



**EFEK EKSTRAK ETANOL
KAYU KUNING (*Arcangelisia flava* (L) MERR.)
TERHADAP AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN G (IgG)
PADA MENCIT (*Mus musculus*)**

**MONALISA
H51102796-1**



UPT PERANGKAT ALAT HASANUDDIN	
Tgl. Pengantar	31-1-2007
Angka	907-1199
F. Pengantar	1 (Satu) @
Halaman	4
N. Inventaris	907/31-1-7
No. Seri	37659

SKR-MP07
MON
e

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2007**



**EFEK EKSTRAK ETANOL
KAYU KUNING (*Arcangelisia flava* (L) MERR.)
TERHADAP AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN G (IgG)
PADA MENCIT (*Mus musculus*)**

SKRIPSI

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

**MONALISA
H511 02 796-1**

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2007**

EFEK EKSTRAK ETANOL
KAYU KUNING (*Arcangelisia flava* (L) MERR.)
TERHADAP AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN G (IgG)
PADA MENCIT (*Mus musculus*)

MONALISA

H51102796-1

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,



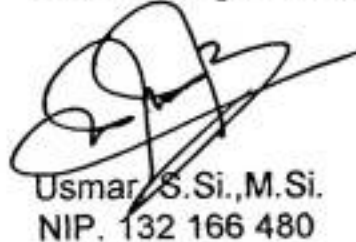
Drs. H. Hasyim Bariun, M.Si.
NIP. 130 878 519

Pembimbing Pertama,



Drs. H. Moh Hasbi
NIP. 130 369 543

Pembimbing Kedua,



Usman S.Si., M.Si.
NIP. 132 166 480

Pada tanggal, Januari 2007

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, segala puji hanya milik Allah SWT, pemilik rahmat yang maha sempurna, serta limpahan hidayah dan ilmu-Nya pula, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Skripsi disusun sebagai salah satu syarat dalam mencapai gelar kesarjanaan pada Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Selanjutnya diucapkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

1. Bapak Drs. H. Hasyim Bariun, M.Si. sebagai pembimbing utama, Bapak Drs. H. Moh Hasbi sebagai pembimbing pertama dan Bapak Usmar, S.Si., M.Si. sebagai pembimbing kedua yang penuh kesabaran dan pengertian memberikan bimbingan dan arahan serta bantuannya selama pendidikan dalam penyusunan skripsi ini.
2. Ketua Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Hasanuddin, Ketua Program Reguler sore Farmasi dan Apoteker FMIPA Unhas, Bapak dan Ibu Dosen beserta seluruh staf Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Hasanuddin atas segala fasilitas yang diberikan selama penulis menempuh studi sehingga dapat menyelesaikan penelitian ini.
3. Bapak Drs. M. Natsir Djide, MS selaku Penasehat Akademik.

4. Habibie,S.Si., Rony,S.Si., Apt., Asmin dan Kak Rustam, S.Si yang selalu membantu penulis menyelesaikan penelitian ini hingga penyusunan skripsi.
5. Teman-teman seperjuangan Rahmad Shafa, Sulastry umar, Andi Sri marlina, Rahmatullah Asnawi, Sri Wulan Ningsih, Kak Marlina, Suhaemi Syamsi, St. Nur Asma Zd, Kak Yanti, Mardawiah, Nur Khaery.
6. Sahaba-sahabatku Safril Pratama, Melyati Suhaery, Sri Wahyuni, Syarkia Syam, Andi Mirsani, Nelly Juanda serta seluruh teman-teman angkatan 2002 yang yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang selalu membantu penulis dalam menempuh pendidikan hingga penyusunan skripsi.
7. Orang tuaku tercinta Syafruddin, SE dan Asrinda Kamar, S.Ag, Lasmiwaty , serta saudara-saudaraku Rendy yudistira, Widya Atika, Andhika, Era Pratiwi. Om Rais dan tante Ti Serta limpahan do'a dan nasehat dari Nenek Sitti Fatimah tercinta.
8. Seluruh pihak yang telah banyak membantu penulis dalam berbagai hal hingga penyusunan skripsi ini.

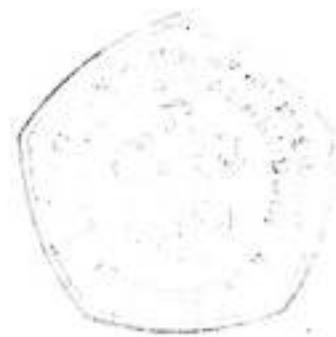
Menyadari segala keterbatasan dan kemampuan yang penulis miliki, maka penyusunan skripsi ini tentulah tidak dapat mencapai kesempurnaan, namun semoga skripsi ini dapat menambah pengetahuan kita mengenai ciptaan-Nya.

Akhirnya semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan kita. Amin.

Makassar, Januari 2007

Penulis

ABSTRAK



Telah dilakukan penelitian tentang efek ekstrak etanol kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L) MERR.) terhadap aktivitas imunoglobulin G (IgG) dengan metode hemaglutinasi pada mencit jantan (*Mus musculus*). Penelitian ini bertujuan untuk melihat efek farmakologi ekstrak etanol kayu kuning sebagai imunostimulan. Mencit dibagi ke dalam 4 kelompok perlakuan, dimana tiap kelompok terdiri atas 3 ekor. Kelompok pertama sebagai kontrol negatif hanya diberi suspensi Natrium CMC 1 % b/v selama enam hari dan 3 kelompok lainnya diberi ekstrak etanol kayu kuning dengan konsentrasi masing-masing 1 % b/v, 1,5 % b/v, dan 2 % b/v selama enam hari berturut-turut. Semua hewan dalam kelompok perlakuan diberi sel darah merah domba (SDMD) 2 % secara intraperitoneal dan pada hari kesepuluh setelah pemberian SDMD, darah mencit dari semua kelompok perlakuan diambil secara intrakardial. Pengujian aktivitas imunoglobulin G (IgG) menggunakan metode hemaglutinasi berdasarkan titer imunoglobulin G (IgG) yaitu pengenceran tertinggi serum darah mencit (*Mus musculus*) yang masih menunjukkan aglutinasi. Analisis statistika dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan analisis lanjutan dengan metode uji Beda Nyata Terkecil (BNT) memperlihatkan bahwa pemberian ekstrak etanol kayu kuning dengan konsentrasi 1 % b/v, 1,5 % b/v, 2 % b/v secara signifikan dapat meningkatkan aktivitas imunoglobulin G (IgG) dan konsentrasi yang paling efektif adalah 1,5 % b/v.

Kata kunci : Kayu kuning, imunoglobulin G (IgG), hemaglutinasi, mencit.

ABSTRACT

A research about the effect of the ethanol extract of "kayu kuning " (*Arcangelisia flava* (L) MERR.) on the immunoglobulin G (IgG) activity by hemagglutination method in male mice (*Mus musculus*) had been conducted. This research was aimed to see pharmacological effect of the ethanol extract of "kayu kuning" as imunostimulant. The mice was divided into 4 treatment groups, each group consisted of 3 mice. The first group as negative control that was only administered suspension of 1 % w/v Sodium CMC for 6 days period of time, and three others were administered ethanol extract in concentration of 1 % w/v, 1.5 % w/v, and 2 % w/v for six days. Later, all mice administered Sheep Red Blood Cell (SRBC) 2 % intraperitoneal and 10 days after, the blood was collected by intracardial. The activity of immunoglobulin G was measured by hemagglutination method based on the titer of immunoglobulin G by which the highest dilution of mice blood serum occurred. Statistical analysis with Complete Random Design (CRD) continued with the Least Significant Difference (LSD) method showed that administration of ethanol extract of "kayu kuning" on the concentration 1 % w/v, 1.5 % w/v, and 2 % w/v very significantly increase Immunoglobulin G activity and effective concentration is 1.5 % w/v.

Key word : kayu kuning, immunoglobulin G, hemagglutination, mice.

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN.....	i
UCAPAN TERIMA KASIH	ii
ABSTRAK.....	v
ABSTRACT.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Uraian Tumbuhan.....	4
II.1.1 Klasifikasi.....	4
II.1.2 Nama Daerah.....	4
II.1.3 Morfologi	5
II.1.4 Kandungan Kimia dan Kegunaan	5
II.2 Tinjauan Sistem Kekebalan Tubuh	6
II.2.1 Imunitas	6
II.2.2 Sistem Imun Nonspesifik	7
II.2.3 Sistem Imun Spesifik	9



II.3 Antibodi	12
II.3.1 Immunoglobulin	12
II.3.2 Struktur dan Klasifikasi Immunoglobulin	12
II.3.3 Fungsi Immunoglobulin	14
II.4 Immunoglobulin G(IgG)	15
II.4.1 Struktur dan Sifat fisikokimia.....	15
II.4.2 Aktivitas Biologi dan Immunologi	15
II.5 Antigen	16
II.6 Teknik Immunokimia	17
II.6.1 Immunopresipitasi	17
II.6.2 Aglutinasi	17
II.6.3 Hemaglutinasi Pasif	18
II.7 Ekstrak dan Ekstraksi	19
II.7.1 Definisi Ekstrak Ekstraksi	19
II.7.2 Metode Refluks.....	20
II.8 Uraian Na-CMC.....	20
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN	21
III.1 Alat dan Bahan yang digunakan	21
III.2 Penyiapan Sampel Penelitian	21
III.2.1 Pengambilan Dan Pengolahan Sampel	21
III.2.2 Ekstraksi Sampel	22

III.3 Pembuatan bahan Penelitian.....	22
III.3.1 Pembuatan Larutan Koloidal Na- CMC %.....	22
III.3.2 Pembuatan Suspensi Ekstrak kayu kuning.....	22
III.4 Pengujian Aktivitas IgG pada Hewan Uji	23
III.4.1 Penyiapan SDMD 2 %	23
III.4.2 Penyiapan (PBS) Phospat Buffered Saline.....	23
III.5 Penyiapan dan Perlakuan Terhadap Hewan Uji	24
III.6 Pengambilan Sampel Darah Hewan Uji	24
III.7 Pengamatan Hemaglutinasi	25
III.8 Pengumpulan dan Analisa Data	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	26
IV.1 Hasil Penelitian	26
IV.2 Pembahasan	27
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	31
V.1 Kesimpulan	31
V.2 Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32
Lampiran	34

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Interpretasi hasil berdasarkan hemaglutinasi setelah pemberian ekstrak etanol kayu kuning dibandingkan dengan kontrol	26
2. Titer Imunoglobulin G (IgG) pada mencit jantan 10 hari setelah diberikan SDMD 2 %.....	26
3. Data titer imuoglobulin G (IgG) sebelum ditransformasi dengan $[2\log (\text{titer})]+1$	35
4. Data titer imuoglobulin G (IgG) setelah ditransformasi dengan $[2\log (\text{titer})]+1$	35
5. Hasil analisis sidik ragam (ASR) perlakuan terhadap rasio perubahan aktivitas Imunoglobulin G (IgG)	37
6. Hasil analisis lanjutan dengan uji BNT.....	38

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Unit dasar antibodi yang terdiri atas 2 rantai berat dan 2 rantai ringan.....	13
2. Foto data titer Immunoglobulin G (IgG) pada sumur mikrotitrasi ...	40
3. Histogram aktivitas immunoglobulin G (IgG) terhadap konsentrasi ekstrak etanol kayu kuning.....	40
4. Tumbuhan kayu kuning.....	41
5. Pemberian secara oral pada mencit (<i>Mus musculus</i>)	42
6. Domba sumber antigen sel darah merah domba (SDMD)	42
7. Sel darah merah domba (SDMD) 2%.....	43
8. Imunisasi antigen SDMD secara intraperitoneal pada mencit (<i>Mus musculus</i>)	43
9. Pengambilan darah mencit secara intrakardial pada mencit (<i>Mus musculus</i>)	44
10. Penambahan antigen (SDMD) ke dalam sumur yang berisi PBS dan serum darah mencit	44

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja.....	34
2. Perhitungan Statistika Data Aktivitas Immunoglobulin G (IgG) mencit jantan pada pemberian ekstrak kayu kuning berdasarkan rancangan acak lengkap (RAL).....	35
3. Gambar dan foto hasil penelitian	40

BAB I

PENDAHULUAN

Sistem imun ialah semua mekanisme yang digunakan tubuh untuk mempertahankan keutuhannya terhadap bahaya yang dapat ditimbulkan berbagai bahan dalam lingkungan hidup . Sistem imun berhubungan dengan antibodi atau imunoglobulin. Imunoglobulin adalah globulin yang dibentuk oleh plasma yang berasal dari proliferasi sel B akibat adanya kontak dengan antigen. Imunoglobulin mempunyai beberapa kelas yaitu Imunoglobulin M (IgM), Imunoglobulin G (IgG), Imunoglobulin A (IgA), Imunoglobulin E (IgE), dan Imunoglobulin D (IgD) (1).

IgG merupakan komponen utama imunoglobulin serum, dengan berat molekul 160.000 dalton. Kadarnya dalam serum sekitar 13 mg/ml, merupakan 75 % dari semua imunoglobulin. IgG merupakan imunoglobulin utama yang dibentuk atas rangsangan antigen. IgG dapat menembus plasenta dan masuk kedalam peredaran darah janin, sehingga pada bayi baru lahir IgG yang berasal dari ibunya yang melindungi bayi terhadap infeksi. Proses pembentukannya yaitu pada hari keenam sampai ketujuh setelah pemaparan antigen dan akan mencapai puncaknya pada hari kesepuluh sampai keempat belas (2).

Daya tahan tubuh tidak cukup dipelihara hanya dengan keseimbangan gizi yang dilengkapi dengan vitamin, mineral. Daya tahan tubuh alami harus diciptakan oleh kesehatan organ-organ tubuh. Untuk mempertahankan daya tahan tubuhnya masyarakat biasanya

mengonsumsi obat-obatan dan vitamin. Namun dengan semakin melambungnya harga membuat masyarakat berusaha mencari cara lain untuk mempertahankan kesehatan organ-organ tubuhnya yaitu dengan mengonsumsi obat tradisional yang harganya relatif lebih murah. Organ-organ pendukung daya tahan tubuh alamiah ini dapat dipelihara dan ditingkatkan fungsinya melalui konsumsi tanaman obat .

Salah satu tumbuhan yang ada di Indonesia khususnya di Sulawesi Tengah, yang sering digunakan sebagai obat tradisional adalah kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L) MERR.) suku menispermaceae. Tumbuhan ini sudah lama dikenal oleh masyarakat luas sebagai obat, bahkan telah diperdagangkan. Penggunaannya antara lain sebagai anticacar, antidiare dan hepatitis (3,4).

Beberapa penelitian tentang kayu kuning telah dilaporkan, antara lain bahwa senyawa kimia yang memberikan daya hambat sebagai antidiare adalah alkaloid. Alkaloid berberin menunjukkan aktivitas antimikroba yang kuat, juga mengaktifkan sel darah putih yang dapat menghancurkan dan membunuh bakteri, virus dan partikulat lainnya serta dapat meningkatkan aktivitas sistem imun. Selain sebagai antidiare, kayu kuning juga biasa digunakan masyarakat sebagai obat cacar dan hepatitis (3,4,5).

Berdasarkan penggunaannya sebagai obat anti cacar, antidiare dan hepatitis, maka diperkirakan bahwa kayu kuning bekerja dengan cara meningkatkan daya tahan tubuh melalui peningkatan antibodi. Namun,

belum ada suatu penelitian tentang kayu kuning yang mengacu dalam pemanfaatannya untuk daya tahan tubuh.

Berdasarkan hal tersebut di atas maka dilakukan pengujian terhadap ekstrak etanol kayu kuning akan kemungkinan pengaruhnya terhadap aktivitas IgG dengan beberapa konsentrasinya pada mencit (*Mus musculus*) dengan mengamati pengenceran tertinggi dari serum darah mencit yang masih dapat mengaglutinasi sel darah merah domba.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II. 1 Uraian Tumbuhan (6,7)

II.1.1 Klasifikasi Tumbuhan

Divisi	: Spermatophyta
Anak Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Anak Kelas	: Archiclamidae/ Apetalae
Bangsa	: Ranunculales
Suku	: Menispermaceae
Marga	: Arcangelisia
Jenis	: <i>Arcangelisia flava</i> (L) MERR.

II.1.2 Nama Daerah (6)

Indonesia	: Kayu kuning
Sunda	: Areuy ki koneng
Jawa	: Oyod, Sirawanan, Airawan
Ambon	: Wali atau wari bulan
Halmahera	: Gumi modoku
Sulawesi	: Akar kuning

II.1.3 Morfologi Tumbuhan

Di Indonesia tumbuhan kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L) MERR.) dapat dijumpai di dataran rendah sampai \pm 800 meter dari permukaan laut. Banyak ditemukan di daerah pantai yang berbatu, hutan-hutan dan semak belukar atau di tanah yang berkapur (6,7).

Kayu kuning merupakan tumbuhan memanjat, memilin kekiri, dan panjangnya dapat mencapai 20 meter. Batang bagian bawah tegak, tebal, kuat, berbentuk bulat. Bagian dalam batang berwarna kuning dan rasanya pahit. Bentuk daun bundar telur, tebal, kaku, permukaan daun mengkilap dan tangkai daun panjang. Bunganya berbentuk malai, berumah dua hitam dan kecil. Bunga-Bunganya kecil-kecil dan berwarna hitam. Buahnya terdiri dari daging buah yang berlendir, berwarna kuning lama-lama menjadi hitam, berisi satu biji yang besar dan pipih (6,7).

II.1. 4 Kandungan kimia dan Kegunaan

Kandungan kimia kayunya adalah senyawa alkaloid berberin berwarna kuning. Senyawa-senyawa yang ada dalam batang, tangkai dan akar antara lain, kolumbanin, jatrorhizin, palmatin. Biji kayu kuning mengandung senyawa saponin (6,7). Kayu kuning digunakan sebagai obat sakit kuning, mengurangi gangguan pencernaan, obat cacing. Untuk pengobatan penyakit kuning yaitu rebusan dari batang ditambah dengan serai dan jeruk wangi kemudian diminum. Kikisan kayu kuning digunakan untuk plester terhadap penyakit cacar. Akar atau daun untuk

obat dalam direbus kemudian diminum, sedangkan untuk obat luar ditumbuk kemudian digosokkan (6).

II.2 Tinjauan Sistem Kekebalan Tubuh

II.2.1 Imunitas

Imunitas adalah resistensi terhadap penyakit terutama penyakit infeksi. Gabungan sel, molekul dan jaringan yang berperan dalam resistensi terhadap infeksi disebut sistem imun dan reaksi yang dikoordinasi sel-sel dan molekul-molekul terhadap mikroba dan bahan lainnya disebut respons imun. Sistem imun diperlukan tubuh untuk mempertahankan keutuhannya terhadap bahaya yang dapat ditimbulkan berbagai bahan dalam lingkungan hidup (1,8).

Respons imun diperlukan untuk tiga hal, yaitu pertahanan, homeostasis dan pengawasan. Pertama ditujukan terhadap infeksi mikroorganisme, yang kedua terhadap eliminasi komponen-komponen tubuh yang sudah tua dan yang ketiga terhadap penghancuran sel-sel yang bermutasi. Respons imun dapat diartikan sebagai suatu sistem agar tubuh dapat mempertahankan keseimbangan antara lingkungan di luar dan di dalam badan (1).

Pertahanan imun terdiri atas sistem imun alamiah atau nonspesifik (*natural/innate/native*) dan didapat atau spesifik (*adaptive/acquired*). Respons imun nonspesifik adalah respons pertahanan inheren yang secara nonselektif mempertahankan tubuh dari benda-benda asing atau

abnormal dari jenis apapun, walaupun baru pertama kali terpajan. Respon seperti ini membentuk lini pertama pertahanan terhadap berbagai bahan yang mengancam, termasuk agen infeksi, iritan kimia dan cedera jaringan yang menyertai trauma mekanis seperti luka bakar. Respons imun spesifik di pihak lain secara selektif menyerang benda asing tertentu yang mereka temui sebelumnya. Respons-respons spesifik ini diperantarai oleh limfosit yang setelah mendapat pajanan berikutnya ke agen yang sama, mengenali dan secara diskriminatif melawan agen tersebut (1,9).

II.2.2 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. Jumlahnya dapat ditingkatkan oleh infeksi, misalnya jumlah sel darah putih meningkat selama fase akut pada banyak penyakit. Disebut nonspesifik karena tidak ditujukan terhadap mikroba tertentu, telah ada dan siap berfungsi sejak lahir. Mekanismenya tidak menunjukkan spesifisitas terhadap bahan asing dan mampu melindungi tubuh terhadap banyak patogen potensial. Sistem tersebut merupakan pertahanan terdepan dalam menghadapi serangan berbagai mikroba dan dapat memberikan respon langsung (1).

Sistem imun nonspesifik terdiri atas 4 komponen, yaitu :

1. Pertahanan fisik/mekanik

Dalam sistem pertahanan fisik atau mekanik, kulit, selaput lendir, silia saluran napas, batuk dan bersin merupakan garis pertahanan terdepan terhadap masuknya berbagai kuman patogen penyebab infeksi. Kulit yang rusak akibat luka bakar dan selaput lendir yang rusak oleh adanya asap rokok dapat meningkatkan resiko infeksi, namun jika lapisan epidermis kulit kita sehat kebanyakan mikroba tidak dapat menembusnya.

2. Pertahanan biokimia

Adanya pH asam keringat dan sekresi sebaseus, berbagai asam lemak yang dilepas kulit mempunyai efek denaturasi protein sehingga dapat mencegah infeksi yang terjadi melalui kulit. Udara yang kita hirup, kulit dan saluran cerna, mengandung banyak mikroba biasanya berupa bakteri dan virus, kadang jamur atau parasit. Sekresi kulit yang bakterisidal, asam lambung, mukus dan silia di saluran napas membantu menurunkan jumlah mikroba yang masuk ke dalam tubuh. Dalam darah dan sekresi tubuh, enzim lisozim membunuh banyak bakteri dengan mengubah dinding selnya.

3. Pertahanan humoral

Adanya berbagai bahan dalam sirkulasi seperti komplemen, interferon dan kolektin berperan di dalam pertahanan humoral. Serum normal dapat membunuh dan menghancurkan beberapa bakteri gram

negatif, hal ini disebabkan oleh adanya kerja sama antara antibodi dan komplemen.

4. Pertahanan seluler

Salah satu upaya tubuh dalam mempertahankan diri terhadap masuknya bakteri adalah dengan membunuh atau menghancurkan bakteri bersangkutan secara nonspesifik dengan proses fagositosis. Fagosit, makrofag, sel NK (*Natural Killer*) berperan dalam sistem imun nonspesifik selular (1).

II.2.3 Sistem Imun Spesifik

Sistem imun spesifik ini berbeda dengan sistem imun nonspesifik. Sistem imun ini mempunyai kemampuan dalam mengenal benda yang dianggap asing bagi dirinya. Senyawa asing yang pertama kali muncul dalam tubuh segera dikenal oleh sistem imun spesifik sehingga terjadi sensitasi sel-sel imun tersebut. Bila suatu saat senyawa asing yang sama masuk atau terpapar kembali maka tubuh akan lebih cepat mengenal dan kemudian menghancurkannya (10).

Oleh karena sistem tersebut hanya dapat menyingkirkan benda asing yang sudah dikenal sebelumnya, maka sistem ini disebut spesifik. Untuk menghancurkan benda asing yang berbahaya bagi tubuh, sistem imun spesifik dapat bekerja tanpa bantuan sistem imun nonspesifik. Pada umumnya terjalin kerjasama yang baik antara antibodi-komplemen-fagosit dan antara sel T makrofag. Imunitas didapat seringkali mampu memberikan perlindungan yang kuat. Ini merupakan alasan mengapa

suatu proses '*vaksinasi*' sangat penting dalam melindungi manusia terhadap penyakit dan toksin (10,11).

Respon imun spesifik dibagi dalam 3 golongan, yaitu (1):

a. Respon imun seluler

Banyak mikroorganisme yang hidup dan berkembang biak intra seluler, antara lain dalam makrofag sehingga sulit dijangkau oleh antibodi. Untuk melawan mikroorganisme intraseluler itu diperlukan respon imun seluler yang merupakan fungsi limfosit T. Sub populasi sel T yang disebut sel T penolong (*T-helper*) akan mengenali mikroorganisme atau antigen bersangkutan melalui MHC (*major histocompatibility complex*) kelas II yang terdapat pada permukaan sel makrofag. Sinyal ini menginduksi limfosit untuk memproduksi berbagai jenis limfokin, termasuk diantaranya interferon, yang dapat membantu makrofag menghancurkan mikroorganisme intrasel yang disajikan melalui MHC kelas I secara langsung (*cell to cell*). Sel T-sitotoksik (*T-cytotoxic*) juga menghasilkan gamma interferon yang mencegah penyebaran mikroorganisme ke dalam sel lain.

b. Respon imun humoral

Respon ini diawali dengan diferensiasi limfosit B menjadi satu populasi (klon) sel plasma yang memproduksi dan melepaskan antibodi spesifik ke dalam darah. Juga pada respon humoral berlaku respon primer yang membentuk klon sel B memori. Setiap klon limfosit diprogramkan untuk memproduksi satu jenis antibodi spesifik terhadap antigen tertentu

(clonal selection). Antibodi ini berikatan dengan antigen membentuk kompleks antigen-antibodi yang dapat mengaktivasi komplemen dan mengakibatkan hancurnya antigen tersebut. Supaya limfosit B berdiferensiasi dan membentuk antibodi diperlukan bantuan limfosit T-penolong yang atas sinyal-sinyal tertentu baik melalui MHC maupun sinyal yang dilepaskan oleh makrofag, merangsang produksi antibodi. Selain oleh sel T-penolong, produksi antibodi juga diatur oleh sel T-penekan, sehingga produksi antibodi seimbang dan sesuai dengan yang dibutuhkan.

c. Interaksi antara respon imun seluler dengan humoral

Interaksi ini disebut antibody dependent cell mediated cytotoxicity (ADCC) karena sitolisis baru terjadi bila dibantu oleh antibodi. Dalam hal ini antibodi berfungsi melapisi antigen sasaran, sehingga sel NK (natural killer) yang mempunyai reseptor terhadap fragmen Fc antibodi tersebut dapat melekat erat pada sel atau antigen sasaran. Perlekatan sel NK pada kompleks antigen-antibodi mengakibatkan sel NK dapat menghancurkan sel sasaran.

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. Mikroba ekstraselular mengaktifkan komplemen melalui jalur lektin. Kompleks antigen-antibodi mengaktifkan komplemen melalui jalur klasik. Virus intraselular merangsang sel yang diinfeksi untuk melepas IFN yang

mengerahkan dan mengaktifkan sel NK. Sel dendritik terinfeksi bermigrasi ke kelenjar getah bening dan mempresentasikan antigen yang dimakannya ke sel T. Sel T yang diaktifkan bermigrasi ke tempat infeksi dan memberikan bantuan ke sel NK dan makrofag.

II.3 Antibodi

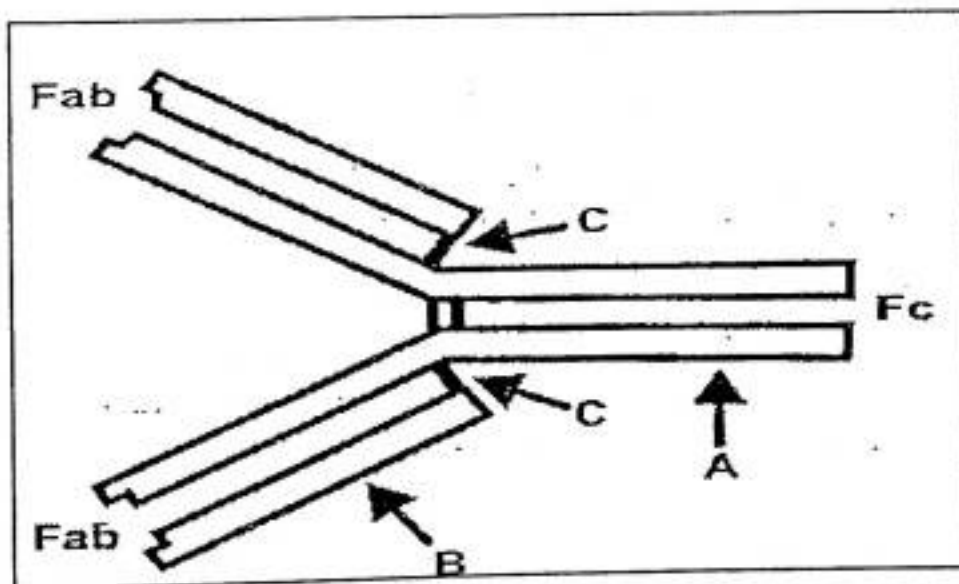
II.3.1 Immunoglobulin

Bila darah dibiarkan membeku akan meninggalkan serum yang mengandung berbagai bahan larut tanpa sel. Bahan tersebut mengandung molekul antibodi yang digolongkan dalam protein yang disebut globulin dan sekarang dikenal sebagai immunoglobulin. Immunoglobulin merupakan substansi pertama yang diidentifikasi sebagai molekul dalam serum yang mampu menetralkan sejumlah mikroorganisme penyebab infeksi. Immunoglobulin merupakan molekul glikoprotein yang dibentuk oleh sel B dalam dua 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 sites-nya yang spesifik. Antibodi yang terbentuk secara spesifik mengikat antigen baru lainnya yang sejenis(1,2).

II.3.2 Struktur dan Klasifikasi Immunoglobulin

Struktur dasar immunoglobulin terdiri atas 2 rantai berat (H-chain) yang identik dan 2 rantai ringan (L-chain) yang juga identik (Gambar 3).

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. Molekul ini oleh enzim proteolitik papain dapat dipecah menjadi 3 fragmen, yaitu 2 fragmen yang mempunyai susunan sama terdiri atas rantai berat (H) dan rantai ringan (L) disebut fragmen Fab (*Antigen-binding fragment*) dan 1 fragmen yang hanya terdiri atas rantai berat saja disebut fragmen Fc. Fragmen Fab dengan *antigen binding site*, berfungsi mengikat antigen, sebaliknya fragmen Fc merupakan fragmen yang konstan (2).



Gambar 1. Unit dasar antibodi yang terdiri atas 2 rantai berat dan 2 rantai ringan yang identik, diikat menjadi satu oleh ikatan disulfida yang dapat dipisah-pisah dalam berbagai fragmen, A = rantai berat (berat molekul : 50.000-77.000), B = rantai ringan (berat molekul : 25.000), C = ikatan disulfide (1).

Lima kelas utama imunoglobulin dalam serum manusia yaitu IgG, IgA, IgM, IgD dan IgE. Kelima imunoglobulin ini menunjukkan perbedaan pada rantai beratnya. Dimana IgG mempunyai rantai berat gama (γ), sedangkan IgM mempunyai rantai berat mu (μ), pada IgA rantai beratnya alfa (α), pada IgD rantai delta (δ) dan pada IgE rantai beratnya epsilon (ϵ). Disamping kelima kelas imunoglobulin, diketahui beberapa subkelas Ig, yaitu subkelas IgG : IgG1, IgG2, IgG3, dan IgG4, sedangkan IgA adalah IgA1 dan IgA2 dan subkelas IgD yaitu IgD1 dan IgD2. Subkelas imunoglobulin satu dengan lain berbeda dalam susunan asam amino dan berat molekul, dengan sifat biologiknya (2).

II.3.3 Fungsi Imunoglobulin

Beberapa keadaan, antibodi mengadakan fungsi proteksinya dengan menetralkan antigen secara langsung. Tetapi yang lebih sering adalah bahwa dalam melaksanakan fungsinya dibantu oleh sistem efektor lain, misalnya komplemen, fagosit dan sel sitotoksik. 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.(2).

II.4 Immunoglobulin G (IgG)

II.4.1 Struktur dan Sifat Fisikokimia

IgG merupakan komponen utama imunoglobulin serum, dengan berat molekul 160.000 dalton. Kadarnya dalam serum sekitar 13 mg/ml, merupakan 75 % dari semua imunoglobulin. IgG ditemukan dalam berbagai cairan, antara lain cairan serebrospinal (CSS) dan juga urin. IgG merupakan imunoglobulin terbanyak dalam darah, CSS dan peritoneal (1).

Struktur IgG sangat sederhana karena hanya terdiri atas 1 unit imunoglobulin saja. Berat molekul IgG juga lebih kecil dari pada IgM, yaitu $1,5 \cdot 10^5$ kD, walaupun lebih dua kali albumin, protein terbanyak di dalam plasma. Antibodi kelas IgG mampu melakukan aglutinasi, presipitasi, mengaktifkan komplemen, mengikat diri ke sel fagosit sehingga juga bersifat opsonin (12).

Molekul IgG tersusun atas satu unit dasar (Karena itu disebut monomer) terdiri atas 2 rantai gamma dirangkaikan dengan 2 rantai kappa atau rantai lamda (2).

II.4.2 Aktivitas Biologi dan Imunologi

IgG dapat menembus plasenta masuk ke janin dan berperan pada imunitas bayi sampai umur 6-9 bulan. IgG komplemen bekerja saling membantu sebagai opsonin (memudahkan fagositosis) pada pemusnahan antigen. IgG memiliki sifat opsonin yang efektif karena sel-sel fagosit, monosit dan makrofag, mempunyai reseptor untuk fraksi Fc dari IgG (Fcy-

R) sehingga dapat mempererat hubungan antara fagosit dengan sel sasaran. Oponin dalam bahasa Yunani berarti menyiapkan untuk dimakan. Selanjutnya proses opsonisasi tersebut dibantu oleh reseptor untuk komplemen pada permukaan fagosit (1).

II.5 Antigen

Antigen yang disebut juga imunogen adalah bahan yang dapat merangsang respons imun atau bahan yang dapat bereaksi dengan antibodi yang sudah ada tanpa memperhatikan kemampuannya untuk merangsang produksi antibodi. Secara sederhana antigen didefinisikan sebagai substansi yang ketika dimasukkan secara parenteral ke dalam seekor binatang dapat menyebabkan produksi antibodi dari binatang tersebut dan akan bereaksi secara spesifik dengan antibodi yang dihasilkan. Karena kekebalan didapat tidak akan terjadi sampai adanya invasi yang pertama oleh organisme asing atau toksin, maka jelaslah tubuh harus mempunyai suatu mekanisme untuk mengenali invasi permulaan. Setiap toksin atau setiap macam organisme hampir selalu mengandung satu atau lebih senyawa kimiawi yang khas sehingga membuatnya berbeda dengan semua senyawa yang lain. Pada umumnya, semua senyawa tersebut adalah protein-protein atau polisakarida besar dan senyawa inilah yang membentuk kekebalan didapat. Bahan-bahan ini disebut sebagai antigen (1,13,14).

II.6 Teknik Imunokimia

II.6.1 Imunopresipitasi

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) (2).

Perbandingan antigen dan 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 (2).

II.6.2 Aglutinasi

Pengujian berdasarkan reaksi aglutinasi adalah metode serologik klasik untuk mendeteksi antigen atau antibodi. Umumnya aglutinasi terjadi bila antigen yang berbentuk partikel direaksikan dengan antibodi spesifik. Partikel yang membawa antigen pada permukaannya dapat diikat oleh antiserum selanjutnya partikel dapat berkumpul dengan partikel lainnya dengan terikat atau diikat oleh antibodi. Fenomena aglutinasi dapat dijadikan pedoman tes kualitatif, secara sederhana mengindikasikan kehadiran antibodi. Itu juga dapat menjadi cara pengukuran semikuantitatif yang berguna untuk mengetahui konsentrasi antibodi yang

mengaglutinasi. Prosedur yang umum untuk kasus terakhir, yaitu menambahkan beberapa partikel yang membawa antigen pada satu seri tabung yang mengandung pengenceran dari antibodi (biasanya pengenceran 2 kali). Pengenceran tertinggi dari serum/larutan yang masih menunjukkan aglutinasi didefinisikan sebagai titer antibodi (2,15).

Reaksi aglutinasi berlangsung dalam 2 tahap, yaitu pertama antibodi dengan salah satu reseptor pengikat antigen (*antigen binding sites*) 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 terbentuklah gumpalan antigen-antibodi (2,15,16).

II.6.3 Hemaglutinasi Pasif

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-antibodi. Langkah pertama cara ini yaitu mensensitasi sel darah merah yaitu dengan menggabungkan antigen kedalamnya. Langkah terakhir yaitu dengan menambahkan sel darah merah yang telah disensitasi tadi ke dalam pengenceran bertingkat dari antibodi. Pengenceran tertinggi dari larutan yang masih menunjukkan aglutinasi didefinisikan sebagai titer dari antibodi (2,15,16).

II.7 Ekstrak dan Ekstraksi

II.7.1 Definisi Ekstrak dan Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan mengekstraksi simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh cahaya matahari langsung (17).

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan dan termasuk biota laut. Sel tanaman dan hewan berbeda terutama ketebalannya sehingga diperlukan metode ekstraksi dan pelarut tertentu dalam mengekstraksi zat aktif yang berada dalam sel tersebut (17).

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 akan berulang terus sampai terjadi suatu keseimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam sel dan di luar sel (18).

II.7.2 Metode Refluks (17)

Simplisia yang diekstraksi mempunyai komponen kimia yang tahan terhadap pemanasan dan mempunyai tekstur yang keras seperti akar, batang, buah/biji, dan herba. Sampel yang akan diekstraksi ditimbang dan dimasukkan kedalam labu alas bulat dan diisi dengan cairan penyari yang sesuai (etanol) sampai serbuk simplisia terendam kurang lebih 2 cm diatas permukaan simplisia, atau $\frac{2}{3}$ volume labu alas yang dipasangkan kuat pada statif dan ditempatkan diatas water bath lalu dipasang kondensor pada labu alas bulat yang dikuatkan pada klem dan statif. Aliran air dan pemanas dijalankan sesuai dengan suhu pelarut yang digunakan. Setelah 4 jam dilakukan penyaringan, filtrat ditampung pada wadah penampung dan ampasnya ditambah lagi dengan pelarut dan dikerjakan seperti semula. Ekstraksi dilakukan 3-4 jam. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan dengan rotavapor.

II.8 Uraian Tentang Natrium Karboksimetilselulosa (19)

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 adalah jarum oral, jarum suntik, labu tentukur 100 ml, lemari pendingin, mikropipet 25 dan 50 μ l (Boeco), refluks (Buchi), rotavapor (Buchi), sumur mikrotitrasi (*weel plate* 96 lubang), sentrifuge (Hettich), timbangan analitik (Dragon 303), timbangan hewan (Denver).

Bahan-bahan yang digunakan adalah kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L) MERR.), serbuk Natrium CMC, larutan PBS (*Phosphat Buffered Saline*), etanol 96%, sel darah merah domba (SDMD).

III.2 Penyiapan Sampel Penelitian

III.2.1 Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Sampel kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L) MERR.) diambil dari Palu, Sulawesi Tengah. Sampel tersebut merupakan kayu dari tanaman yang cukup umur namun tidak terlalu tua. Sampel yang telah dikumpulkan dibersihkan, kemudian di potong-potong kecil. Selanjutnya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa pemanasan sinar matahari.

III.2.2 Ekstraksi Sampel (20)

Sebanyak 200 g bahan yang telah kering kemudian disari dengan etanol menggunakan metode refluks selama 3-4 jam dan diulangi hingga

tiga kali. Ekstrak yang diperoleh dikumpulkan, kemudian dipekatkan menggunakan rotavapor hingga menjadi ekstrak kental.

III.3 Pembuatan Bahan Penelitian

III.3.1 Pembuatan Larutan Koloidal Natrium CMC 1 % b/v (19)

Sebanyak 1 g serbuk Natrium CMC dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam 50 ml air suling panas (suhu 70°C) sambil sesekali diaduk dengan pengaduk elektrik hingga terbentuk larutan koloidal dan dicukupkan volumenya hingga 100 ml dengan air suling.

III.3.2 Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Kayu Kuning

Suspensi ekstrak etanol kayu kuning dibuat dengan menambahkan larutan Natrium CMC 1 % b/v sebagai pembawa, dibuat dalam konsentrasi 1 % b/v, 1,5 % b/v dan 2 % b/v. Pembuatan suspensi dengan konsentrasi 1 % b/v dilakukan dengan menggerus ekstrak 1 g, dalam lumpang sambil menambahkan larutan Natrium CMC 1 % b/v secukupnya sampai homogen lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 100,0 ml dan ditambahkan larutan Natrium CMC 1% b/v hingga tanda. Pembuatan konsentrasi 1,5 % b/v dan 2 % b/v dilakukan dengan jumlah masing-masing ekstrak 1,5 g dan 2 g, kemudian dilakukan sesuai prosedur di atas. Suspensi ekstrak dibuat segar setiap kali perlakuan.

III.4 Pengujian Aktivitas IgG pada Hewan Uji

III.4.1 Penyiapan Suspensi Sel Darah Domba (SDMD) 2 % (21)

Darah domba ditampung dalam tabung bersih dan kering yang berisi EDTA cair sebagai antikoagulan. Untuk 1 ml darah domba, diperlukan 1 μ l EDTA cair. SDMD dipisahkan dari plasmanya dengan sentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm selama 10 menit. SDMD yang telah terpisah dicuci dengan menambahkan PBS dalam jumlah besar dan tabung berisi suspensi tersebut dibolak-balik beberapa kali dan disentrifuge kembali. Pencucian dilakukan paling sedikit 3 kali. Setelah pencucian selesai PBS dibuang sehingga diperoleh SDMD 100 %. Kemudian pada SDMD 100 % tersebut ditambahkan PBS dengan volume sama, hingga diperoleh suspensi SDMD 50 %. Antigen yang akan digunakan, disiapkan dengan mengencerkan 0,4 ml suspensi SDMD 50 % dengan 9,6 ml PBS, sehingga diperoleh 10 ml suspensi antigen (SDMD 2 %).

III.4.2 Penyiapan *Phosphat Buffered Saline* (PBS) (21)

PBS terdiri dari larutan A dan larutan B. Larutan A : larutan $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 1,38 g/l dan NaCl 8,3 g/l. Larutan B : larutan NaH_2PO_4 1,42 g/l dan NaCl 8,5 g/l. 280 ml larutan A ditambahkan pada 720 ml larutan B untuk mendapatkan larutan PBS dengan pH = 7,2.

III.5 Penyiapan dan Perlakuan Terhadap Hewan Uji (22,23)

Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan (*Mus musculus*) yang sehat dan aktivitas normal, dengan bobot badan antara 20-30 g. Jumlah hewan yang digunakan sebanyak 12 ekor, yang dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu satu kelompok kontrol dan tiga kelompok uji, dengan tiap kelompok masing-masing terdiri dari 3 ekor. Semua hewan diberikan peroral sediaan uji berdasarkan kelompoknya dengan volume pemberian 1ml/30 bobot badan selama 6 hari dengan perlakuan sebagai berikut :

- a. Kelompok I (Kontrol), Diberi suspensi Natrium CMC 1 % b/v.
- b. Kelompok II, Diberi suspensi ekstrak etanol kayu kuning dengan konsentrasi 1 % b/v.
- c. Kelompok III, Diberi suspensi ekstrak etanol kayu kuning dengan konsentrasi 1,5 % b/v.
- d. Kelompok IV, Diberi suspensi ekstrak etanol kayu kuning dengan konsentrasi 2 % b/v.

Setelah 6 hari, mencit diimunisasi dengan SDMD 2 % dengan volume 0,1 ml/ekor secara intraperitoneal.

III.6 Pengambilan Sampel Darah Hewan Uji (23)

Pada hari kesepuluh setelah imunisasi, darah diambil secara intrakardial lalu dibiarkan membeku/menggumpal pada suhu kamar selama 1-2 jam yang selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit dan diambil serumnya (supernatannya).

III.7 Pengamatan Hemaglutinasi (23)

Serum yang diperoleh selanjutnya diencerkan secara pengenceran bertingkat $1/4$, $1/8$, $1/16$, $1/32$, $1/64$, $1/128$, $1/256$, $1/512$ dengan PBS sebanyak $50 \mu\text{l}$ untuk setiap sumuran pada piring mikrotitrasi (*Well plate* 96 lubang). Tiap sumuran ditambahkan $50 \mu\text{l}$ SDMD kemudian diaduk rata (digoyang-goyang) selama 5 menit, selanjutnya diinkubasi pada suhu $37 \text{ }^\circ\text{C}$ selama 60 menit dan didiamkan semalam pada suhu kamar. Pengamatan titer IgG dilakukan dengan melihat pengenceran tertinggi dari serum darah mencit yang masih dapat mengaglutinasi SDMD.

III.8 Pengumpulan dan Analisis Data

Data diperoleh dari hasil pengamatan pengenceran tertinggi serum mencit (*Mus musculus*) pada sumur mikrotitrasi yang masih menunjukkan aglutinasi dari SDMD. Data selanjutnya dianalisis secara statistik.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

Data uji aktivitas imunoglobulin G (IgG) setelah pemberian ekstrak etanol kayu kuning 1% b/v, 1,5% b/v dan 2 % b/v disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Interpretasi hasil hemaglutinasi setelah pemberian ekstrak etanol kayu kuning dibandingkan dengan kontrol.

Pengenceran	Perlakuan dan Replikasi											
	Kontrol			Ekstrak kayu kuning 1 % b/v			Ekstrak kayu kuning 1,5 % b/v			Ekstrak kayu kuning 2 % b/v		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1/512	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1/256	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1/128	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+
1/64	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1/32	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1/16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1/8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1/4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabel 2. Titer imunoglobulin G (IgG) pada mencit jantan 10 hari setelah diberikan Sel Darah Merah Domba (SDMD) 2%

Replikasi	Titer Imunoglobulin G (IgG)			
	Kontrol Na-CMC	Ekstrak Kayu kuning 1 % b/v	Ekstrak Kayu kuning 1,5 % b/v	Ekstrak Kayu kuning 2 % b/v
Replikasi 1	1/16	1/64	1/128	1/64
Replikasi 2	1/16	1/64	1/128	1/64
Replikasi 3	1/16	1/64	1/128	1/128
Rata-rata	1/16	1/64	1/128	1/77

IV.2 Pembahasan

Kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L) MERR.) merupakan tanaman obat tradisional yang digunakan masyarakat Sulawesi Tengah untuk pengobatan penyakit cacar, diare serta hepatitis (6).

Kayu kuning mengandung alkaloid berberin yang menunjukkan aktifitas anti mikroba yang kuat. Berberin juga dapat mengaktifkan sel darah putih yang dapat menghancurkan dan membunuh bakteri dan partikulat lain serta meningkatkan aktifitas sistem imun (4).

Imunoglobulin merupakan substansi molekul dalam serum yang mampu menetralkan sejumlah mikroorganisme penyebab infeksi. Molekul ini dibentuk oleh sel B dalam dua bentuk yang berbeda yaitu sebagai reseptor permukaan untuk antigen dan sebagai antibodi yang disekresikan ke dalam cairan ekstraseluler. Injeksi suatu substansi asing ke dalam binatang yang mampu membuat respon imun akan menghasilkan antibodi spesifik yang muncul dalam serum setelah berlangsung beberapa waktu. Imunogen tersebut akan menyebabkan pengiriman sinyal pada sel-sel yang bertugas untuk membuat antibodi. Ada 5 kelas imunoglobulin yaitu IgG, IgA, IgM, IgD dan IgE (2).

Infeksi yang terjadi pada manusia yang disebabkan oleh unsur-unsur patogen seperti bakteri, virus, fungi, protozoa dan parasit umumnya singkat dan jarang menimbulkan kerusakan permanen. Hal ini disebabkan tubuh manusia memiliki suatu sistem yang disebut sistem imun yang melindungi tubuh terhadap unsur-unsur patogen tersebut. 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. Kemampuan ini dimiliki oleh komponen-komponen sistem imun yang terdapat dalam jaringan limforetikuler yang letaknya tersebar di seluruh tubuh, misalnya di dalam sumsum tulang, kelenjar limfe, limpa, thymus, sistem saluran nafas, saluran cerna dan organ-organ lain. Sel-sel yang terdapat dalam jaringan ini berasal dari sel induk (stem cell) dalam sumsum tulang yang berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, kemudian beredar dalam tubuh melalui darah, limfe, serta jaringan limfoid, dan dapat menunjukkan respon terhadap suatu rangsangan sesuai dengan sifat dan fungsi masing-masing (2).

Rangsangan terhadap sel-sel tersebut terjadi apabila ke dalam tubuh masuk suatu zat yang oleh sel atau jaringan tadi dianggap asing, yaitu yang disebut antigen (2). Antigen yang digunakan adalah sel darah merah domba (SDMD) karena merupakan antigen yang terbaik untuk pengujian produksi antibodi pada hewan coba mencit (23). Pengamatan dilakukan dengan melihat aglutinasi yang terjadi dan dihitung sebagai titer aglutinasi yaitu pengenceran tertinggi dari serum darah mencit yang masih 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 (2). 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 (23). Hal ini terjadi karena umumnya antibodi memiliki lebih dari satu reseptor pengikat antigen sehingga antibodi bereaksi dengan molekul antigen lain yang sudah berikatan dengan salah satu molekul antibodi dan terbentuk gumpalan (2). Reaksi aglutinasi dibantu oleh suhu ($37-56^{\circ}\text{C}$) dan oleh gerakan yang menambah kontak antigen dan antibodi (misalnya pengocokan) dan berkumpulnya gumpalan memerlukan garam-garam (23).

Dari hasil penelitian titer aglutinasi menunjukkan peningkatan aktivitas immunoglobulin G yang dapat dilihat pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak etanol kayu kuning dengan konsentrasi 1% b/v, 1,5 % b/v dan 2% b/v, rata-rata titer immunoglobulinnya sebesar 1/64, 1/128 dan 1/77 sedangkan kelompok perlakuan kontrol, rata-rata titer immunoglobulinnya hanya 1/16. Hal ini menunjukkan pemberian ekstrak etanol kayu kuning pada semua konsentrasi mengalami peningkatan titer antibodi, sehingga dapat dikatakan ekstrak etanol kayu kuning bersifat sebagai imunostimulator. Berarti ekstrak etanol kayu kuning memberikan pengaruh terhadap peningkatan aktivitas immunoglobulin G (IgG) pada mencit jantan.

Berdasarkan analisis statistika dengan menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL) dan analisis sidik ragam (ASR)

memperlihatkan bahwa pemberian ekstrak etanol kayu kuning berpengaruh sangat berbeda nyata terhadap peningkatan aktivitas IgG dapat dilihat dari nilai F hitung yang lebih besar dari nilai F tabel. Analisis antar perlakuan pada data titer IgG menggunakan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) antara kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol kayu kuning pada konsentrasi 1 % b/v, 1,5 % b/v, 2 % b/v terhadap kontrol memperlihatkan perbedaan yang sangat signifikan.

Pada pengamatan hasil titer imunoglobulin G (IgG) pada sumur mikrotitrasi terlihat bahwa pada konsentrasi 2 % b/v terjadi penurunan aktivitas IgG. Hal ini dapat terjadi karena 2 hal yaitu pada konsentrasi tinggi ekstrak etanol kayu kuning menjadi imunosupresan atau pada konsentrasi 2 % b/v ekstrak etanol kayu kuning sudah mulai bersifat toksik.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data secara statistika, maka disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L) MERR.) dapat meningkatkan aktivitas imunoglobulin G (IgG) pada mencit, dan yang paling efektif adalah kosentrasi 1,5 %.

V.2 Saran

Perlu dilakukan identifikasi dan isolasi kandungan kimia kayu kuning yang dapat meningkatkan respon imun.

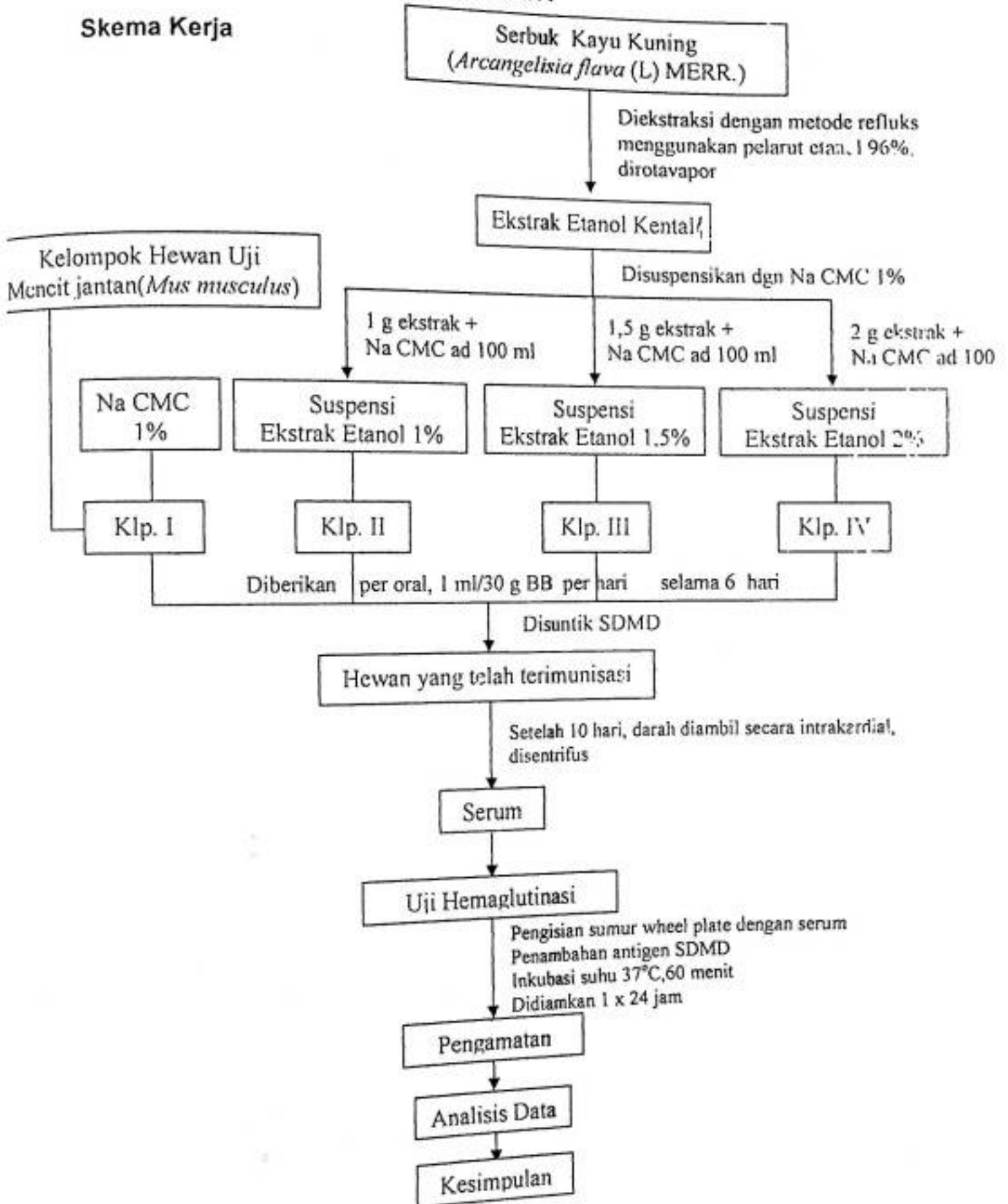
DAFTAR PUSTAKA

1. Baratawidjaja, K.G. 2004. *Imunologi Dasar*. Edisi VI. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 1,3,29,30,33.
2. Kresno, B. 1996. *IMUNOLOGI: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Edisi III. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 32.
3. Syahidah. 1994. *Daya Hambat Ekstrak Kloroform Batang Kayu Kuning Terhadap Pertumbuhan Bakteri Penyebab Diare*, Skripsi Sarjana Farmasi Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin, Tidak Dipublikasikan, Makassar.
4. Suhartiman, M. 2006. *Uji Efek Ekstrak Metanol Kayu Kuning Terhadap Radang Hati Kelinci Dengan Parameter SGOT dan SGPT*, Skripsi Sarjana Farmasi Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin, Tidak Dipublikasikan, Makassar.
5. Beecham, S.K. 1997. *Haruskah Kita Terkena Cacar Air*, <http://www.indonesia.com/intisari/1997/mei/cacar.htm>, diakses 17 Januari 2006.
6. Supriadi, K. 2001. *Tumbuhan Obat Indonesia : Penggunaan dan Khasiatnya*. Pustaka Populer Obor. Jakarta 6-8.
7. Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid II. Edisi I. Badan Penelitian Dan pengembangan Kehutanan. Jakarta. 757.
8. Roitt, I. M. 1988. *The Basic of Immunology II. Specific Immunity In Essential Immunology*. 6th Edition. Blackwell Scientific Publication. Oxford.15-27.
9. Sherwood, L. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. EGC. Jakarta. 354,367,368,378.
10. Lu, F.C. 1995. *Toksikologi Dasar*. Edisi II. Universitas Indonesia. Jakarta. 170-174.
11. Roitt, I.M., Brostoff J., Male, D. 1987. *Adaptive and Innate Immunity In : Immunology*. 2th Edition. London. Churchill Livingstone. 1-19
12. Sadikin, M. 2002. *Biokimia Darah*. Widya Medika. Jakarta. 113

13. Guyton, A.C. 1993. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 82-84
14. Barrett, J.T. 1988. *Textbook of Immunology*. Fifth Edition. C.V. Mosby Company. USA. 26.
15. Kimbal, J.W. 1986. *Introduction to Immunology*. Second Edition. Macmillan Publishing Company. New York. 95, 96, 98.
16. Weir, D.M. 1990. *Segi Praktis Immunologi*. Binarupa Aksara. Jakarta. 32,33,129.
17. Direktorat Jenderal POM. 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 11.
18. Gennaro, A.R. 1990. *Remington's Pharmaceutical Science*. 18th Edition, Mack Publishing Company. Easton-Pensylvania. 1047.
19. Parrot, E. L., 1979, *Pharmaceutical Technology Fundamental Pharmaceutics*, Burgess Publishing Company, USA, 353.
20. Direktorat Jenderal Badan Pengawasan Obat dan Makanan. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta. 9
21. Hargono, D., Winarno, M.W., Werawati, A. 2000. *Pengaruh Perasan Daun Ngokilo (Gynura procumbens Lour. Merr.) terhadap Sistem Imun Mencit Putih*, <http://www.kalbefarma.com/files/cdk/files/09PengaruhPerasanDaunNgokilo127.pdf/09PengaruhPerasanDaunNgokilo127.html>, diakses Desember 2005
22. Malole, M.B.M., dan Pramono, C.S.U 1989. *Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium*. Penelaah Masduki Partadiredja, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Tinggi Pusat Antara Universitas Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor, 105.
23. Ma'at, S. 2004. *Penelitian dan Pengembangan Produk Fitofarmaka dari daun Jambu Biji (Psidium guajava) Untuk Terapi Demam Berdarah Dengue Berdasarkan Data Preklinik, Toksisitas dan Percobaan Klinik*. Universitas Airlangga. Surabaya. 102-103.

Skema Kerja

LAMPIRAN I



Lampiran 2

Perhitungan statistik data aktivitas Immunoglobulin G (IgG) mencit jantan berdasarkan titer IgG pada pemberian ekstrak etanol kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L) MERR) berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Tabel 3. Data Titer Immunoglobulin G (IgG) sebelum ditransformasi

Perlakuan	Titer Immunoglobulin G (IgG)			
	Kontrol (Na-CMC)	Kayu Kuning 1%	Kayu Kuning 1,5%	Kayu Kuning 2%
Replikasi 1	1/16	1/64	1/128	1/64
Replikasi 2	1/16	1/64	1/128	1/64
Replikasi 3	1/16	1/64	1/128	1/128

Tabel 4. Data Titer Immunoglobulin G (IgG) setelah ditransformasi dengan $[2 \log (\text{titer})] + 1$

Perhatian	Hewan Uji			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
Kontrol (Na-CMC)	1,40	1,40	1,40	4,2	1,40
Ekstrak Kayu Kuning 1%	2,61	2,61	2,61	7,83	2,61
Ekstrak Kayu Kuning 1,5%	3,21	3,21	3,21	9,63	3,21
Ekstrak Kayu Kuning 2%	2,61	2,61	3,21	8,43	2,81
Jumlah				30,09	10,03

Analisis Sidik Ragam (ASR)

A. Sumber Keragaman

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

μ = Total hasil percobaan

δ = Nilai rata-rata harapan

ζ = Pengaruh kesalahan/salut

Sumber Keragaman adalah :

1. Perlakuan (D)
2. Kesalahan/Galat (G)
3. Total percobaan (T)

B. Perhitungan Derajat Bebas (Db)

1. $DbT = (r \cdot t) - 1 = (3 \cdot 4) - 1 = 11$
2. $DbP = t - 1 = 4 - 1 = 3$
3. $DbG = DbT - DbP = 11 - 3 = 8$

C. Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK)

$$FK = \frac{T_{ij}^2}{r \cdot t} = \frac{(30,09^2)}{3 \times 4} = \frac{905,4081}{12} = 75,45$$

$$\begin{aligned} 1. \text{ JKT} &= T(Y_{ij}^2) - FK \\ &= (1,40^2 + 1,40^2 + \dots + 3,21^2) - FK \\ &= 81,16 - 75,45 \\ &= 5,71 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2. \text{ JKP} &= \frac{TP^2}{r} - FK \\ &= \frac{(4,2^2 + 7,83^2 + \dots + 8,43^2)}{3} - 75,45 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &= \frac{242,7507}{3} - 75,45 \\ &= 80,91 - 75,45 \\ &= 5,46 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 3. \text{ JKG} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\ &= 5,71 - 5,46 \\ &= 0,25 \end{aligned}$$

D. Perhitungan Kuadrat Tengah (KT)

$$1. \text{ KTP} = \frac{\text{JKP}}{\text{Dbp}} = \frac{5,46}{3} = 1,82$$

$$2. \text{ KTG} = \frac{\text{JKG}}{\text{DbG}} = \frac{0,248}{8} = 0,031$$

E. Perhitungan Distribusi F (Fh)

$$FhP = \frac{\text{KTP}}{\text{KTG}} = \frac{1,82}{0,031} = 58,70$$

Tabel 5. Hasil Analisa Sidik Ragam (ASR) Perlakuan Terhadap Rasio Aktivitas Immunoglobulin G (IgG)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Fh	Ft	
					5%	1%
Perlakuan (P)	3	5,46	1,82	58,70**	4,07	7,59
Total (G)	8	0,25	0,031			
Total (T)	11	5,71				

Keterangan : (**) Sangat berbeda nyata karena $F_h > F_t$, H_0 ditolak Hipotesa (H_1) diterima, yaitu ada pengaruh pemberian ekstrak etanol kayu kuning terhadap aktivitas Immunoglobulin G (IgG) Mencit Jantan

$$\text{Nilai tengah (y)} = \frac{T_{ij}}{r \cdot t} = \frac{30,09}{3 \times 4} = 2,507$$

$$\begin{aligned} \text{Koefisien keragaman (KKG)} &= \frac{\sqrt{KTG}}{y} \times 100\% \\ &= \frac{\sqrt{0,031}}{2,507} \times 100\% \\ &= \frac{0,176}{2,507} \times 100\% \\ &= 0,0702 \times 100\% \\ &= 7,023\% \end{aligned}$$

Kesimpulan :

Dari hasil analisa statistik diperoleh ada pengaruh pemberian ekstrak etanol kayu kuning terhadap aktifitas IgG mencit jantan dengan nilai KK sebesar 7,023% dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\begin{aligned} \text{BNT 1\%} &= t_{0,01} \times \sqrt{\frac{2KTG}{r}} \\ &= 3,355 \times \sqrt{\frac{2 \times 0,031}{3}} \\ &= 3,355 \times \sqrt{0,0207} \\ &= 3,355 \times 0,144 = 0,483 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= t_{0,05} \times \sqrt{\frac{2KTG}{r}} \\
 &= 2,306 \times \sqrt{\frac{2 \times 0,031}{3}} \\
 &= 2,306 \times \sqrt{0,0207} \\
 &= 2,306 \times 0,144 \\
 &= 0,332
 \end{aligned}$$

Perlakuan	A	B	C	D
Rata-rata	3,21	2,81	2,61	1,40

Keterangan :

- A = Diberi ekstrak etanol 1,5%
- B = Diberi ekstrak etanol 2%
- C = Diberi ekstrak negatif 1%
- D = Kontrol negative

Perbandingan antar perlakuan

Tabel 6. Tabel Hasil Analisis Uji BNT

Perlakuan	Selisih	BNT		Keterangan
		P = 0,05	P = 0,01	
A - B	0,40	0,332	0,483	S
A - C	0,60	0,332	0,483	SS
A - D	1,8	0,332	0,483	SS
B - C	0,20	0,332	0,483	NS
B - D	1,41	0,332	0,483	SS
C - D	1,21	0,332	0,483	SS

Lampiran

Konversi takaran pemberian dalam satuan persen (%) menjadi mg/g BB mencit :

$$1. 1\% \text{ b/v} = \frac{1 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{1000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = \frac{10 \text{ mg}}{\text{ml}}$$

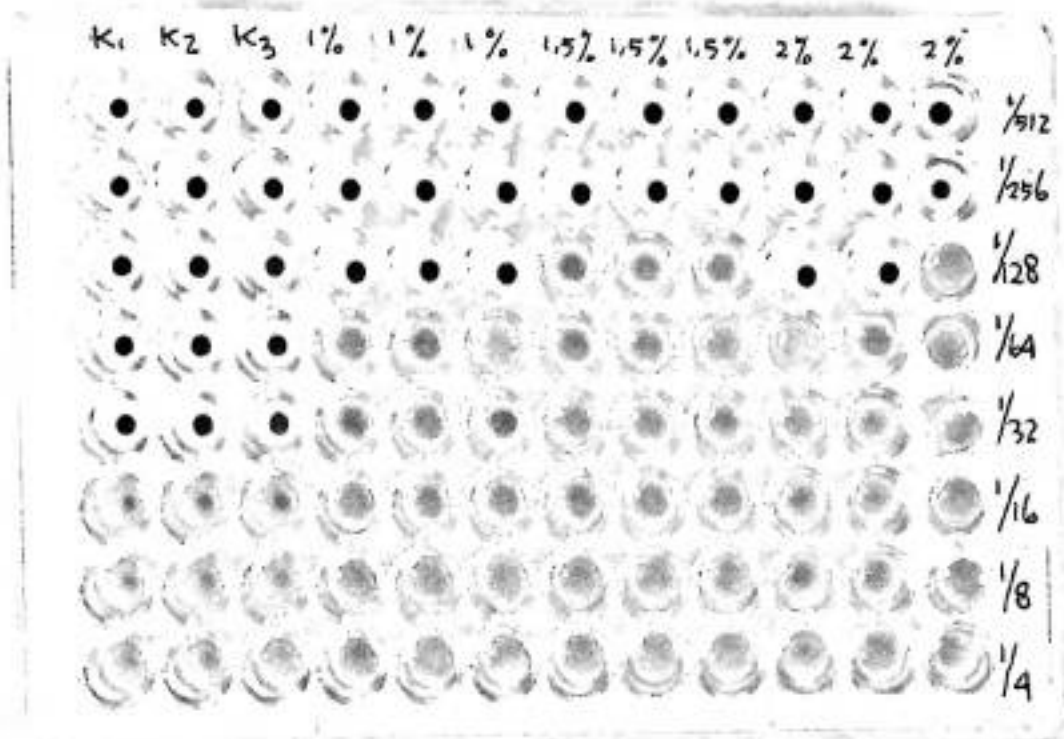
1 ml untuk 30 g BB mencit, jadi 10 mg/ml ~ 0.33 mg/g BB mencit

$$2. 1.5\% \text{ b/v} = \frac{1.5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{1500 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = \frac{15 \text{ mg}}{\text{ml}}$$

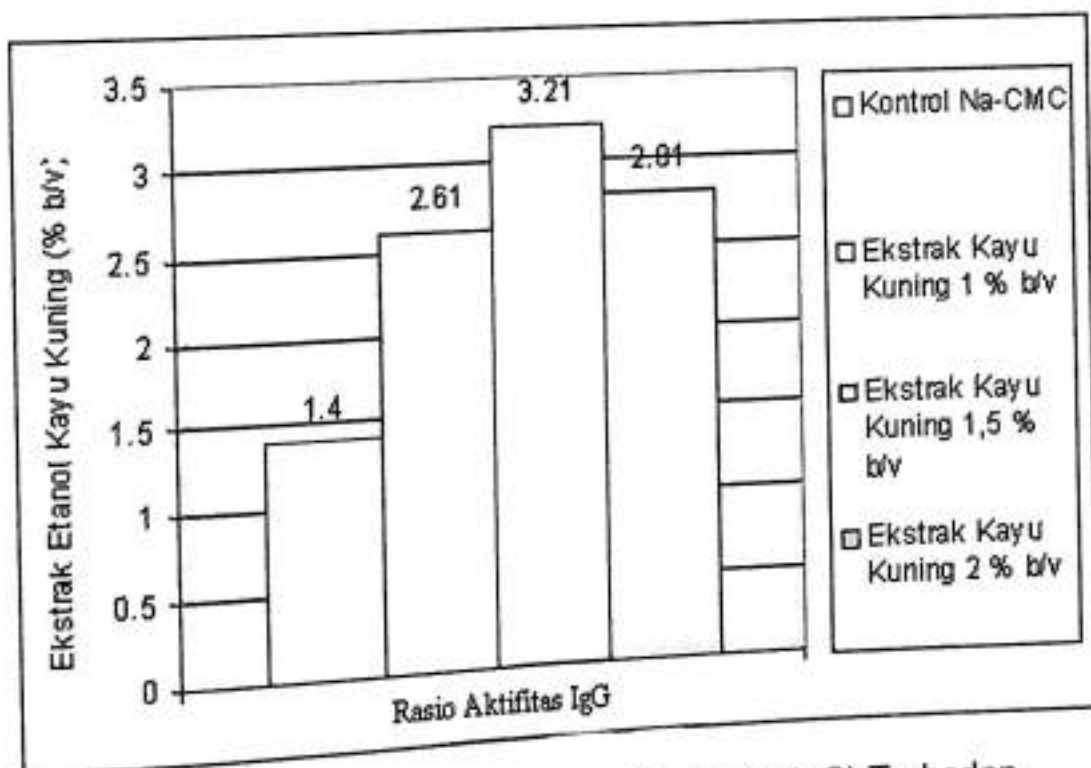
1 ml untuk 30 g BB mencit, jadi 15 mg/ml ~ 0.5 mg/g BB mencit

$$3. 2\% \text{ b/v} = \frac{2 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{2000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = \frac{20 \text{ mg}}{\text{ml}}$$

1 ml untuk 30 g BB mencit, jadi 20 mg/ml ~ 0.66 mg/g BB mencit



Gambar 2. Foto Data Titer Immunoglobulin G (IgG) pada Sumu Mikrotitrasi



Gambar 3. Histogram Aktifitas Immunoglobulin G (IgG) Terhadap Konsentrasi Ekstrak Etanol Kayu Kuning



Keterangan:

Daun Tumbuhan Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) MEER.)



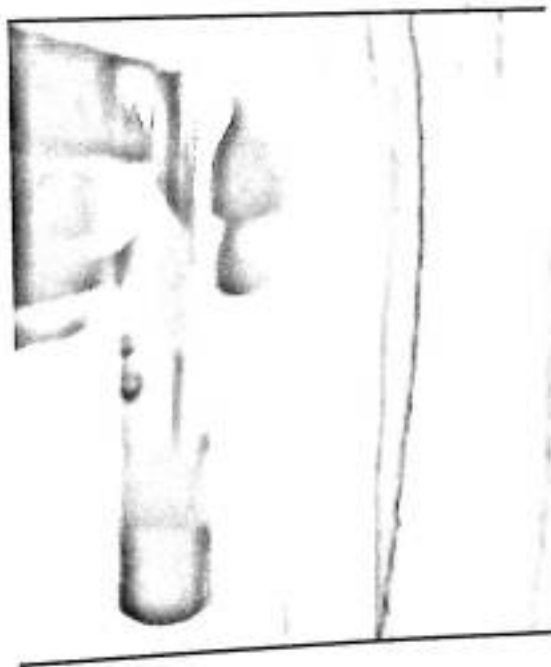
Batang Tumbuhan Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) MEER.)



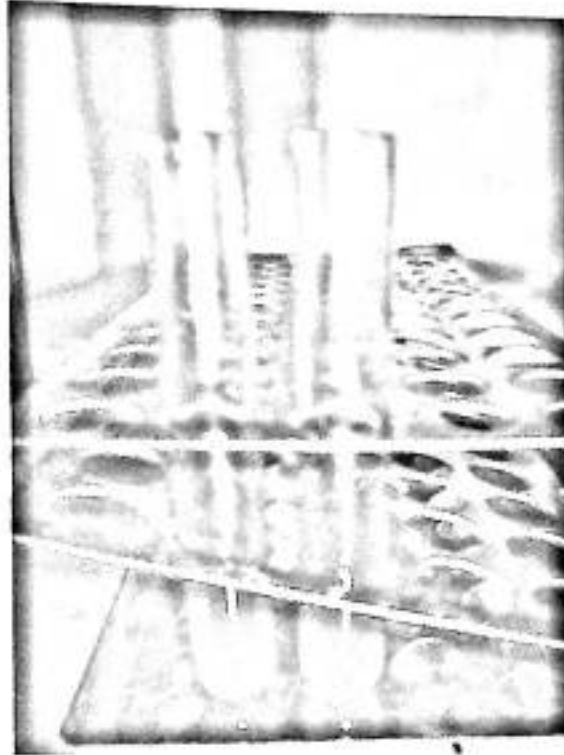
Simplisia (*Arcangelisiae*) Cortex



Gambar 5. Hewan coba mencit jantan dengan perlakuan secara oral



Gambar 6. Pencucian Sel Darah Merah Domba (SDMD)



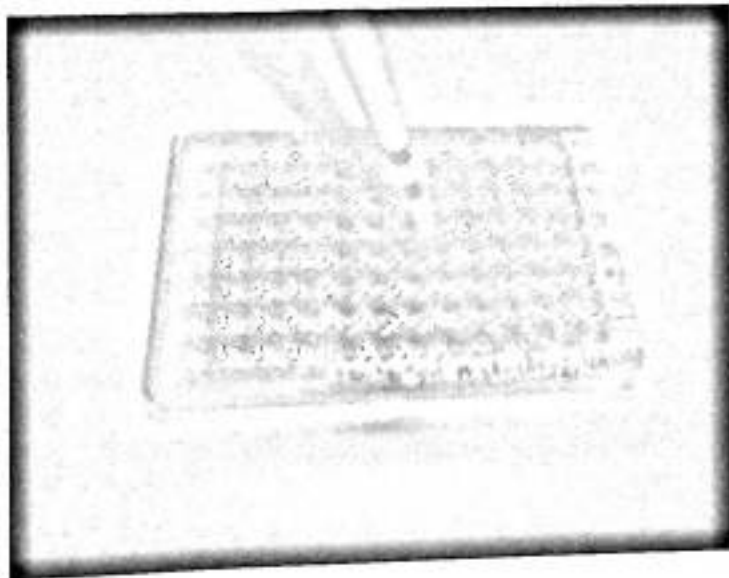
Gambar 7. Sel Darah Merah Domba (SDMD 2%)



Gambar 8. Hewan coba mencit jantan diimunisasi dengan sel darah merah domba 2% secara intraperitoneal



Gambar 9. Hewan coba mencit jantan dengan pengambilan darah secara intrakardial



Gambar 10. Pengisian sumur mikrotitrasi dengan PBS, serum darah mencit dan SDMD 2%