemampuan untuk mengenal benda yang dianggap asing bagi dirinya. Benda asing yang pertama kali muncul dalam badan segera dikenal oleh sistem imun spesifik sehingga terjadi sensitasi sel-sel imun tersebut. Benda asing yang sama, bila terpajan ulang akan dikenal lebih cepat, kemudian dihancurkan. Respon imun spesifik pengenalan dan pengawasan terhadap benda asing dengan kepekaan yang tinggi (14).



a. Sistem imun spesifik humoral

Pemeran utama dalam sistem imun spesifik humoral adalah limfosit B atau sel B. Sel B berasal dari sel asal multipoten di sumsum tulang. Bila sel B dirangsang oleh benda asing, sel tersebut akan berploriferasi, berdiferensiasi dan berkembang menjadi sel plasma yang memproduksi antibodi (2). Antibodi adalah produk dari elemen sel B (limfosit B dan sel plasma) dan baik terikat sel, maupun disekresi sebagai produk ekstraseluler (14). Antibodi yang dilepas dapat ditemukan dalam serum. Fungsi utama antibodi ini ialah pertahanan terhadap infeksi ekstraseluler, virus dan bakteri serta menetralisasi toksinnya (2). Selain itu, juga mempunyai kemampuan untuk bereaksi dengan benda-benda yang merangsang pembentukan imonogen atau antigen (14).

b. Sistem imun spesifik seluler (2)

Limfosit T atau sel T berperan pada sistem imun spesifik selular. Pada orang dewasa, sel T dibentuk pada sumsum tulang tetapi ploriferasi dan diferensiasinya terjadi di dalam kelenjar timus atas pengaruh berbagai faktor asal timus. Fungsi utama sistem imun spesifik selular ialah untuk pertahanan terhadap bakteri yang hidup intraseluler, virus, jamur, parasit dan keganasan.

c. Kerjasama antara sistem imun nonspesifik dan spesifik (2)

Sistem imun nonspesifik dan sistem imun spesifik berinteraksi dalam menghadapi infeksi. Sistem imun nonspesifik bekerja dengan cepat dan sering diperlukan untuk merangsang sistem imun spesifik.

### II.3 Antigen (13,15)

Antigen adalah substansi yang dapat dikenali dan diikat dengan baik oleh sistem imun. Lebih lanjut, Antigen adalah suatu molekul yang terikat pada suatu struktur protein spesifik yang disebut antibodi. Istilah lain yang berkenaan dengan antigen adalah imunogen yakni suatu antigen yang mengaktifasi sel imun untuk memicu respon imun melawan dirinya sendiri. Antigen dapat berasal dari organisme (bakteri, virus, jamur dan parasit) atau molekul asing bagi tubuh. Tidak setiap bagian dari antigen dapat berinteraksi dengan molekul sistem imun. Bagian dari antigen secara langsung berikatan dengan molekul reseptor (seperti antibodi) yang dikenal dengan epitop.

Hapten adalah molekul organik yang dapat mengikat bagian reseptor antigen. Meskipun molekul ini kecil tetapi dapat menginduksi respon imun sendiri.

### II.4. Antibodi

#### II.4.1 Defenisi

Antibodi adalah protein imunoglobulin yang disekresi oleh sel B yang teraktifasi oleh antigen. Berat molekul antibodi berkisar 150.000 Da sampai 950.000 Da yang tergantung pada kelasnya (13). Bila darah dibiarkan membeku akan meninggalkan serum yang mengandung berbagai bahan larut tanpa sel. Bahan tersebut adalah molekul antibodi yang digolongkan dalam protein yang disebut globulin dan sekarang dikenal sebagai imunoglobulin (2).

Semua molekul antibodi terdiri dari 2 untaian peptida pendek yang sama dikenal dengan light chain, sedang yang terdiri dari untaian peptida panjang disebut heavy chain yang membentuk ikatan disulfida (14).

Fungsi yang paling penting dari antibodi adalah menetralkan toksin dan virus, opsonisasi mikroba sehingga mikroba tersebut dapat difagositosis dengan mudah, mengaktifkan komplemen, dan mencegah serangan mikroba terhadap permukaan mukosa. Sebagai tambahan dari fungsi ini, antibodi memiliki kemampuan katalitik (enzimatik) (2).

#### **II.4.2 Immunoglobulin (Ig) (15,16)**

Immunoglobulin merupakan substansi pertama yang diidentifikasi sebagai molekul dalam serum yang mampu menetralkan sejumlah mikroorganisme penyebab infeksi. Immunoglobulin adalah glikoprotein yang diproduksi oleh sel plasma (sel B) yang dihasilkan dalam bentuk fraksi  $\gamma$  globulin pada serum. Immunoglobulin dibentuk dalam 2 bentuk yang berbeda yaitu sebagai reseptor permukaan untuk antigen dan sebagai antibodi yang disekresikan ke dalam cairan ekstraseluler. Antibodi yang disekresikan dapat berfungsi sebagai adaptor yang mengikat antigen melalui *binding sitenya* yang spesifik sekaligus merupakan jembatan yang menghubungkan antigen dengan sel-sel sistem imun atau mengaktifasi komplemen.

#### **II.4.3 Struktur (2)**

Struktur dasar immunoglobulin terdiri atas 2 rantai berat (H-chain) yang identik dan 2 rantai ringan (L-chain) yang juga identik. Setiap rantai

ringan terikat pada rantai berat melalui ikatan disulfida (S-S), demikian pula rantai berat satu dengan yang lain diikat dengan ikatan S-S. Ada 2 jenis rantai ringan (*kappa* dan *lambda*) yang terdiri atas 230 asam amino serta 5 jenis rantai berat yang tergantung pada kelima jenis imunoglobulin. Rantai berat terdiri atas 450-600 asam amino, sehingga berat dan panjang rantai berat tersebut adalah dua kali rantai ringan.

#### II.4.4 Fungsi

Pada beberapa keadaan, antibodi melaksanakan fungsi proteksinya dengan menetralkan antigen secara langsung. Tetapi yang lebih sering adalah bahwa dalam melaksanakan fungsinya ia dibantu oleh sistem efektor lain, misalnya komplemen, fagosit dan sel sitotoksik (16).

Reseptor Fc (FcRI, FcRII, FcRIII) bersama-sama dengan reseptor komplemen CR1 dan CR3 mempunyai peran penting dalam menangkap dan menyingkirkan kompleks imun. Bentuk trans membran reseptor FcRIII pada makrofag dan sel NK diduga terlibat dalam merangsang sitotoksitas selular. Disamping itu reseptor Fc yang terdapat pada beberapa subpopulasi sel T dan sel B diduga terlibat dalam pengaturan produksi berbagai isotype antibodi walaupun mekanismenya yang pasti belum diketahui (16).

#### II.4.5 Klasifikasi

Lima kelas imunoglobulin tubuh yang dikenal adalah IgG, IgM, IgA, IgD dan IgE. Kelima imunoglobulin ini menunjukkan perbedaan pada rantai beratnya. Rantai berat yang awalnya dipolakan dalam huruf Yunani

diubah dalam huruf Romawi yang menunjukkan sifat dari tiap imunoglobulin; IgG memiliki ikatan  $\gamma$ , IgM memiliki ikatan  $\mu$ , IgA memiliki ikatan  $\alpha$ , IgD mempunyai ikatan  $\delta$ , dan IgE membentuk ikatan  $\epsilon$  (17).

IgG jumlahnya relatif banyak dan mempunyai afinitas yang tinggi untuk berikatan dengan antigen, serta spektrum yang luas dari sifat-sifat biologik sekunder. Pada respon sekunder IgG mungkin merupakan imunoglobulin utama yang disintesis. Dibandingkan dengan yang lain, IgG lebih mudah berdifusi ke ruang tubuh ekstrasvaskular dan sebagian spesies yang predominan, merupakan pertahanan utama untuk menetralisasi toksin bakteri dan untuk berikatan dengan mikroorganisme sehingga memudahkan fagositosis (14).

IgA secara selektif terdapat dalam sekresi seromukus seperti liur, air mata, cairan rongga hidung, keringat, kolostrum, dan cairan sekresi paru-paru genitourinaria dan saluran cerna, dimana terlihat jelas tugasnya dalam melindungi permukaan luar yang terpapar berbagai mikroorganisme. Fungsi IgA adalah mencegah mikroorganisme yang dilapisinya untuk melekat pada sel mukosa, sehingga menghambat masuknya ke jaringan tubuh. IgA juga berikatan dengan banyak sekali antigen terlarut yang berasal dari bahan makanan dan mikroba sehingga jalannya masuk ke dalam tubuh terhambat (14).

IgM sering disebut sebagai antibodi makroglobulin karena berat molekulnya yang tinggi. IgM merupakan molekul pentamer, terutama berada intravaskuler, diproduksi pada saat dini respons imun. Karena

bervalensi tinggi, sangat efektif sebagai pengaglutinasi bakteri dan mediator sitolisis yang tergantung komplemen; oleh karena itu, merupakan pertahanan pertama yang utama pada bakteremia (14).

IgD terutama berada pada permukaan limfosit bersama-sama dengan IgM; keduanya saling berinteraksi dalam peranannya sebagai reseptor antigen, untuk mengontrol aktivasi dan penekanan limfosit. Molekul IgD yang telah berikatan dengan antigen menjadi lebih sensitif terhadap proteolitik (14).

IgE terikat secara kuat pada sel mastoid dan kontak dengan antigen akan diikuti dengan pengerahan agen-agen antimikrobal secara lokal, melalui degranulasi sel mastoid dan pelepasan mediator inflamasi. IgE penting pada beberapa infeksi parasit dan berperan dalam timbulnya gejala alergi atopik (14).

## **II.5 Immunoglobulin G (IgG)**

### **II.5.1 Sifat Fisikokimia (18)**

IgG normalnya terdapat dalam serum orang dewasa pada konsentrasi 1,0 sampai 1,4 gram per 100 ml, dan itu berarti 12 sampai 18 persen dari total protein serum. IgG juga didistribusikan secara ekstravaskular (sekitar 50%). Rata-rata dihasilkan sekitar 2,3 gram per hari (untuk berat badan sekitar 70 Kg) dan  $T_{1/2}$  nya sekitar 23 hari. Kandungan karbohidrat dari IgG sangat rendah : 2,5 %. Berat molekul dari IgG sekitar 160.000 dalton dan koefisien sedimentasinya sekitar 7 S (7 Svedbergs).

### II.5.2 Struktur dan Sifat (14)

Tiap molekul IgG terdiri atas dua rantai L dan dua rantai H yang dihubungkan oleh ikatan disulfida. Oleh karena itu imunoglobulin ini mempunyai dua tempat pengikatan antigen yang identik, maka disebut divalen. Terdapat empat sub kelas (IgG1 sampai IgG4) berdasarkan perbedaan antigenik pada rantai H dan berdasarkan jumlah dan lokasi ikatan disulfida. IgG1 sebanyak 65 % dari total IgG. IgG2 ditujukan untuk melawan antigen polisakarida dan mungkin berperan penting dalam pertahanan penjamu melawan bakteri berkapsul.

IgG merupakan antibodi dominan pada respon sekunder dan menyusun pertahanan yang penting melawan bakteri dan virus. Ini merupakan satu-satunya antibodi yang mampu melintasi plasenta, oleh karena itu merupakan imunoglobulin yang paling banyak ditemukan pada bayi baru lahir.

### II.5.3 Aktivitas Biologi dan Imunologi (2)

IgG dan komplemen bekerja saling membantu sebagai opsonin (memudahkan fagositosis) pada pemusnahan antigen. IgG memiliki sifat opsonin dan efektif karena sel-sel fagosit, monosit, dan makrofag, mempunyai reseptor untuk fraksi Fc dari IgG (Fc $\gamma$ -R) sehingga dapat mempererat hubungan antara fagosit dengan sel sasaran. Opsonin dalam bahasa Yunani berarti menyiapkan untuk dimakan. Selanjutnya proses opsonisasi tersebut dibantu oleh reseptor untuk komplemen pada permukaan fagosit.

IgG berperan dalam imunitas seluler karena dapat merusak antigen sel melalui interaksi dengan sistem komplemen atau melalui efek sitolitik sel NK, eosinofil, neutrofil yang semuanya memiliki Fcy-R. sel NK merupakan efektor dari *Antibody Dependent Cell mediated Cytotoxicity* (ADCC). ADCC tidak hanya merusak sel tunggal, tetapi juga mikroorganisme multiseluler seperti telur skistosoma. Peranan efektor ADCC ini juga penting dalam penghancuran kanker, penolakan transplan dan penyakit autoimun, sedangkan ADCC melalui neutrofil dan eosinofil berperan pada infestasi parasit. Kadar IgG meninggi pada infeksi kronis dan penyakit autoimun.

## II.6 Immunokimia

Antibodi merupakan komponen imunitas didapat yang melindungi tubuh terhadap infeksi mikroorganisme dan produknya yang toksik. Oleh itu interaksi antara antigen dan antibodi sangat penting dan banyak digunakan invitro untuk tujuan diagnostik. Interaksi antara antigen dan antibodi dapat menimbulkan berbagai akibat antara lain presipitasi (bila antigen merupakan bahan larut dalam garam fisiologik), aglutinasi (bila antigen merupakan bahan tidak larut/partikel-partikel kecil), netralisasi toksin dan aktivasi komplemen. Kebanyakan reaksi tersebut disebabkan oleh interaksi antara antigen multivalen dan antibodi yang sedikitnya memiliki 2 tempat ikatan per molekul (16).



### II.6.1 Imunopresipitasi (17)

Teknik imunopresipitasi merupakan salah satu cara yang banyak dipakai untuk mengukur kadar antigen atau antibodi. Antibodi yang direaksikan dengan antigen spesifik membentuk kompleks yang tidak larut (presipitat) yang dapat diukur dengan berbagai cara. Reaksi presipitasi dapat dilangsungkan dalam media cair maupun media semi solid (gel).

Perbandingan antigen dengan antibodi merupakan faktor terpenting dalam reaksi presipitasi. Pembentukan presipitat terjadi apabila antara konsentrasi antigen dengan antibodi terjadi kesetimbangan. Kondisi antigen berlebihan akan mengakibatkan melarutnya kembali kompleks yang terbentuk, sedangkan antibodi berlebihan menyebabkan kompleks antigen-antibodi tetap ada dalam larutan.

Beberapa jenis reaktan\_ menghasilkan imunopresipitasi yang optimal baik pada suhu  $0^{\circ}\text{C}$  maupun  $37^{\circ}\text{C}$ , sedangkan pH yang dianggap paling baik adalah pH yang netral yaitu antara 6 – 7,5 atau sebaiknya tidak kurang dari 6 dan tidak lebih dari 8,6. pada pH kurang dari 6 dan lebih dari 8,6 kompleks antigen-antibodi mudah berdisosiasi kembali sehingga tidak terjadi presipitasi.

### II.6.2 Aglutinasi (14, 17)

Ikatan protein antigen yang multivalen dengan antibodi membentuk presipitat, sedangkan ikatan sel atau partikel yang lebih besar dengan antibodi terhadap antigen pada permukaan menyebabkan aglutinasi.

Reaksi aglutinasi terjadi dalam dua tahap, yaitu pertama-tama antibodi dengan salah satu reseptor pengikat antigen bereaksi dengan antigen. Karena pada umumnya antibodi memiliki lebih dari satu reseptor pengikat antigen maka pada tahap kedua dengan perantaraan reseptornya yang lain antibodi bereaksi dengan molekul antigen lain yang mungkin sudah berikatan dengan salah satu molekul antibodi sehingga dengan demikian terbentuklah gumpalan antigen-antibodi. Mudah dimengerti bahwa aglutinasi lebih mudah terjadi dengan antibodi kelas IgM yang berbentuk pentamer dibandingkan IgG atau IgA yang mempunyai reseptor pengikat antigen lebih sedikit.

### **II.6.3 Hemaglutinasi pasif (19)**

Pada hemaglutinasi pasif, sel darah merah diaglutinasi oleh antibodi yang menyerang antigen yang telah digabungkan secara kimiawi pada permukaan sel darah merah. Jadi sel darah merah merupakan indikator nyata dari interaksi antigen dan antibodi.

Langkah pertama dari cara ini yaitu mensensitasi sel darah merah yaitu menggabungkan antigen ke dalamnya. Beberapa antigen polisakarida dapat diabsorpsi dengan stabil pada permukaan sel darah merah. Untuk antigen protein, larutan asam tannik atau krom klorida dapat digunakan untuk menggabungkan antigen pada sel darah merah.

Langkah terakhir yaitu dengan menambahkan sel darah merah yang telah disensitasi tadi ke dalam pengenceran bertingkat dari antibodi.

Selanjutnya pengenceran tertinggi dari larutan yang masih menunjukkan reaksi aglutinasi didefinisikan sebagai titer dari antibodi.

## **II.7 Ekstrak dan Ekstraksi**

### **II.7.1 Definisi Ekstrak (20)**

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan mengekstraksi simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh cahaya matahari langsung.

### **II.7.2 Definisi Ekstraksi (21,22)**

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan dan termasuk biota laut. Zat-zat aktif tersebut berada di dalam sel, namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya.

Umumnya, zat aktif yang terkandung dalam tanaman maupun hewan lebih larut dalam pelarut organik. Proses terekstraksinya zat aktif dalam tanaman adalah pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan terlarut sehingga terjadi perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan pelarut organik diluar sel. Maka larutan terpekat akan berdifusi ke luar sel, dan proses ini berulang terus sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam sel dan di luar sel.

### II.7.3 Metode Maserasi (21)

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari.

Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam larutan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, sitraks dan lain-lain.

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan.

### II.8 Uraian Tentang Natrium Karboksimetilselulosa (20)

Natrium karboksimetilselulosa adalah garam polikarboksimetil eter selulosa, berupa serbuk atau butiran, putih atau putih kuning gading, tidak berbau atau hampir tidak berbau, higroskopik. Mudah terdispersi dalam air, membentuk suspensi koloidal, tidak larut dalam etanol (5%), dalam eter P dan dalam pelarut organik lain.

## BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN

### III.1 Alat dan Bahan yang digunakan

Alat-alat yang digunakan antara lain bejana maserasi, gelas kimia 100 ml, gelas ukur 25 ml, labu tentu ukur 100,0 ml, lemari pendingin, jarum oral, jarum suntik, pengaduk elektrik, sumur mikrotiter tipe U (*Well plate 96 lubang*), sentrifuge (*Hettich*), timbangan analitik (*Dragon 303*), timbangan gram (*O'hauss*), timbangan hewan (*Denver*) dan Vakum Buchner.

Bahan-bahan yang dibutuhkan antara lain air suling, etanol 96%, Betadin<sup>®</sup>, *Garcinia Fructus Cortex*, kapas, larutan koloidal Na-CMC 1%, larutan PBS (*Phosphat Buffered Saline*), kelinci jantan (*O. cuniculus*), dan sel darah merah domba.

### III.2 Penyiapan Sampel Penelitian

#### III.2.1 Pengambilan Sampel

Sampel buah manggis (*G. mangostana*) segar diambil dari pasar Kecamatan Mangkutana, Kabupaten Luwu Timur, Sulawesi Selatan.

#### III.2.2 Pengolahan Sampel

Buah dicuci dengan air mengalir lalu dibelah. Daging buah dikeluarkan dan dipisahkan dari kulitnya. Kulit buah yang telah dipisahkan dipotong kecil-kecil dan dikeringkan tanpa terkena sinar matahari langsung, kemudian diserbukkan dengan alat penyerbuk (*Hummemill*) dengan derajat kehalusan 4/18.

### III.2.3 Ekstraksi Sampel (23)

Sebanyak 600 g serbuk simplisia kulit buah manggis dimasukkan ke dalam bejana maserasi, lalu diekstraksi bertingkat, pertama kali dengan heksan sebanyak 5 liter selama 5 hari, setiap hari dilakukan pengadukan hingga diperoleh ekstrak heksan. Ampasnya kemudian dikeringkan lalu dimaserasi dengan metanol sebanyak 5 liter selama 5 hari, setiap hari dilakukan pengadukan. Wadah maserasi ditutup rapat tanpa terkena sinar matahari langsung dan setelah 5 hari, ekstrak disaring dan ampasnya ditambah kembali dengan metanol yang baru. Ekstrak dikumpulkan lalu disaring dengan menggunakan vakum Buchner. Filtrat diuapkan dengan menggunakan alat rotavapor sampai diperoleh ekstrak kental, lalu ditimbang.

### III.2.4 Pembuatan Larutan Koloidal Na-CMC 1% b/v (24)

Sebanyak 1 gram Na-CMC dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam 50 ml air suling yang telah dipanaskan pada suhu 70°C sambil diaduk dengan pengaduk elektrik hingga terbentuk larutan koloidal. Setelah itu, volume larutan dicukupkan hingga 100 ml dengan air suling.

### III.2.5 Pembuatan Suspensi Ekstrak Metanol Garcinia Fructus Cortex

Suspensi ekstrak metanol Garcinia Fructus Cortex dibuat dengan menggunakan pendispersi larutan koloidal Na-CMC 1% b/v dalam beberapa konsentrasi yaitu 1, 1,5 dan 2 %b/v. Untuk membuat suspensi dengan konsentrasi 1 %b/v, 1 g ekstrak metanol lalu digerus dalam lumpang dan ditambahkan Na-CMC sebanyak 2 ml kemudian dicukupkan

dengan Na-CMC 1 %b/v hingga 100 ml. Suspensi ekstrak dengan konsentrasi 1,5 %b/v dan 2 %b/v dibuat dengan cara yang sama dengan jumlah ekstrak masing-masing 1,5 g dan 2 g.

### **III.3 Pengujian Aktivitas IgG Pada Hewan Uji**

#### **III.3.1 Pembuatan Phosphat Buffered Saline (PBS) (25)**

Phosphat Buffered Saline (PBS) dibuat dengan cara mencampurkan larutan I yaitu larutan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  1,3 g/l dan NaCl 8,3 g/l sebanyak 280 ml dengan larutan II yaitu larutan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  1,42 g/l dan NaCl 8,5 g/l sebanyak 720 ml sampai diperoleh PBS dengan pH 7,2.

#### **III.3.2 Pembuatan Suspensi Sel Darah Merah Domba (SDMD) 2% (24)**

Sebanyak 1 ml darah domba ditampung dalam tabung yang bersih dan telah dikeringkan yang berisi dengan 1 mg EDTA yang berfungsi sebagai antikoagulan. Kemudian disentrifus dengan kecepatan 1500 rpm untuk memisahkan sel darah merah domba (SDMD) dari plasmanya. Sel darah merah domba yang didapatkan dicuci dengan penambahan sejumlah besar Phosphat Buffered Saline (PBS) dalam tabung, lalu tabung tersebut dibolak-balik beberapa kali, setelah itu disentrifus kembali. Pencucian dilakukan paling sedikit 3 kali. Setelah disentrifus, PBS dikeluarkan sehingga yang tertinggal adalah SDMD 100%, lalu ditambahkan lagi PBS dengan jumlah yang sama hingga diperoleh suspensi SDMD 50%. Sebanyak 0,4 ml SDMD 50% diencerkan dengan 9,6 ml PBS hingga diperoleh suspensi antigen (SDMD 2% v/v).

### III.3.3 Pemilihan dan Penyiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah kelinci jantan (*O. cuniculus*) yang sehat, sebanyak 4 ekor yang akan diberi perlakuan yang berbeda-beda.

### III.3.4 Uji Aktivitas IgG Awal

Sebelum diimunisasi, semua kelinci diambil darahnya melalui vena telinga sebanyak 1 ml. Diletakkan dalam suhu kamar selama 1-2 jam, lalu disentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Setelah itu, diencerkan dengan PBS dengan pengenceran 2 kali dimulai 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, dan 1/512. Kemudian masing-masing pengenceran dipipet 50  $\mu$ l, dimasukkan ke dalam sumur mikrotiter lalu ditambahkan 50  $\mu$ l suspensi SDMD. Setelah itu, diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C lalu didiamkan semalam pada suhu kamar.

### III.3.5 Perlakuan Terhadap Hewan Uji (26)

Pada perlakuan ini, mula-mula kelinci jantan diimunisasi dengan 10 ml/ekor suspensi sel merah darah domba 2 % secara intra peritoneal. Untuk perlakuan kontrol, diberikan suspensi Na-CMC 1 % 20 ml/2,5 kg, ekstrak metanol masing-masing 1 %, 1,5 % dan 2 % dengan volume 20 ml/2,5kg bobot badan kelinci secara oral hingga hari kesepuluh setelah imunisasi. Pada hari kesepuluh, darah kelinci diambil melalui telinga.

### III.3.6 Pengambilan Sampel Darah Hewan Uji

Sampel darah hewan uji diambil melalui telinga pada hari kesepuluh setelah pemberian ekstrak dan diletakkan pada suhu kamar selama 1-2 jam hingga darah tersebut membeku/menggumpal lalu diambil



serumnya (supernatan) dengan cara disentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm.

### III.3.7 Uji Hemaglutinasi (27)

Serum yang diperoleh lalu diencerkan secara "double dilution" dengan Phospat Buffered Saline dengan perbandingan 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, dan 1/512. Dari masing-masing perbandingan ini dipipet sebanyak 50  $\mu$ l dan diletakkan pada 9 sumur piring mikrotitrasi (*well plate 96*), setelah itu ditambahkan 50  $\mu$ l suspensi sel darah merah domba 2% pada setiap sumur dan diaduk rata atau digoyang-goyang selama 5 menit. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit atau 1 jam dan didiamkan semalam pada suhu kamar. Setelah itu, dilakukan pengamatan pengenceran tertinggi dari setiap serum darah kelinci jantan yang masih dapat mengaglutinasi sel darah merah domba. \_

### III.4 Pengumpulan dan Analisis data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan pengenceran tertinggi serum darah mencit yang masih dapat mengaglutinasi sel darah merah domba dikumpulkan yang selanjutnya dianalisis secara statistika dengan menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL) .

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### IV.1 Hasil Penelitian

Berat ekstrak yang diperoleh = 150 gram.

Data Uji aktivitas immunoglobulin G (IgG) setelah pemberian ekstrak metanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana*) 1, 1,5, dan 2% berdasarkan titer immunoglobulin G (IgG) pada kelinci jantan 10 hari setelah diberikan SDMD 2%v/v adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Data uji aktivitas immunoglobulin G Awal

Replikasi	Titer Immunoglobulin G (IgG)			
	Kontrol	Kulit buah manggis 1%	Kulit buah manggis 1,5%	Kulit buah manggis 2%
Replikasi 1	-	1/4	1/16	1/4
Replikasi 2	-	1/8	1/32	1/32
Replikasi 3	-	1/8	1/32	1/32

Tabel 2. Data uji aktivitas immunoglobulin G Setelah Pemberian Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.)

Replikasi	Titer Immunoglobulin G (IgG)			
	Kontrol	Kulit buah manggis 1%	Kulit buah manggis 1,5 %	Kulit buah manggis 2%
Replikasi 1	1/8	1/16	1/32	1/32
Replikasi 2	1/8	1/8	1/32	1/32
Replikasi 3	1/16	1/4	1/32	1/16

## IV.2 Pembahasan

Telah dilakukan pengujian efek ekstrak metanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) terhadap sistem imun tubuh menggunakan parameter imunoglobulin G (IgG). IgG merupakan sistem imun spesifik yang terdapat dalam sistem sirkulasi (humoral) sehingga memungkinkan penggunaan serum pada pengujiannya.

Injeksi suatu substansi asing ke dalam binatang yang mampu membuat respon imun akan menghasilkan antibodi spesifik yang muncul dalam serum sesudah beberapa waktu berselang. Imunogen tersebut akan menyebabkan pengiriman sinyal pada sel-sel yang bertugas untuk membuat antibodi. Antibodi yang dibentuk sebagai reaksi terhadap salah satu jenis antigen mempunyai susunan asam amino yang berbeda dengan antibodi yang dibentuk terhadap antigen lain dan masing-masing hanya dapat berikatan dengan antigen yang relevan. Antigen yang digunakan dalam penelitian ini adalah sel darah merah domba (SDMD) yang diinjeksikan ke dalam tubuh kelinci sehari sebelum pemberian ekstrak metanol kulit buah manggis. Pemberian ekstrak metanol kulit buah manggis dilakukan selama 9 hari, kemudian darah kelinci diambil melalui vena telinga. Pengamatan dengan melihat aglutinasi yang terjadi dan dihitung sebagai titer aglutinasi yaitu pengenceran tertinggi dari serum darah kelinci yang memberikan reaksi aglutinasi positif.

Aglutinasi terjadi bila antigen yang berbentuk partikel direaksikan dengan antibodi spesifik. Antibodi tersebut disebut spesifik jika hanya

bereaksi dengan antigen yang merangsang produksinya. Gumpalan yang terbentuk antara antigen dan antibodi spesifik akan bersatu dan akhirnya mengendap sebagai gumpalan-gumpalan besar dan mudah terlihat dengan cairan di atasnya tetap jernih. 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. Dan reaksi aglutinasi dibantu oleh suhu yang tinggi ( $37-56^{\circ}\text{C}$ ) dan oleh gerakan yang menambah kontak antigen dan antibodi (misalnya mengocok, mengaduk dan memusing) dan berkumpulnya gumpalan memerlukan garam-garam.

Pendiaman selama 10 hari tanpa perlakuan dilakukan dengan asumsi telah terjadi sensitasi terhadap sel B selama rentang waktu tersebut sehingga terbentuk sel plasma dan sel memori yang akan berdiferensiasi membentuk antibodi. Pada respon primer, terbentuknya IgG didahului oleh IgM. IgM akan terbentuk mulai dari hari pertama dan mencapai puncaknya antara hari kelima hingga hari ketujuh, setelah itu mulailah IgG disensitasi. Injeksi berulang menggunakan antigen sel darah merah domba memfungsikan sel memori yang mengenali SDMD sebagai suatu antigen asing dan segera ditangkap oleh antibodi.

Dari hasil pengamatan titer aglutinasi pada Tabel 1, tidak menunjukkan terjadinya peningkatan aktivitas immunoglobulin G (IgG) secara signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa, dalam tubuh kelinci sudah

terdapat antibodi sehingga pada saat dilakukan uji aglutinasi awal maka darah kelinci membentuk antibodi untuk melawan antigen yang masuk. Hasil pengamatan pada Tabel 2, menunjukkan tidak terjadinya peningkatan aktivitas imunoglobulin G (IgG) pada pemberian ekstrak metanol 1 % di mana rata-rata titer imunoglobulinnya 1/9,33 bila dibandingkan dengan kontrol yang rata-rata titer imunoglobulinnya 1/10,67. Sedangkan pada perlakuan dengan pemberian ekstrak metanol 1,5 % dan 2 % menunjukkan terjadinya peningkatan aktivitas imunoglobulin G (IgG) dengan rata-rata titer imunoglobulinnya sebesar 1/32 dan 1/26,67.

Berdasarkan analisis statistika dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan Analisis Sidik Ragam (ASR) memperlihatkan bahwa pemberian ekstrak metanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) memberikan efek yang nyata terhadap peningkatan aktivitas imunoglobulin G (IgG), yang dapat dilihat dari nilai F hitung yang lebih besar dari F tabel 5%.

Analisis antar perlakuan menggunakan Uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND) antara perlakuan kontrol dengan kelompok perlakuan dengan ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana*) menunjukkan perbedaan yang tidak nyata antara kontrol (NaCMC) dengan ekstrak 1% sedangkan kontrol NaCMC dengan ekstrak 1,5 % menunjukkan perbedaan yang nyata. Antara ekstrak 1 % dan 1,5 % menunjukkan perbedaan sangat nyata, antara ekstrak 1 % dan 2 % menunjukkan

perbedaan yang nyata dan antara ekstrak 1,5 % dan 2 % menunjukkan perbedaan yang tidak nyata. Hal ini berarti terjadi peningkatan aktivitas imunoglobulin G (IgG) pada konsentrasi ekstrak 1,5% dibandingkan konsentrasi ekstrak 1 % dan 2 % tetapi peningkatan aktivitas imunoglobulin G (IgG) ini bila dibandingkan dengan hasil statistik antara imunoglobulin awal dan setelah pemberian ekstrak tidak menunjukkan peningkatan yang signifikan (tidak nyata). Gambaran mengenai hasil aktivitas IgG tersebut dapat dilihat pada gambar 1.

Penelitian mengenai aktivitas biologik infus Benalu (*Scurulla atropurpurea* Bl. Danger)<sup>24</sup> terhadap aktivitas sistem imun pada mencit menunjukkan hasil yang sama dengan ekstrak metanol kulit buah manggis dimana hasilnya tidak menunjukkan peningkatan yang signifikan terhadap aktivitas imunoglobulin. Berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Habibie<sup>27</sup> yang menggunakan ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) dengan konsentrasi 0,125%, 0,25%, 0,5% dan 1,0% b/v. dimana konsentrasi optimum dari pemberian ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) yang dapat meningkatkan aktivitas imunoglobulin G (IgG) secara signifikan adalah 0,5 % b/v. Begitu pula dengan penelitian yang dilakukan oleh Nirwana<sup>28</sup> yang menggunakan ekstrak metanol dengan konsentrasi 0,1%, 0,3% dan 0,5% dimana terjadi peningkatan aktivitas imunoglobulin G (IgG) secara signifikan pada mencit jantan.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data secara statistika, maka disimpulkan bahwa pembeian ekstrak metanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) pada semua konsentrasi tidak meningkatkan aktivitas imunoglobulin G (IgG) pada kelinci jantan.

#### V.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda untuk melihat efek konsentrasi ekstrak metanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) terhadap aktivitas imunoglobulin G (IgG).

## DAFTAR PUSTAKA

1. Price, S.A., dan Wilson, L.M., 1995. *Patofisiologi Konsep-Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Terjemahan oleh Anugrah. P. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hal. 68.
2. Bratawidjaya, K.G., 2006. *Imunologi dasar*. Edisi VII. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Hal. 6, 73-75.
3. Male, D., 2004. *Imunology an Illustrated Out Line*. Fourth Edition. Mosby. Sidney-Toronto. Hal. 86.
4. Paul, W.A., 2003. *Fundamental Immunology*. Fifth Edition. Lippincott Williams and Willans. Philadelphia-USA. Hal. 1326.
5. Wijayakusuma. H., 2001. *Tumbuhan berkhasiat Obat Indonesia : Rempah, Rimpang dan Umbi*. Milenia Populer. Jakarta. Hal 103-104.
6. Rukmana, R., 1994. *Budidaya Manggis*. Kanisius. Jakarta. Hal 11 dan 14.
7. Senosastroamidjojo, R.A., 1997. *Obat Asli Indonesia*. Dian Rakyat. Jakarta. Hal. 180.
8. Jung, H.A., Su, B.N., Keller, W.J., Mehta, R.G., and Kinghorn, A.D., 2006. Antioxidant xanthenes from the pericarp of *Garcinia mangostana* (Mangosteen). *J. Agric Food Chem.* Vol 6, Page 2077-2082.
9. Moongkarndi, P., Kosem, M., Kaslungka, S., Luanratana, O., Pongpan, N., and Neungton, N., 2004. Antiproliferation, antioxidant and induction of apoptosis by *Garcinia mangostana* (Mangosteen). *Journal of Ethnopharmacology.* (Vol. 90) (No. 1). Page 161-166.
10. Heyne, K., 1987, *Tanaman Berguna Indonesia*, Jilid II, Cetakan pertama, Badan Litbang, Departemen Kehutanan, Jakarta, 1385-1386
11. Steenis, C.G.G.J Van, 1987, *Flora*, Cetakan ke 4, PT Pradnya Paramita, Jakarta, 306
12. Direktorat Jenderal POM., 1989. *Materia Medika Indonesia*, jilid V. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 221-225

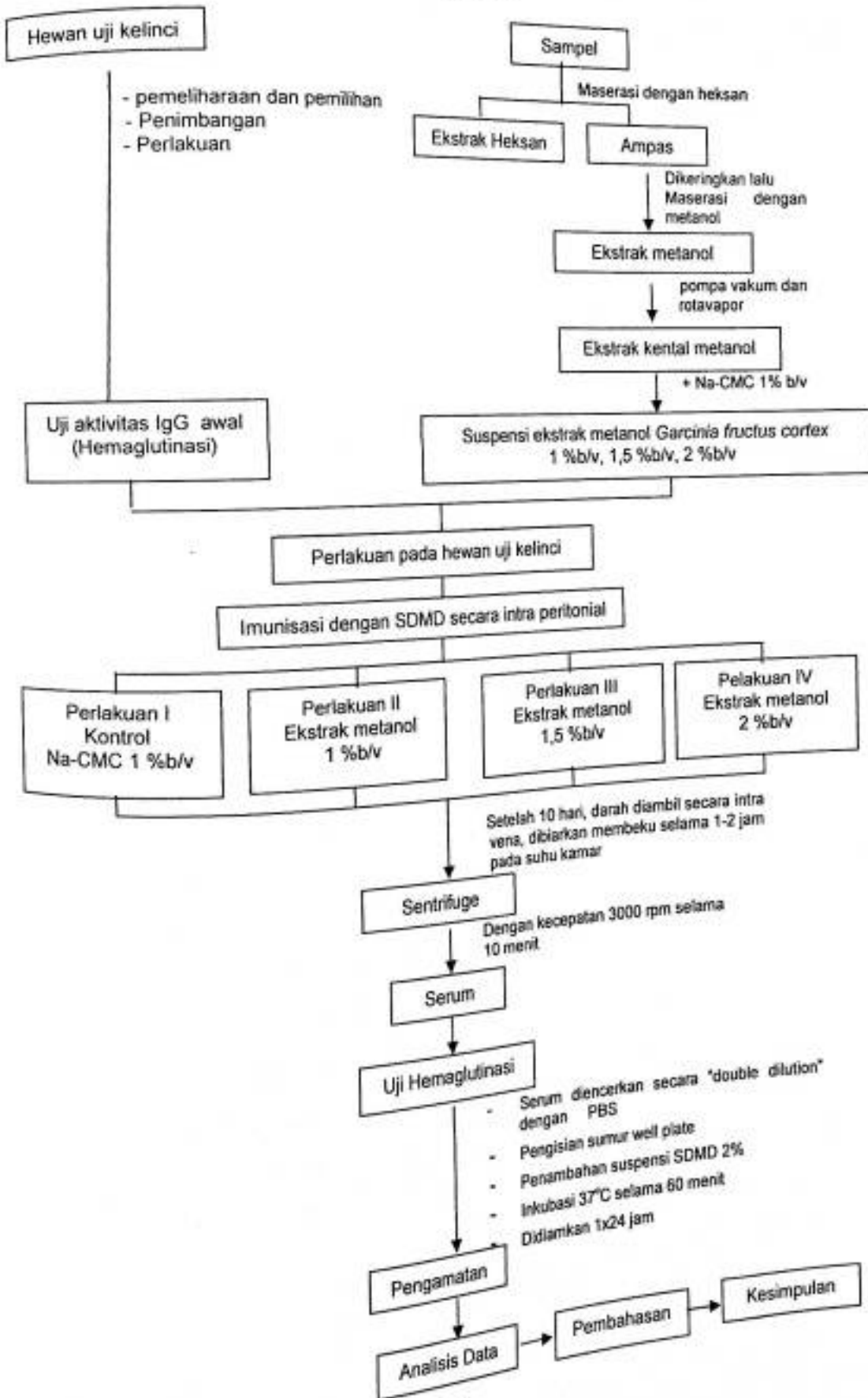


13. Rantam, A.F., 2003. *Metode Immunologi*. Airlangga University Press. Surabaya. Hal 3,5 dan 9.
14. Roitt, I. 1994. *Essential Immunology*, Eight edition, Black Well Scientific Publications, London. 43
15. Bellanti. J.A., 1993. *Imunologi*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hal 12,
16. Clancy, J. 2000. *Basic Concepts in Immunology*, McGraw-Hill Companies, Singapore. Hal 19, 20, 26
17. Kresno, S.,B., 1996, *IMUNOLOGI : Diagnosa Dan Prosedur Laboratorium*. Edisi Ketiga, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta. Hal 4, 11, 26-29, 271-273
18. Rose, N., 1973. *Principles of Immunology*, Maacmillan Publishing CO, New york. Page 124-125
19. Kimbal, John W. 1986. *Introduction to Immunology*, second edition, Macmillan Publishing Company, New York. 96, 98
20. Direktorat Jendral POM. 1979. *Farmakope Indonesia*, Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta. Hal 9,378,401,602,645
21. Gennaro, A. R. 1990. *Remington's Pharmaceutical Science*, 18<sup>th</sup> Edition, Mack Publishing Company, Easton-Pensylvania. 1047
22. Direktorat Jenderal POM., 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Hal. 10-12.
23. Parrot, E.L., 1979. *Pharmaceutical Technology Fundamental Pharmaceutics*. Burgess Publishing Company. USA. Hal. 353.
24. Winarno, M., 2000. *Penelitian Aktivitas Biologik Infus Benalu Teh (Surulla tropurpurea BL. Danser) Terhadap Aktivitas Sistem Imun Mencit*. <http://www.Kalbefarma.com/files/cdk/files/06>.
25. Malole, M.B.M., dan Pramono, C.S.U, 1989. *Penggunaan Hewan-hewan Percobaan di Laboratorium*. Institut Pertanian Bogor. Hal. 24.

26. Ma'at, S., 2004. *Penelitian dan pengembangan Produk Fitofarmaka dari Daun Jambu Biji (Psidium guajava L.) untuk Terapi Demam Berdarah Dengue Berdasarkan Data Preklinik, Toksisitas dan Percobaan Klinik*. Universitas Airlangga. Surabaya. Hal. 58.

# LAMPIRAN 1

## SKEMA KERJA



## LAMPIRAN 2

1. ANALISIS STATISTIKA RASIO AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN G (IgG) SEBELUM PEMBERIAN EKSTRAK METANOL KULIT BUAH MANGGIS DENGAN MENGGUNAKAN RANCANGAN ACAK LENGKAP (RAL)

Tabel 3. Data titer imunoglobulin G (IgG) setelah ditransformasi dengan:  $2 \log(\text{titer}) + 1$  pada hewan yang belum diberi perlakuan

Kelompok Hewan	Replikasi			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
Hewan 1	1,00	1,00	1,00	3,00	1,00
Hewan 2	0,20	1,42	0,20	1,82	0,61
Hewan 3	0,81	2,01	2,01	4,83	1,61
Hewan 4	0,81	2,01	2,01	4,83	1,61
Jumlah	2,82	6,44	5,22	14,48	1,21

Analisis Sidik Ragam (ASR)

A. Sumber Keragaman

$$\text{Model : } Y = \mu + \sigma + \zeta$$

Dimana : Y = Total hasil percobaan

$\mu$  = Nilai rata-rata harapan

$\zeta$  = Pengaruh kesalahan/galat

Sumber Keragaman adalah :

1. Perlakuan (P)
2. Kesalahan/Galat (G)
3. Total Percobaan (T)

B. Perhitungan Derajat Bebas (Db)

1.  $\text{DbT} = (r.t) - 1 = (3.4) - 1 = 11$
2.  $\text{DbP} = t - 1 = 4 - 1 = 3$
3.  $\text{DbG} = \text{DbT} - \text{DbP} = 11 - 3 = 8$

C. Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK)

$$\text{FK} = \frac{T_{ij}^2}{r.t} = \frac{14,48^2}{3.4} = \frac{209,67}{12} = 17,47$$

$$\begin{aligned}
 1. \quad JKT &= T(Y_{ij}^2) - FK \\
 &= (1^2 + 1^2 + \dots + 2,01^2) - 17,47 \\
 &= 22,57 - 17,47 \\
 &= 5,10
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \quad JKP &= \frac{TP^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(3^2 + 1,82^2 + \dots + 4,83^2)}{3} - 17,47 \\
 &= 19,66 - 17,47 \\
 &= 2,19
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \quad JKG &= JKT - JKP \\
 &= 5,10 - 2,19 \\
 &= 2,91
 \end{aligned}$$

#### D. Perhitungan Kuadrat Tengah (KT)

$$1. \text{KTP} = \frac{JKP}{DbP} = \frac{2,19}{3} = 0,73$$

$$2. \text{KTG} = \frac{JKG}{DbG} = \frac{2,91}{8} = 0,36$$

#### E. Perhitungan Distribusi F (Fh)

$$FhP = \frac{KTP}{KTG} = \frac{0,73}{0,36} = 2,03$$

Tabel 4. Hasil Analisis Sidik Ragam (ASR) Perlakuan Terhadap Rasio perubahan aktivitas imunoglobulin G (IgG)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Fh	Ft	
					5%	1%
Perlakuan (P)	3	2,19	0,73	2,03 <sup>ns</sup>	4,07	7,59
Galat (G)	8	2,91	0,36			
Total (T)	11					

Keterangan : (<sup>ns</sup>) Tidak ada perbedaan pengaruh keempat perlakuan terhadap peningkatan imunoglobulin G (IgG) pada kelinci.

2. ANALISIS STATISTIKA RASIO AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN G (IgG) SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK METANOL KULIT BUAH MANGGIS DENGAN MENGGUNAKAN RANCANGAN ACAK LENGKAP (RAL) DAN UJI BEDA NYATA TERKECIL (BNT)

Tabel 5. Data titer imunoglobulin G (IgG) setelah ditransformasi dengan:  $2 \log(\text{titer}) + 1$  pada hewan yang telah diberi perlakuan.

Perlakuan	Replikasi			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
Kontrol	0,81	0,81	1,41	3,03	1,01
Ekstrak Metanol 1%	1,41	0,81	0,20	2,42	0,81
Ekstrak metanol 1,5%	2,01	2,01	2,01	6,03	2,01
Ekstrak metanol 2%	2,01	2,01	1,41	5,43	1,81
Jumlah	6,24	5,64	5,03	16,91	1,41

### Analisis Sidik Ragam (ASR)

#### F. Sumber Keragaman

$$\text{Model : } Y = \mu + \sigma + \zeta$$

Dimana : Y = Total hasil percobaan

$\mu$  = Nilai rata-rata harapan

$\zeta$  = Pengaruh kesalahan/galat

Sumber Keragaman adalah :

1. Perlakuan (P)
2. Kesalahan/Galat (G)
3. Total Percobaan (T)

#### A. Perhitungan Derajat Bebas (Db)

4.  $DbT = (r.t) - 1 = (3.4) - 1 = 11$
5.  $DbP = t - 1 = 4 - 1 = 3$
6.  $DbG = DbT - DbP = 11 - 3 = 8$

#### B. Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK)

$$FK = \frac{T_{ij}^2}{r.t} = \frac{16,91^2}{3.4} = \frac{285,9481}{12} = 23,83$$

$$\begin{aligned}
 1. \text{ JKT} &= T(Y_{ij}^2) - FK \\
 &= (0,81^2 + 0,81^2 + \dots + 1,41^2) - 23,83 \\
 &= 28,17 - 23,83 \\
 &= 4,34
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \text{ JKP} &= \frac{TP^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(3,03^2 + 2,42^2 + \dots + 4,43^2)}{3} - 23,83
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= 26,96 - 23,83 \\
 &= 3,13
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JKG} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\
 &= 4,34 - 3,13 \\
 &= 1,21
 \end{aligned}$$

#### D. Perhitungan Kuadrat Tengah (KT)

$$1. \text{KTP} = \frac{\text{JKP}}{\text{DbP}} = \frac{3,13}{3} = 1,04$$

$$2. \text{KTG} = \frac{\text{JKG}}{\text{DbG}} = \frac{1,21}{8} = 0,15$$

#### E. Perhitungan Distribusi F (Fh)

$$\text{FhP} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTG}} = \frac{1,04}{0,15} = 6,93$$

Tabel 6. Hasil Analisis Sidik Ragam (ASR) Perlakuan Terhadap Rasio perubahan aktivitas Immunoglobulin G (IgG)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Fh	Ft	
					5%	1%
Perlakuan (P)	3	3,14	1,04	6,93*	4,07	7,59
Galat (G)	8	1,21	0,15			
Total (T)	11					

Keterangan : ( ) Berbeda nyata, ada pengaruh penggunaan ekstrak metanol kulit buah manggis terhadap peningkatan imunoglobulin G (IgG) pada kelinci jantan.

$$\begin{aligned} \text{Koefisien Keragaman (KK)} &= \sqrt{KTG} / \text{rata-rata total} \times 100\% \\ &= \sqrt{0,15} / 1,41 \times 100\% \\ &= 27,47\% \end{aligned}$$

Kesimpulan : Dari hasil analisis statistik diperoleh bahwa ada pengaruh pemberian ekstrak metanol kulit buah manggis terhadap aktivitas imunoglobulin G (IgG) kelinci jantan. Dengan nilai KK yang besar (27,47 %) maka analisis dilanjutkan dengan Uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND)

#### Analisis Statistik Uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND)

$$S_{\bar{y}} = \sqrt{\frac{KTG}{r}} = \sqrt{\frac{(0,15)}{3}} = 0,22$$

$$JNTD_{\alpha} = P_{\alpha} (p,v) \times S_{\bar{y}}$$

Tabel 7. Hasil Uji BJND (Beda Jarak Nyata Duncan)

Perlakuan	Rataan	Beda riil pada jarak P =			
		Kontrol	1%	1,5%	2%
Kontrol	1,01	-	-	-	-
1%	0,81	0,2	-	-	-
1,5%	2,01	1*	1,2**	-	-
2%	1,81	0,8	1*	0,2*	-
P5%		3,26	3,39	3,47	
BJND5%		0,72	0,75	0,76	
P1%		4,74	5,00	5,14	
BJND1%		1,04	1,1	1,13	

Keterangan :

\* = Signifikan

\*\* = Sangat Signifikan

Dari tabel di atas diperoleh bahwa penggunaan ekstrak metanol 1,5 % memberikan pengaruh yang sangat signifikan pada perlakuan kontrol dan pengaruh sangat signifikan pada perlakuan 1 %.



**3. ANALISIS STATISTIKA RASIO AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN G (IgG) AWAL DENGAN RASIO AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN G (IgG) SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK METANOL KULIT BUAH MANGGIS DENGAN MENGGUNAKAN RANCANGAN ACAK LENGKAP (RAL)**

Tabel 8. Data rata-rata titer imunoglobulin (IgG) awal dan setelah pemberian ekstrak metanol kulit buah manggis setelah ditransformasi dengan :  $[2 \log (\text{titer})] + 1$

Hewan coba	Perlakuan		Jumlah
	Awal	Setelah pemberian Ekstrak	
1	1,00	1,01	2,01
2	0,61	0,81	1,42
3	1,61	2,01	3,62
4	1,61	1,81	3,42
Jumlah	4,83	5,64	10,47

**Analisis Sidik Ragam (ASR)**

**A. Sumber Keragaman**

$$\text{Model : } Y = \mu + \sigma + \zeta$$

Dimana : Y = Total hasil percobaan

$\mu$  = Nilai rata-rata harapan

$\zeta$  = Pengaruh kesalahan/galat

Sumber Keragaman adalah :

1. Perlakuan (P)
4. Kesalahan/Galat (G)
5. Total Percobaan (T)

**B. Perhitungan Derajat Bebas (Db)**

$$7. \text{ DbT} = (r.t)-1 = (2.4) - 1 = 7$$

$$8. \text{ DbP} = t - 1 = 2 - 1 = 1$$

$$9. \text{ DbG} = \text{DbT} - \text{DbP} = 7 - 1 = 6$$

**C. Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK)**

$$\text{FK} = \frac{Tj^2}{r.t} = \frac{10,47^2}{2.4} = \frac{109,62}{8} = 13,70$$

1.  $JKT = T(Y_{ij}^2) - FK$   
 $= (1,00^2 + 1,01^2 + \dots + 1,81^2) - 13,70$   
 $= 15,55 - 13,70$   
 $= 1,85$
2.  $JKP = \frac{TP^2}{r} - FK$   
 $= \frac{(4,83^2 + 5,64^2)}{4} - 13,70$   
 $= 13,78 - 13,70$   
 $= 0,08$
3.  $JKG = JKT - JKP$   
 $= 1,85 - 0,08$   
 $= 1,77$

#### D. Perhitungan Kuadrat Tengah (KT)

1.  $KTP = \frac{JKP}{DbP} = \frac{0,08}{1} = 0,08$
2.  $KTG = \frac{JKG}{DbG} = \frac{1,77}{6} = 0,295$

#### E. Perhitungan Distribusi F (Fh)

$$FhP = \frac{KTP}{KTG} = \frac{0,08}{0,295} = 0,27$$

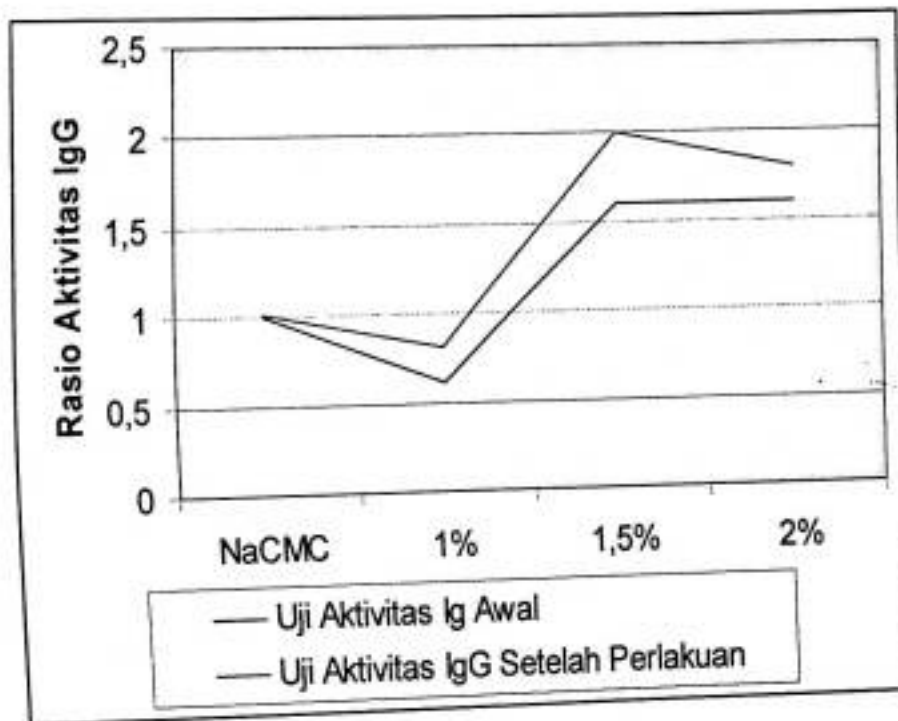
Tabel 9. Hasil Analisis Sidik Ragam (ASR) Perlakuan Terhadap Rasio perubahan aktivitas Imunoglobulin G (IgG)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Fh	Ft	
					5%	1%
Perlakuan (P)	1	0,08	0,08	0,27 <sup>ns</sup>	5,99	13,74
Galat (G)	6	1,77	0,295			
Total (T)	7					

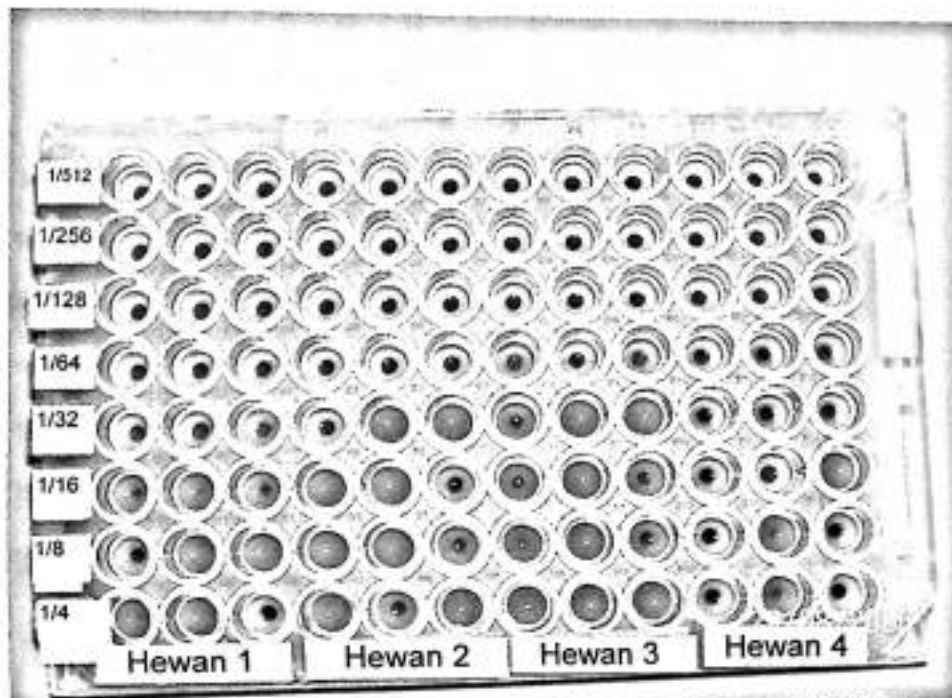
Keterangan : (<sup>ns</sup>) tidak nyata, artinya tidak ada pengaruh pemberian ekstrak metanol kulit buah manggis terhadap aktivitas imunoglobulin G kelinci jantan

## LAMPIRAN 3

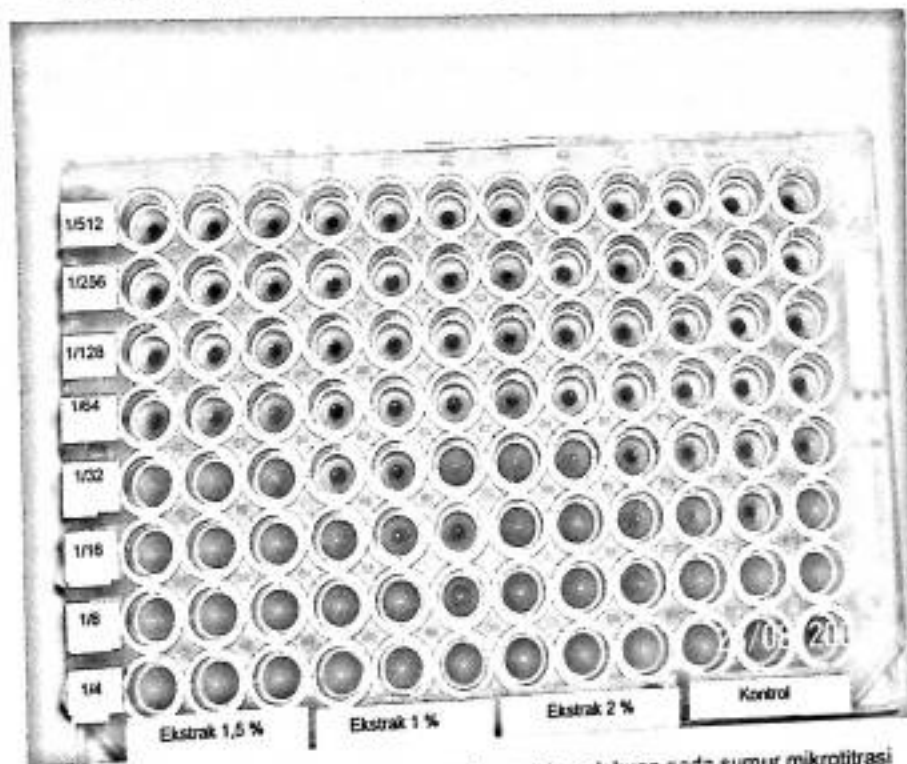
## FOTO-FOTO RANGKAIAN DAN PERANGKAT PENELITIAN



Gambar 1. Histogram Aktivitas Immunoglobulin G (IgG) terhadap Konsentrasi ekstrak metanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn.)



Gambar 2 . Hasil uji titer antiaglobulin O (AgO) swai pada sumur mikrotitrasi



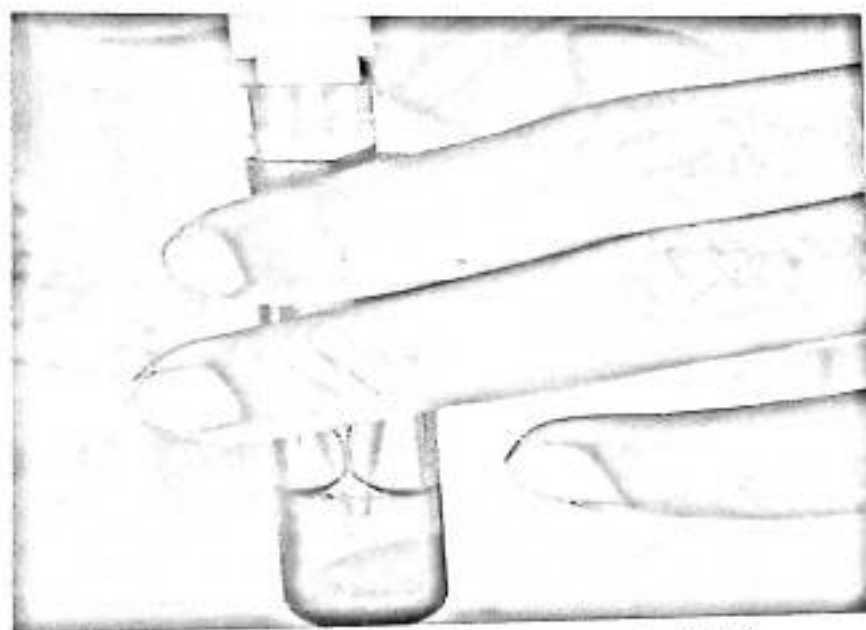
Gambar 3 . Hasil uji titer antiaglobulin O (AgO) rabbit pada sumur mikrotitrasi



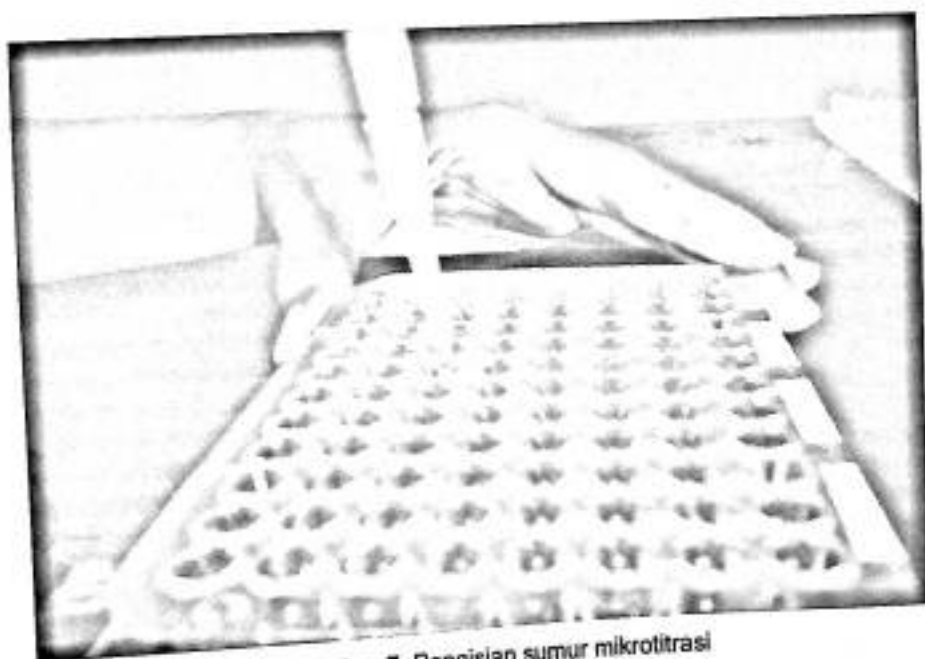
Gambar 4. Domba sumber antigen sel darah merah domba (SDMD)



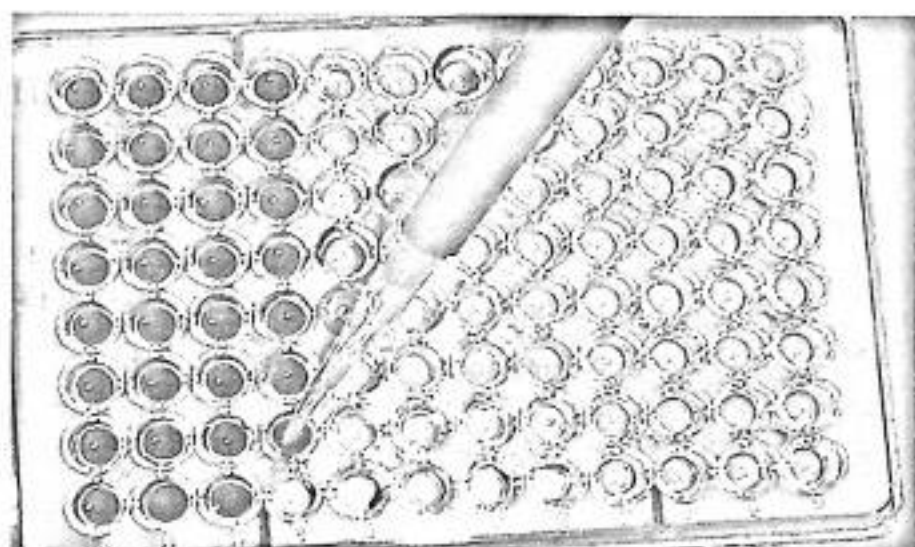
Gambar 5. Pengambilan antigen sel darah merah domba (SDMD)



Gambar 6 . Pencucian Sel Darah Merah Domba (SDMD)



Gambar 7. Pengisian sumur mikrotitrasi



Gambar 8. Foto penambahan antigen (SDMD) ke dalam sumur yang sebelumnya telah diisi dengan PBS dan Serum darah kelinci



Gambar 9. Tanaman Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.)