

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

**CORY LOLLO  
H 511 03 065**



Fak. Farmasi  
1 (satu)  
Hadiah

SKP - F07

LOL  
e

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2007**

**EFEK EKSTRAK HEKSAN  
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**

**CORY LOLLO  
H511 03 065**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2007**

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

**CORY LOLLO**

**H511 03 065**

**Disetujui oleh :**

**Pembimbing Utama,**



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

**Pembimbing Pertama,**



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

**Pembimbing Kedua,**



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

**Pada tanggal**

**2007**

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang efek ekstrak n-heksan kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn) terhadap aktivitas imunoglobulin G (IgG) kelinci jantan (*Oryctolagus cuniculus*), melalui metode hemaglutinasi, dengan menginduksi aktivitas IgG menggunakan sel darah merah domba (SDMD). Setelah 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 uji Beda Nyata Terkecil (BNT) memperlihatkan bahwa pemberian ekstrak n-heksan Kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) dengan konsentrasi 1%, 1,5%, dan 2% b/v. Kosentrasi 1,5% dan 2% dapat meningkatkan aktivitas imunoglobulin G (IgG).

Kata kunci : Imunoglobulin G (IgG), Hemaglutinasi, Kulit buah manggis

## ABSTRACT

A research about effect of n-hexane extract mangosteen hull (*Garcinia mangostana* Linn.) to immunoglobulin activity of male rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) has been carried out, by hemagglutination method, with Induction of IgG activity use Sheep Red Blood Cell (SDMD). After induction, rabbit given extract 9 days. Hemagglutination was observed 10 days after inducing, the highest dilution value in which agglutination observed was defined as titer value. The result of the the statistical analysis with the Complete Random Device ( CRD) and Least Significant Difference (LSD) method showed that administration of n-hexanen extract of mangosteen hull (*Garcinia mangostana* Linn.) with concentration 1%, 1,5%, and 2% w/v. Concentration 1,5% and 2% can increase the immunoglobulin G (IgG) activity .

Key word : Immunoglobulin G (IgG), Hemagglutination, mangosteen hull

DAFTAR ISI

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur pada Allah Bapa, yang telah menjadikan segalanya indah pada waktu-Nya. Hanya oleh anugerah-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari ada begitu banyak kendala yang dihadapi dalam penyusunan skripsi ini, sejak dari merencanakan penelitian hingga penyusunan laporannya. Namun berkat bantuan dan dukungan berbagai pihak, akhirnya kendala-kendala tersebut dapat teratasi. Oleh karena itu, ucapan terimakasih yang tulus dan penghargaan setinggi-tingginya penulis sampaikan kepada bapak Drs. H. Hasyim Barium, 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.

Pada kesempatan ini pula, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Ibu Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
2. Ibu Ketua Jurusan Farmasi Universitas Hasanuddin
3. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Farmasi Universitas Hasanuddin
4. Bapak Drs. Andrew ollich, selaku pembimbing akademik penulis.

5. Ayahanda Yohanis Rapa Limbong (Alm) dan ibunda Yohana Rante Lembang, yang senantiasa mendoakan, membiayai, serta memberi dukungan yang tak terkira dan tak terbalas dengan apapun jua.
6. Buat kakakku Leo yang membiayai, memberikan nasihat, semangat dan tempat curhatku serta adikku Vero yang telah menghibur dan membantu dalam proses penyusunan ini
7. Patnerku Resiana sebagai teman berbagi, suka dan duka semoga apa yang kita alami menjadikan kita lebih mengenal satu sama lain.
8. Buat kakak PA ku Evayanti yang selalu memberi semangat dan teman PA ku Yuliani, Stella, Resiana, dan Yosica makasih untuk dukungan dan doa kalian semua.
9. Seluruh teman-teman seperjuanganku di laboratorium fitokimia-farmakognosi dan di laboratorium biofarmasi, kehadiran kalian semua meringankan beban dan membuat segalanya menjadi indah.
10. Teman-teman farmasi angkatan 2003 yang tak dapat saya sebutkan satu per satu, terima kasih untuk dukungan berupa nasihat dan bantuannya.
11. Buat Kakak : Habibi, Roni, Nirwana terima kasih atas bantuannya selama penelitian.
12. Teman-temanku di GMKI MIPA makasih atas dukungannya dan maaf kalau saya jarang ikut kegiatan komisariat.
13. Teman-temanku di pondok Toking terima kasih atas canda tawanya, nasihat dan dukungannya selalu.

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.

Akhirnya kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan baik tenaga maupun pikiran, penulis mendoakan semoga Allah Bapa senantiasa memberkatinya. Semoga skripsi yang sederhana ini dapat bermanfaat bagi keilmuan farmasi pada khususnya dan masyarakat luas pada umumnya.

Makassar,

2007

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
ABSTRAK.....	iv
ABSTRACT.....	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Uraian Tanaman Manggis ( <i>Garcinia mangostana</i> Linn.).....	
II.1.1 Klasifikasi Tanaman.....	4
II.1.2 Nama Daerah.....	4
II.1.3 Morfologi Tanaman.....	5
II.1.4 Tempat tumbuh.....	5
II.1.5 Kandungan Kimia.....	5
II.1.6 Kegunaan.....	6
II.2 Ekstrak dan Ekstraksi.....	6
II.2.1 Definisi Ekstrak.....	6
II.2.2 Definisi Ekstraksi.....	7
II.2.3 Metode Meserasi.....	7

II.3 Uraian Sistem Pertahanan Tubuh .....	8
II.3.1 Sistem Imun.....	8
II.3.2 Respon Imun Nonspesifik.....	8
II.3.3 Respon Imun Spesifik.....	11
II.3.4 Hubungan Antara Sistem Imun NonSpesifik dan Spesifik.....	12
II.4 Antibodi.....	12
II.4.1 Pembuatan Antibodi.....	13
II.4.2 Immunoglobulin.....	14
II.4.3 Struktur Immunoglobulin.....	15
II.4.4 Fungsi Immunoglobulin.....	17
II.4.5 Klasifikasi Immunoglobulin.....	18
II.5 Immunoglobulin G (IgG).....	19
II.5.1 Sifat fisikokimia.....	19
II.5.2 Struktur .....	19
II.5.3 Aktivitas Biologi dan imunologi.....	20
II.6 Antigen.....	21
II.6.1 Aglutinasi.....	23
II.7 Hemaglutinasi.....	24
II.8 Immunokimia.....	24
II.8.1 Interaksi Antigen-Antibodi In Vitro.....	24
II.8.2 Pemeriksaan Immunoglobulin.....	25
II.9 Uraian Tentang Natrium Karboksimetilselulosa.....	28

<b>BAB III. PELAKSANAAN PENELITIAN.....</b>	<b>29</b>
III.1 Penyiapan Alat dan Bahan.....	29
III.1.1 Alat-alat yang digunakan.....	29
III.1.2 Bahan-bahan yang digunakan.....	29
III.2 Penyiapan Sampel .....	29
III.3 Ekstraksi Sampel.....	30
III.4 Pembuatan Larutan Koloidal Na-CMC 1%b/v.....	30
III.5 Pembuatan Suspensi Ekstrak Heksan Kulit Buah Manggis....	30
III.6 Pengujian aktivitas IgG pada Hewan Uji.....	
III.6.1 Penyiapan Suspensi Sel Darah Merah Domba 2%v/v...	31
III.6.2 Penyiapan Phospat Buffered Saline (PBS).....	31
III.6.3 Pemilihan dan Penyiapan Hewan Uji.....	32
III.6.4 Uji Aktivitas IgG Awal.....	32
III.6.5 Perlakuan Terhadap Hewan Uji.....	32
III.6.6 Pengambilan Sampel Darah Hewan Uji.....	32
III.6.7 Uji Hemaglutinasi.....	33
III.7 Pengumpulan dan Analisis Data.....	33
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>34</b>
IV.1 Hasil Penelitian.....	34
IV.2 Pembahasan.....	35

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	40
V.1 Kesimpulan .....	40
V.2 Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA.....	41
LAMPIRAN .....	43

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Data uji aktivitas imunoglobulin G (IgG).....	34
2. Data uji aktivitas imunoglobulin G (IgG) setelah pemberian ekstrak heksan kulit buah manggis ( <i>Garcinia mangostana</i> ).....	34
3. Data titer imunoglobulin G (IgG) setelah ditransformasi dengan $2 \log (\text{titer})+1$ .....	44
4. Hasil analisis sidik ragam (ASR) perlakuan terhadap rasio perubahan aktivitas imunoglobulin G (IgG).....	45
5. Data titer imunoglobulin G (IgG) setelah ditransformasi dengan $2 \log (\text{titer})+1$ .....	46
6. Data titer imunoglobulin G (IgG) setelah ditransformasi dengan $2 \log (\text{titer})+1$ .....	47
7. Hasil analisis lanjutan untuk $BNT_{0,05} (0,55)$ dan $BNT_{0,01} (0,08)$ .....	48
8. Data titer imunoglobulin G (IgG) setelah ditransformasi dengan $2 \log (\text{titer})+1$ .....	49
9. Hasil analisis sidik ragam (ASR) perlakuan terhadap rasio perubahan aktivitas imunoglobulin G (IgG).....	50

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Rumus bangun dasar imunoglobulin.....	17
2. Struktur imunoglobulin G (IgG).....	19
3. Proses hemaglutinasi.....	24
4. Grafik rata-rata titer imunoglobulin G (IgG) dalam serum kelinci sebelum dan setelah pemberian ekstrak.....	35
5. Foto data titer imunoglobulin G (IgG) awal (sebelum pemberian ekstrak heksan kulit buah manggis) pada sumur mikrotiter.....	51
6. Foto data titer imunoglobulin G (IgG) setelah pemberian ekstrak heksan kulit buah manggis pada sumur mikrotiter.....	51

## BAB I PENDAHULUAN

Beberapa penyebab penting dari penyakit pada manusia adalah agen infeksi, trauma mekanis, bahan kimia beracun, radiasi, suhu ekstrim, masalah gizi dan stres psikologik. Timbulnya penyakit merupakan bagian dari hidup individu yang sakit, karena itu harus dipertimbangkan mekanisme respon intrinsik dari individu tersebut dalam semua proses biologis yang terpengaruh oleh agen ekstrinsik tertentu (1).

Salah satu bagian dari sistem imun tubuh yaitu imunitas humoral oleh sekelompok limfosit yang berdiferensiasi dari sumsum tulang. Ia mempunyai kemampuan untuk melawan benda-benda asing (antigen) yang masuk ke dalam tubuh. Menurunnya daya imun tubuh menyebabkan mudahnya antigen ini masuk ke dalam tubuh sehingga menyebabkan timbulnya suatu penyakit (2).

Untuk mengobati suatu penyakit, dibutuhkan obat, baik obat modern maupun obat tradisional. namun, suatu isu nasional yang sering dikeluhkan masyarakat adalah mahalnya harga obat sintetik, sehingga nilai konsumsi obat perkapita di Indonesia masih yang terendah di Asia Tenggara. Pengembangan obat baru dari senyawa tunggal memerlukan waktu panjang (lebih dari 20 tahun) dengan biaya yang sangat mahal. Dengan kondisi perekonomian saat ini, Indonesia masih sulit untuk mewujudkan pengembangan obat baru. Pilihan yang lain adalah melalui peningkatan kualitas obat alami agar memiliki kejelasan khasiat, mutu dan keamanannya

antara lain melalui proses standarisasi bahan baku dan proses serta uji khasiat dan keamanan secara preklinik dan klinik (3).

Namun demikian, dalam perkembangannya sering dijumpai ketidaktepatan penggunaan obat tradisional karena kesalahan informasi maupun anggapan yang keliru terhadap obat tradisional dan cara penggunaannya, sehingga dalam beberapa kasus menimbulkan efek samping. Berbagai upaya telah dilakukan untuk menanggulangi kelemahan-kelemahan ini sampai ditemukannya bentuk obat tradisional yang telah teruji khasiat dan keamanannya, bisa dipertanggungjawabkan secara ilmiah serta memenuhi indikasi medis (4).

Salah satu obat tradisional yang telah banyak digunakan masyarakat adalah manggis (*Garcinia mangostana*; Suku Guttiferae). Tumbuhan ini merupakan tanaman asli daerah tropis kawasan Asia Tenggara. Selain buahnya, bagian tanaman ini yang dapat dimanfaatkan antara lain batang dan kulit batang, daun, serta kulit buah. Rebusan kulit buah *G. mangostana* berkhasiat untuk beberapa penyakit seperti : diare, sariawan, disentri, nyeri urat, sembelit, dan lain-lain. Di sejumlah negara di Asia Tenggara, kulitnya biasa dibuat lotion penyegar kulit atau salep untuk mengatasi eksim atau penyakit kulit jenis lain (5). Telah dilaporkan bahwa *G. mangostana* mengandung senyawa kimia yang disebut xanthon yang memiliki aktivitas sebagai neuroprotektif dan antioksidan, (6). Selain itu juga berkhasiat sebagai antiproliferasi dan anti inflamasi (7).

Berdasarkan uraian ini, diduga ekstrak heksan kulit buah *G. mangostana* berpengaruh terhadap kadar IgG sebagai bagian dari sistem

imun tubuh. Sehubungan dengan hal tersebut, maka akan dilakukan penelitian untuk mengetahui efek dari ekstrak kulit buah manggis terhadap aktivitas IgG sebagai parameter aktivitas sistem imun.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

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

##### II.1.1 Klasifikasi Tanaman (15, 16, 17)

- Kerajaan : Plantae
- Divisi : Spermatophyta
- Anak Divisi : Angiospermae
- Kelas : Dicotyledonae
- Anak kelas : Dialypetalae
- Bangsa : Guttiferales
- Suku : Guttiferae
- Marga : *Garcinia*
- Jenis : *Garcinia mangostana* Linn.

##### II.1.2 Nama daerah (15, 17, 18)

- Jawa : Manggis
- Aceh : Manggoita
- Lampung : Manggus, manggos
- Dayak : Sungkup
- Bali : Manggis, manggista
- Bugis : Manggisi
- Makassar : Manggusta
- Halmahera : Mangustang

### **II.1.3 Morfologi Tanaman (14,15)**

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, 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. Dua daun kelopak yang hijau kuning, dua yang terdalam lebih kecil, bertepi merah, melengkung kuat, tumpul. Daun mahkota bentuk telur terbalik, berdaging tebal, hijau kuning, tepi merah atau hampir semua merah. Bakal buah beruang 4-8. Kepala putik berjari-jari 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 (16)**

Dapat tumbuh di seluruh nusantara dengan ketinggian 1500 m di atas permukaan laut terutama di daerah-daerah rendah.

### **II.1.5 Kandungan Kimia (15, 17, 18)**

Kandungan zat yang terdapat dalam daun manggis diantaranya 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 (15, 17, 18)**

Beberapa bagian dari tanaman manggis yang dapat digunakan diantaranya 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 dikunya 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 (atonische diarrhee), 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 Ekstrak dan Ekstraksi**

### **II.2.1 Definisi Ekstrak (19)**

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

### **II.2.2 Definisi Ekstraksi (9, 19)**

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.2.3 Metode Maserasi (9)**

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.3 Uraian Sistem Pertahanan Tubuh**

### **II.3.1 Sistem Imun**

Imunitas berasal dari kata latin yaitu *immunitas*. Secara umum imunitas merupakan respon molekuler atau seluler (20). Sistem ini merupakan resistensi terhadap penyakit terutama penyakit infeksi. Gabungan sel, molekul dan jaringan yang berperan dalam resistensi terhadap infeksi disebut sistem imun. Sistem ini dibutuhkan tubuh untuk mempertahankan keutuhannya terhadap bahaya yang dapat ditimbulkan berbagai bahan dalam lingkungan hidup. Pertahanan imun terdiri atas sistem imun alamiah atau nonspesifik (*natural/innate/native*) dan didapat atau spesifik (*adaptive/acquired*) (13).

### **II.3.2 Respon Imun nonspesifik**

*Innate immunity* adalah pertahanan tubuh yang mempunyai sifat tidak spesifik dan merupakan bagian sistem imun yang berfungsi sebagai barier terdepan pada awal terjadinya infeksi penyakit (20). Mekanisme fisiologik imunitas nonspesifik berupa komponen normal tubuh yang selalu ditemukan pada individu sehat dan siap mencegah mikroba masuk ke dalam tubuh dan dengan cepat menyingkirkan mikroba tersebut. Jumlahnya dapat ditingkatkan oleh infeksi dan tidak ditujukan untuk mikroba tertentu saja, tetapi telah ada dan siap berfungsi sejak lahir (13). Yang termasuk *innate immunity* adalah, makrofage, sel darah merah dan sel asesories, selain itu juga bahan biokimia dan penghalang fisik seperti kulit yang mensekresi lisosim dan dapat merusak bakteri seperti bakteri *S.aureus*. (20).

Komponen-komponen sistem imun nonspesifik terdiri atas :

1. Determinan

Berbagai faktor determinan yang berpengaruh terhadap sistem imun non spesifik sebagai berikut :

a. Spesies

Perbedaan kerentanan yang jelas terhadap berbagai mikroorganisme misalnya tikus sangat resisten, sedang manusia sangat rentan terhadap difteri.

b. Perbedaan individu dan pengaruh usia

Infeksi terjadi lebih berat pada anak usia balita dan binatang muda dibanding usia dewasa. Hal tersebut disebabkan karena sistem imun yang belum matang pada usia muda.

c. Suhu

Kelangsungan hidup banyak jenis mikroorganisme tergantung pada suhu.

d. Faktor nutrisi

Resistensi terhadap infeksi yang menurun oleh efek nutrisi yang buruk sudah tidak dipersoalkan lagi. Sebaliknya keadaan nutrisi yang buruk dapat menyulitkan poliferasi virus sehingga seorang dengan nutrisi buruk dapat lebih tahan terhadap infeksi virus tertentu dibanding dengan orang yang nutrisinya baik. Di lain pihak, nutrisi yang kurang baik sering disertai pula dengan sanitasi buruk yang dapat meningkatkan infeksi.

## 2. Pertahanan fisik/mekanik

Dalam pertahanan fisik atau mekanik ini, kulit, selaput lendir, silia saluran nafas, batuk dan bersin, akan mencegah masuknya berbagai kuman patogen ke dalam tubuh. Kulit yang rusak misalnya oleh luka bakar dan selaput lendir yang rusak oleh asap rokok, akan meningkatkan resiko infeksi.

## 3. Pertahanan biokimia

pH rendah dari keringat dan sebasea, berbagai asam lemak yang dilepas kulit mempunyai efek denaturasi protein sehingga dapat mencegah infeksi yang terjadi melalui kulit. Bahan yang disekresi mukosa saluran nafas dan telinga berperan pula dalam pertahanan tubuh secara biokimiawi.

Lisozim dalam keringat, ludah, air mata dan air susu ibu melindungi tubuh dari berbagai kuman gram-positif oleh karena dapat menghancurkan lapisan peptidoglikan dinding bakteri. Air susu ibu juga mengandung laktoferin dan asam neuraminik yang mempunyai sifat anti bakterial terhadap *E. coli* dan stafilokokus.

Berbagai bahan yang dilepas leukosit, lisozim yang dilepas makrofag dapat menghancurkan kuman Gram negatif. Laktoferin dan transferin dalam serum dapat mengikat zat besi yang dibutuhkan untuk hidup kuman *pseudomonas*.

## 4. Pertahanan humoral

Berbagai bahan dalam sirkulasi seperti komplemen, interferon, dan kolektin berperan dalam pertahanan humoral. Serum normal dapat

membunuh dan menghancurkan beberapa bakteri gram negatif. Hal itu disebabkan oleh adanya kerja sama antara antibodi dan komplemen .

#### 5. Pertahanan selular

Salah satu upaya tubuh untuk mempertahankan diri terhadap masuknya antigen adalah menghancurkan bakteri bersangkutan secara nonspesifik dengan proses fagositosis. Fagosit, makrofag, sel *Natural Killer* (NK) berperan dalam sistem imun non spesifik seluler ini.

### II.3.3 Respon imun Spesifik

*Adaptive immunity* adalah merupakan sistem pertahanan tubuh lapis kedua, jika *innate immunity* tidak mampu mengeliminasi agen penyakit (20). Respon imun ini 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 sistem imun tersebut. Benda asing yang sama, bila terpajang ulang akan dikanal lebih cepat, kemudian dihancurkan olehnya (12). Sistem ini terbagi atas dua bagian :

#### 1. Sistem imun spesifik humoral

Imunitas humoral ditengahi oleh sekelompok limfosit yang berdiferensiasi dari sum-sum tulang (Limfosit B) (13). Bila limfosit B dirangsang oleh antigen, sel tersebut akan berproliferasi, berdiferensiasi dan berkembang menjadi sel plasma yang membentuk antibodi. Antibodi yang dilepas dapat ditemukan dalam serum. Fungsi utama antibodi ini adalah pertahanan terhadap infeksi ekstraselular, virus dan bakteri serta menetralisasi toksinnya (15).



## 2. Sistem imun spesifik seluler

Limfosit T atau sel T berperan pada sistem imun spesifik selular. Sel tersebut juga berasal dari sel asal yang sama seperti sel B. Sel T dibentuk di dalam sumsum tulang tetapi proliferasi dan diferensiasinya terjadi di dalam kelenjar timus atas pengaruh berbagai faktor asal timus. Fungsi utama sistem imun spesifik selular adalah pertahanan terhadap bakteri yang hidup intraseluler, jamur, virus, parasit dan keganasan (12).

### II.3.4 Hubungan antara Sistem Imun Nonspesifik dan Spesifik

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 (13).

## II.4 Antibodi

Antibodi adalah protein imunoglobulin yang disekresi oleh sel B yang teraktifasi oleh antigen. Berat molekul antibodi berkisar 150.000 Da (dalton) sampai 950.000 Da yang tergantung pada kelasnya (20). 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 (13).

Molekul imunoglobulin terdiri dari dua rantai berat yang identik dan dua rantai ringan yang identik. Keempatnya bergabung melalui ikatan disulfida antar rantai. Rantai-rantai tersebut dapat dipisahkan satu sama lain dengan mereduksi ikatan S-S atau dengan pengasaman (14). Molekul antibodi adalah protein-protein globulin (imunoglobulin) yang bereaksi secara spesifik dengan antigen sehingga menstimulasi produksinya. Antibodi tersusun dari sekitar 20% dari protein dalam plasma darah. Darah mengandung 3 tipe globulin; alfa, beta dan gamma, tergantung laju migrasi elektroforetiknya. Antibodi adalah globulin gamma (2).

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.4.1 Pembentukan antibodi**

Bila antigen pertama kali masuk ke dalam tubuh, terjadilah respon imun primer yang ditandai dengan munculnya IgM beberapa hari setelah pemaparan. Saat antara pemaparan antigen dan munculnya IgM disebut *lag phase*. Kadar IgM mencapai puncaknya setelah kira-kira 7 hari. Enam sampai tujuh hari setelah pemaparan, dalam serum mulai terdeteksi IgG,

sedangkan IgM mulai berkurang sebelum kadar IgG mencapai puncaknya yaitu 10-14 hari setelah pemaparan antigen. Kadar antibodi kemudian berkurang dan umumnya hanya sedikit yang dapat dideteksi 4-5 minggu setelah pemaparan.

Bila pemaparan antigen terjadi dua kali, terjadi respon imun sekunder yang sering juga disebut respon anamnestic atau *booster*. Baik IgM ataupun IgG sepat meningkat secara nyata dengan *lag phase* yang pendek. Puncak kadar IgM pada respon sekunder ini umumnya tidak melebihi puncaknya pada respon primer, sebaliknya kadar IgG meningkat jauh lebih tinggi dan berlangsung lebih lama. Perbedaan tersebut disebabkan adanya sel B dan sel T memory akibat pemaparan yang pertama.

Sifat pengikatan antibodi dengan antigen juga berubah dengan waktu, yaitu afinitas antibodi terhadap antigen makin lama makin besar, dan kompleks antigen-antibodi yang terjadi juga makin lama makin stabil. Akan tetapi antibodi yang dibentuk makin poliklonal sehingga makin kurang spesifik, yang berarti makin besar kemungkinan terjadi reaksi silang (21).

#### **II.4.2 Imunoglobulin**

Imunoglobulin merupakan substansi pertama yang diidentifikasi sebagai molekul dalam serum yang mampu menetralkan sejumlah mikroorganisme penyebab infeksi. Molekul ini dibentuk oleh sel B 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 mengaktivasi komplemen (21).

Imunoglobulin terdiri atas molekul-molekul protein yang walaupun memiliki banyak persamaan dalam hal struktur dan sifat biologik, berbeda dengan susunan asam amino yang membentuk molekulnya. Antibodi yang dibentuk sebagai reaksi terhadap salah satu jenis antigen yang mempunyai susunan asam amino yang berbeda dengan antibodi yang dibentuk terhadap antigen lain, dan masing-masing hanya berikatan dengan antigen yang relevan. Molekul imunoglobulin bukan sekedar molekul yang dapat mengikat antigen dengan cara "*lock and key*", tetapi memiliki sifat yang sangat kompleks. Selain itu juga harus mempunyai struktur yang memungkinkan molekul itu masuk ke dalam jaringan atau lokasi antigen. Susunan molekul harus sedemikian rupa sehingga molekul tidak mudah dihancurkan oleh enzim pproteolitik, dan harus memiliki bagian yang melekat di fagosit (21).

Imunoglobulin adalah glikoprotein yang diproduksi oleh sel plasma (sel B) yang dihasilkan dalam bentuk fraksi globulin  $\gamma$  pada serum. Imunoglobulin dibentuk dalam 2 bentuk yang berbeda yaitu sebagai reseptor permukaan untuk antigen dan sebagai antibodi yang disekresikan ke dalam cairan ekstraseluler (22).

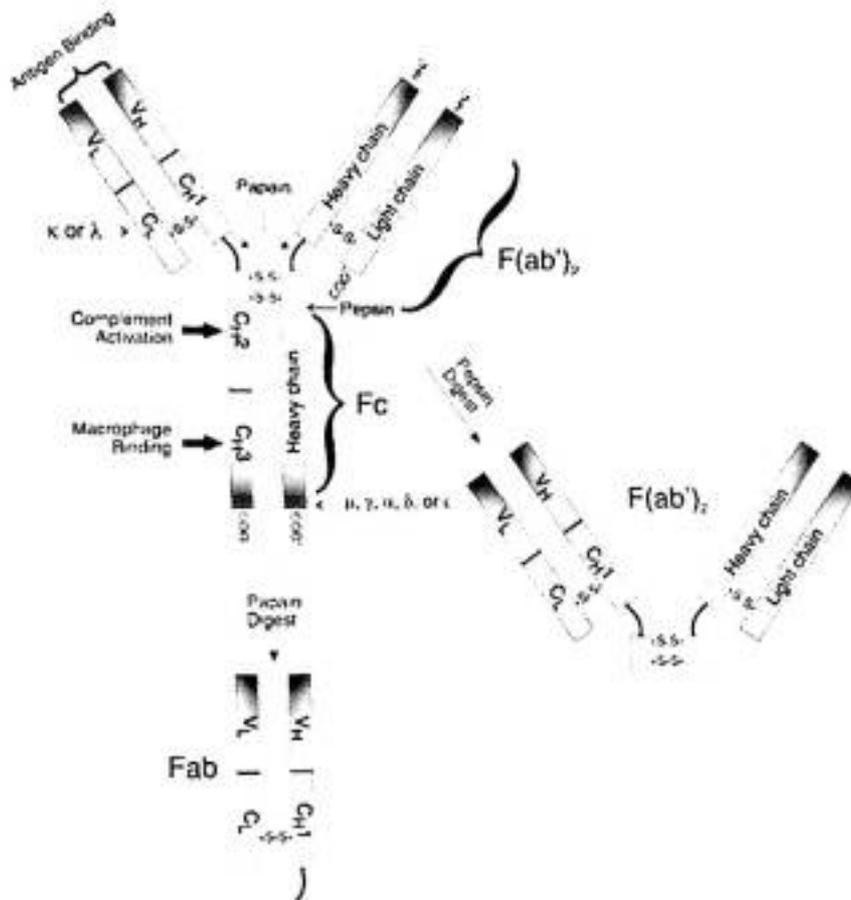
#### **II.4.3 Struktur Imunoglobulin**

Suatu imunoglobulin tersusun dari unit dasar yang sama, terdiri dari empat rantai: dua rantai ringan (L) yang identik dan dua rantai berat (H) yang identik. Setiap rantai ringan dihubungkan dengan rantai berat melalui

ikatan disulfida dan dua rantai berat dihubungkan satu sama lain juga dihubungkan dengan ikatan disulfida. Perlakuan dari suatu imunoglobulin dengan enzim papain menghasilkan tiga fragmen. Dua dari fragmen tersebut bersifat identik yaitu sebagai Fab (Fragmen antigen binding) karena adanya kemampuan imunoglobulin untuk mengikat suatu antigen secara spesifik. Fragmen ketiga tidak memiliki ikatan antigen tapi berhubungan dengan aktifitas biologis antibodi seperti ikatan komplemen, ikatan terhadap sel mast. Fragmen ketiga ini dapat dikristalkan dan oleh sebab itu disebut Fc (fragmen crystallizable).

1. Kelompok rantai L ada dua kelas rantai L yaitu kappa ( $\kappa$ ) dan lambda ( $\lambda$ ). Keduanya secara normal digambarkan dalam setiap individu. Bagaimanapun, setiap sel B menggambarkan (setiap kandungan antibodi) hanya satu tipe rantai L baik itu K atau lambda tapi tidak keduanya.
2. Kelompok rantai H: setiap orang memiliki 5 rantai H yang berbeda yang membantu penentuan fungsi biologis dari masing-masing lima isotipe (kelas) imunoglobulin yang dibuat oleh individu itu sendiri.
3. Bagian konstan dan bagian variabel: semua rantai imunoglobulin memiliki bagian konstan (C) yang menentukan fungsi biologis dari suatu antibodi dan bagian variabel yang mengikat epitop yang unik. Dalam individu tunggal, semua anggota dari isotipe imunoglobulin memiliki suatu bagian konstan yang identik sedangkan setiap molekul antibodi di dalamnya masing-masing memiliki epitop pengenalnya sendiri. Bagian V dari satu rantai H dan satu rantai L terlibat dalam ikatan antigen. Oleh

karena itu, dengan dua pasang H-L per molekul antibodi, setiap empat rantai antibodi memiliki dua ikatan antigen atau pengenal dan disebut "difalant atau bifalant" (23).



Gambar 1. Rumus bangun dasar imunoglobulin (26).

#### II.4.4 Fungsi Imunoglobulin

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.

Reseptor *Fc* (FcRI, FcRII, FcRIII) bersama-sama dengan reseptor komplemen CR1 dan CR3 mempunyai peranan penting dalam

menangkap dan menyingkirkan kompleks imun. Bentuk transmembran reseptor FcRIII pada makrofag dan sel NK diduga terlibat dalam merangsang sitotoksitas keluar. Disamping itu reseptor Fc yang terdapat pada beberapa sub populasi sel T dan sel B diduga terlibat dalam pengaturan produksi berbagai isotype antibodi (21).

#### **II.4.5 Klasifikasi Immunoglobulin**

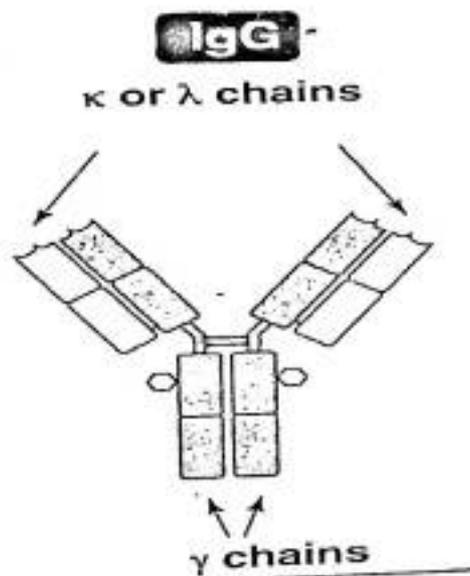
Pada manusia dikenal lima macam kelas immunoglobulin yang berbeda, masing-masing dengan struktur kimia dan peran biologi spesifik yang berbeda. Kelas-kelas ini ditandai dengan huruf G, A, M, D, E, dibelakang singkatan kata Ig (menunjukkan fungsi immunoglobulin) atau huruf-huruf tersebut ditulis dibelakang simbol  $\gamma$  (menunjukkan mobilitas elektroforetiknya gamaglobulin) (13). IgG adalah satu-satunya immunoglobulin yang dapat melewati plasenta. IgM sebuah makroglobulin yang memiliki berat molekul terbesar dibandingkan kelas immunoglobulin yang lain. IgM merupakan tipe immunoglobulin yang paling banyak dan seringkali tidak eksklusif, disekresi selama respon primer antibodi. IgA adalah immunoglobulin yang banyak ditemukan dalam cairan sekret oleh karena itu sering disebut sebagai immunoglobulin sekretoris. IgD adalah immunoglobulin yang ditemukan dalam jumlah sangat sedikit. Peran biologiknya sebagai antibodi dalam reaksi hipersensitifitas terhadap penisilin. IgE muncul meski dalam jumlah kecil tapi memegang peranan penting meskipun tidak memberi keuntungan yang penting. Berperan dalam alergi atopik (3).

## II.5 Immunoglobulin G (IgG)

### II.5.1 Sifat Fisikokimia

IgG secara normal terjadi dalam serum manusia dalam konsentrasi 1,0-1,4 mg per 100 ml, dan oleh sebab itu, terdapat 12-18 % dari total serum protein. IgG juga didistribusikan secara ekstravaskular (sekitar 50 %). Laju sintesisnya sekitar 2,3 mg per hari untuk berat badan 70 kg), waktu paruhnya sekitar 23 hari. Range distribusi elektroforetiknya melalui area globulin gamma. Kandungan karbohidrat dari IgG sedikit rendah : 2,5%. Berat molekul IgG sekitar 160.000 Dalton dan koefisien sedimentasinya mendekati 7 S (Sveddergs) (24).

### II.5.2 Struktur



Gambar 2. Struktur imunoglobulin G (IgG) (10).

IgG memiliki struktur yang simetris: dua rantai berat (H), masing-masing dengan berat molekul sekitar 55. 000 Dalton yang berikatan satu sama lain oleh 2 atau lebih ikatan disulfida yang terletak ditengah. Bagian

tengah dari masing-masing rantai H (puncak dari ujung aminoterminal), suatu rantai ringan (L) diikat pada suatu titik yang mendekati ujung karboksi terminalnya yaitu ikatan disulfida. Rantai L memiliki berat molekul sekitar 23.000 Dalton. Banyaknya perbedaan yang bervariasi dari antibodi spesifik IgG (dan semua imunoglobulin lainnya) disebabkan oleh variabilitas yang besar dari komposisi asam amino diantara molekul-molekul Ig yang berbeda dalam bagian aminoterminal dari semua rantainya. Ujung karboksi terminal dari molekul Ig yang berbeda jauh lebih konstan komposisi asam aminonya. Dua bagian yang berbeda dari rantai Ig ini adalah bagian variabel (V) dan bagian konstan (C). Pada bagian variabel, ujung aminoterminal disituasikan dengan spesifisitas antibodi. Molekul imunoglobulin dari asam amino dari dua rantai H adalah identik satu dengan yang lainnya begitu juga dengan dua rantai L nya. Jadi IgG bersifat difalent. Dari petunjuk diatas, suatu molekul IgG terdiri dari dua rantai H tipe gamma dan dua rantai L tipe K (kappa) dan tipe lamda (24).

### **II.5.3 Aktivitas biologi dan imunologi**

IgG adalah satu-satunya imunoglobulin manusia yang melewati barier plasenta. Setelah bereaksi dengan antigennya yang kemudian memperbaiki komplemen. IgG dan komplemen bekerja saling membantu sebagai opsonin pada pemusnahan antigen (1). IgG mempunyai sifat opsonisasi yang efektif karena sel-sel fagosit, monosit dan makrofag mempunyai reseptor untuk fraksi Fc dari IgG sehingga dapat mempererat hubungan antara fagosit dengan sel sasaran. Selanjutnya proses opsonisasi tersebut dibantu oleh reseptor untuk komplemen pada

permukaan fagosit. Antibodi IgG paling efektif dalam reaksi pengendapan imun (3). IgG merupakan komponen utama imunoglobulin serum. IgG dapat menembus plasenta masuk ke janin dan berperan pada imunitas bayi sampai umur 6-9 bulan. IgG dan komplemen bekerja saling membantu sebagai opsonin pada pemusnahan antigen. IgG juga berperan pada imunitas selular karena dapat merusak antigen sel melalui interaksi dengan sistem komplemen atau melalui efek sitolitik sel NK, eosinofil dan neutrofil (13). Pada respon sekunder IgG mungkin merupakan imunoglobulin utama yang disintesis. Dibandingkan dengan yang lain, IgG lebih mudah berdifusi ke ruang tubuh ekstravaskuler dan merupakan pertahanan utama untuk menetralkan toksin bakteri dan untuk berikatan dengan mikroorganisme sehingga memudahkan fagositosis (14).

## **II.6 Antigen**

Istilah antigen mengandung dua arti. Pertama untuk menggambarkan molekul yang memacu respon imun (juga disebut imunogen) dan kedua untuk menunjukkan molekul yang dapat bereaksi dengan antibodi atau sel T yang sudah disensitasi (12).

Antigen juga digunakan untuk menyebut substansi yang mampu bereaksi dengan antibodi yang diproduksi atas ransangan imunogen, tanpa mempertimbangkan apakah antigen itu sendiri bersifat imunogenik. Ini berarti berarti bahwa semua imunogen adalah antigen, tetapi tidak semua antigen merupakan imunogen. Secara umum antigen digolongkan dalam antigen eksogen yaitu antigen yang berasal dari luar tubuh seseorang.

misalnya berbagai jenis bakteri, virus dan obat dan antigen endogen yang terdapat dalam tubuh (21). 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 (23).

Epitop atau determinan antigen adalah bagian dari antigen yang dapat membuat kontak fisik dengan reseptor antibodi, menginduksi pembentukan antibodi yang dapat diikat dengan spesifik oleh bagian dari antibodi atau oleh reseptor antibodi (12).

Substansi dengan berat molekul rendah, seperti obat-obat dan antibiotik, umumnya tidak imunogenik tetapi bila diikat oleh protein yang imunogenik (*carrier protein*) ia akan menghasilkan suatu kompleks yang dapat merangsang sistem imun untuk memproduksi antibodi terhadap molekul tersebut. Substansi ini disebut hapten, dapat bereaksi dengan antibodi yang diproduksi tetapi ia sendiri tidak imunogenik (21).

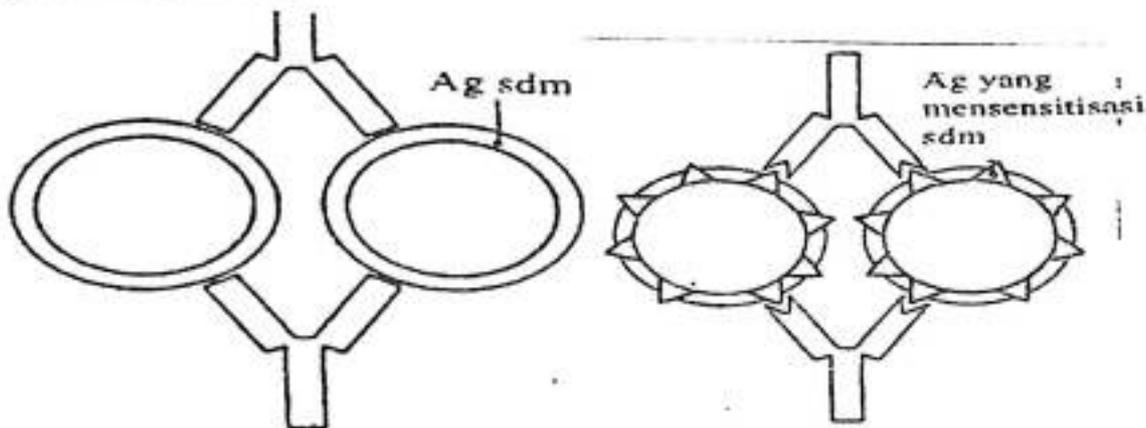
Ikatan antigen pada antibodi yang spesifik menyediakan mekanisme dimana antigen tersebut akan dinaktivasi dan dihancurkan (10). Secara fisika, antigen merupakan molekul besar dengan berat molekul 10.000 atau lebih, walaupun beberapa nanopeptida dengan berat molekul 1000 dapat bersifat sebagai antigen. Secara kimia antigen dapat berasal dari golongan protein atau polisakarida atau terdiri dari kombinasi antara keduanya atau kombinasi keduanya dengan substansi kimia yang lain. Sebagai contoh glikoprotein, lipoprotein, lipopolisakarida, dan nukleoprotein semuanya dapat menjadi antigen (24).

### II.6.1 Aglutinasi

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 (14). 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. Faktor muatan listrik protein yang terdapat permukaan partikel turut menentukan terjadinya aglutinasi. Protein bermuatan negatif cenderung saling menolak dan meyulitkan aglutinasi, atau menyebabkan aglutinasi tidak lengkap. 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 menyediakan 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 didefenisikan sebagai titer antibodi (25).

## II.7. Hemaglutinasi



Gambar 3. Proses hemaglutinasi (10)

Ikatan sel atau partikel yang lebih besar dengan antibodi terhadap antigen pada permukaan menyebabkan aglutinasi (14). Hemaglutinasi merupakan cara untuk menemukan antibodi atas dasar aglutinasi sel darah merah. Sebagai antigen dapat digunakan sel darah merah sendiri (1).

## II.8 Immunokimia

### II.8.1 Interaksi Antigen-Antibodi In Vitro

Interaksi antigen-antibodi in vitro merupakan dasar imunokimia yang dibagi dalam 2 kategori yaitu :

1. Interaksi antigen-antibodi primer adalah permulaan reaksi dan merupakan pengikat antigen dengan antibodi tingkat molekular. Biasanya reaksi ini tidak terlihat dengan mata belaka tetapi memerlukan suatu indikator, misalnya dengan melabel antigen atau antibodi dengan berbagai zat seperti radioisotop, enzim atau zat warna fluoresin dan lain-

lain. Sesuai dengan label yang dipakai, maka teknik penetapan interaksi antigen-antibodi dengan label radioisotop disebut teknik RIA, dan teknik yang menggunakan indikator label enzim disebut ELISA, sedangkan teknik yang menggunakan indikator fluoresin disebut imunofluoresensi. Teknik-teknik itu bermanfaat untuk penetapan antigen atau antibodi yang kadarnya rendah.

2. Interaksi antigen-antibodi sekunder dapat mengakibatkan presipitasi atau aglutinasi. Reaksi antigen-antibodi dapat terjadi langsung, tetapi kadang-kadang reaksi baru terjadi apabila ada komplemen. Apabila antigen yang ada dalam larutan direaksikan dengan antibodi spesifik, akan terbentuk kompleks antigen-antibodi yang besar sehingga kompleks mengendap dan terjadi presipitasi. Bila antigen tersebut terikat pada suatu partikel, misalnya partikel lateks, kuman, eritrosit maupun partikel lain, maka interaksi antigen-antibodi tersebut menyebabkan terjadinya gumpalan atau aglutinasi.

### II.8.2 Pemeriksaan Imunoglobulin

#### a) Hemaglutinasi

Hemaglutinasi merupakan cara untuk menentukan antibodi atas dasar aglutinasi sel darah merah. Sebagai antigen, dapat digunakan sel darah merah sendiri atau antigen yang mensensitasi sel darah merah. Uji Coombs direk merupakan cara untuk menemukan antibodi yang dapat mengaglutinasikan sel darah merah dengan efektif. Aglutinasi terjadi segera bila antibodi dicampur dengan sel darah merah. Aglutinasi terjadi melalui eritrosit yang sudah disensitasi dengan antigen tertentu.



## b) Reaksi Presipitasi

Presipitasi dapat terjadi bila antibodi bereaksi dengan antigen yang larut. Bila reaksi terjadi dengan bantuan medium atau agar, akan terbentuk lengkung presipitasi (12).

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

Dalam menerapkan teknik ini perlu dipertimbangkan beberapa keterbatasan. Hal yang paling menentukan adalah spesifitas antiserum yang digunakan, dan larutan standar yang stabil dengan kadar yang pasti. Di samping itu, reaksi imunopresipitasi dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya aviditas antibodi. Aviditas antibodi menentukan derajat stabilitas kompleks antigen-antibodi pada tempat pengikatan (antigen binding site), kompleks yang terbentuk cenderung berdisosiasi bila antibodi memiliki aviditas yang lemah, sebaliknya semakin tinggi aviditas antibodi makin stabil kompleks antigen-antibodi yang terbentuk. Selain itu, faktor-faktor lain yang juga memengaruhi adalah suhu, pH, dan molaritas larutan yang dipakai dan yang tidak boleh diabaikan adalah perbandingan antara konsentrasi antigen dengan antibodi.

Beberapa jenis reaktan menghasilkan imunopresipitasi yang optimal baik pada suhu  $0^{\circ}\text{C}$  maupun  $37^{\circ}\text{C}$ , sedangkan pH yang dianggap baik adalah pH netral, yaitu antara 6-7,5. pakar lain menyatakan pH 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 sehingga tidak terjadi presipitasi.

Perbandingan antigen dengan antibodi merupakan faktor terpenting dalam reaksi presipitasi. Pembentukan presipitasi terjadi apabila antara konsentrasi antigen dengan antibodi tercapai keseimbangan. Kondisi antigen berlebihan menyebabkan melarutnya kembali kompleks yang terbentuk (*postzone effect*), sedangkan antibodi berlebihan menyebabkan kompleks antigen-antibodi tetap ada dalam larutan (*prozone effect*).

Zona ekivalen merupakan daerah dimana antigen dan antibodi dalam keadaan seimbang. Zona ekivalen ini sempit apabila antigen mempunyai sifat mudah larut, sebaliknya zone ekivalen ini lebih lebar apabila antigen tidak mudah larut dan bermolekul besar atau bila dalam larutan terdapat beberapa jenis antigen (multikomponen). Pada umumnya bila digunakan teknik imunopresipitasi yang menggunakan sel semisolid, diusahakan supaya reaksi sumur yang terletak di tengah dimasukkan antibodi. Setelah itu antigen dan antibodi dibiarkan berdifusi ke dalam lapisan agar dan ditempat di mana keduanya bertemu dan mencapai keseimbangan terbentuk kompleks yang mengendap dan membentuk garis presipitasi.

Teknik ini dapat dipakai untuk menetapkan antigen maupun antibodi secara kuantitatif tetapi dapat juga dipakai untuk mengukur kadar antigen atau antibodi secara semikuantitatif yaitu dengan melakukan beberapa pengenceran dan melaporkan pengenceran tertinggi yang masih dapat membentuk presipitasi (12).

## **II.9 Uraian Tentang Natrium Karboksimetilselulosa**

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 (8).

## BAB III

### PELAKSANAAN PENELITIAN

#### III.1. Penyiapan Alat dan Bahan

##### III.1.1 Alat-alat yang digunakan

Alat-alat yang digunakan antara lain bejana maserasi, gelas kimia 100 ml, gelas ukur 25 ml, labu tentu ukur 100,0 ml, lumpang dan alu, lemari pendingin, jarum oral, jarum suntik, pipet mikron, pipet skala, pipet volum, tabung steril, sumur mikrotitrasi (*Well plate 96 lubang*), sentrifuge (*Hettich*), timbangan analitik (*Dragon 303*), timbangan gram (*O'hauss*), timbangan hewan (*Denver*) dan Vakum Buchner.

##### III.1.2 Bahan-bahan yang digunakan

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

#### III.2 Penyiapan Sampel

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

### **III.3 Ekstraksi Sampel (9)**

Sebanyak 600 g serbuk dimasukkan ke dalam bejana maserasi, lalu diekstraksi dengan heksan sebanyak 5 liter selama 5 hari sambil sesekali diaduk. Wadah maserasi ditutup rapat tanpa terkena sinar matahari langsung dan setelah 5 hari, ekstrak disaring dan ampasnya ditambah diekstraksi kembali dengan heksan yang baru. Ekstrak dikumpulkan lalu dijernihkan dari ampas dengan menggunakan vakum Buchner kemudian diuapkan dengan menggunakan alat rotavapor hingga diperoleh ekstrak sebanyak 10 gram.

### **III.4 Pembuatan Larutan Koloidal Na-CMC 1% b/v (8)**

Sebanyak 1 gram Na-CMC digerus dalam lumpang, ditambahkan sedikit demi sedikit air suling yang telah dipanaskan pada suhu 70°C sambil digerus hingga terbentuk larutan koloidal. Setelah itu, volume larutan dicukupkan hingga 100 ml dengan air suling.

### **III.5 Pembuatan Suspensi Ekstrak Heksan Kulit Buah Manggis**

Suspensi ekstrak heksan dibuat dengan menggunakan pendispersi larutan koloidal Na-CMC 1% b/v dalam beberapa konsentrasi yaitu 1 %b/v, 1,5 %b/v, dan 2 %b/v. Untuk membuat suspensi dengan konsentrasi 1 %b/v, 1 g ekstrak heksan 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 sama dengan jumlah ekstrak masing-masing 1,5 g dan 2 g.

### **III.6 Pengujian Aktivitas IgG Pada Hewan Uji**

#### **III.6.1 Pembuatan Suspensi Sel Darah Merah Domba (SDMD) 2% (10)**

Sebanyak 5 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 2% v/v.

#### **III.6.2 Pembuatan Phosphat Buffered Saline (PBS) (11)**

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 hingga diperoleh PBS dengan pH 7,2.

#### **III.6.3 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.6.4 Uji Aktivitas IgG Awal**

Sebelum diimunisasi, semua kelinci diambil darahnya melalui vena telinga sebanyak 1 ml, dimasukkan dalam tabung steril dan diletakkan dalam suhu kamar selama 1-2 jam, lalu disentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Setelah itu, diencerkan dengan cara "double dilution" menggunakan Phosphat Buffered Saline. Sumur mikrotiter diisi dengan PBS sebanyak 50  $\mu$ l kecuali pada pengenceran  $\frac{1}{4}$  diisi PBS sebanyak 75  $\mu$ l dan serum 25  $\mu$ l, dihomogenkan. Dari pengenceran  $\frac{1}{4}$  dipipet 50  $\mu$ l ke dalam pengenceran  $\frac{1}{8}$  yang telah diisi PBS sebanyak 50  $\mu$ l, dihomogenkan. Demikian seterusnya hingga pengenceran  $\frac{1}{512}$ . Pada pengenceran  $\frac{1}{512}$  dipipet sebanyak 50  $\mu$ l dan dibuang. Pada tiap pengenceran ditambahkan 50  $\mu$ l suspensi SDMD 2% v/v.

#### **III.6.5 Perlakuan Terhadap Hewan Uji**

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

#### **III.6.6 Pengambilan Sampel Darah Hewan Uji**

Sampel darah hewan uji diambil melalui vena telinga pada hari kesepuluh, dimasukkan dalam tabung steril 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.6.7 Uji Hemaglutinasi (10)**

Serum yang diperoleh lalu diencerkan secara "double dilution" dengan Phospat Bufferred Saline. dengan perbandingan  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{8}$ ,  $\frac{1}{16}$ ,  $\frac{1}{32}$ ,  $\frac{1}{64}$ ,  $\frac{1}{128}$ ,  $\frac{1}{256}$ , dan  $\frac{1}{512}$ . Sumur mikrotiter diisi dengan PBS sebanyak 50  $\mu$ l kecuali pada pengenceran  $\frac{1}{4}$  diisi PBS sebanyak 75  $\mu$ l dan serum 25  $\mu$ l, dihomogenkan. Dari pengenceran  $\frac{1}{4}$  dipipet 50  $\mu$ l ke dalam pengenceran  $\frac{1}{8}$  yang telah diisi PBS sebanyak 50  $\mu$ l, dihomogenkan. Demikian seterusnya hingga pengenceran  $\frac{1}{512}$ . Pada pengenceran  $\frac{1}{512}$  dipipet sebanyak 50  $\mu$ l dan dibuang. Sumur mikrotiter digoyang-goyang selama 5 menit. Selanjutnya diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 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.7 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.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### IV.1 Hasil Penelitian

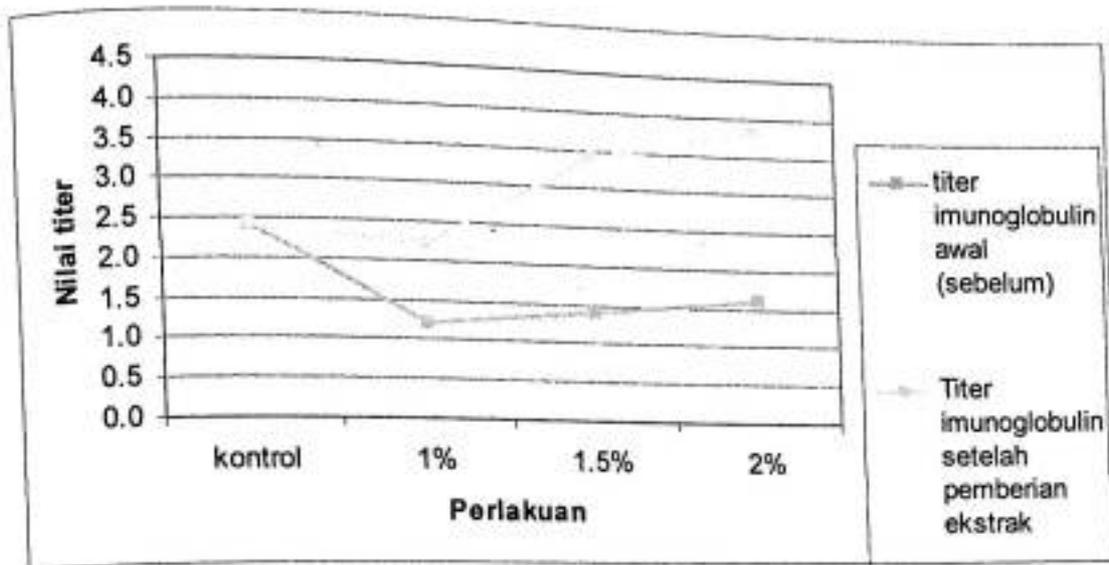
Data Uji aktivitas immunoglobulin G (IgG) setelah pemberian ekstrak heksan kulit buah manggis (*Garcinia mangostana*) 1%, 1,5%, dan 2% berdasarkan titer immunoglobulin G (IgG) pada kelinci jantan 10 hari setelah diberikan SDMD 2%v/v adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Data uji aktivitas titer immunoglobulin G (IgG) awal

Kelompok Hewan	Replikasi		
	1	2	3
Hewan 1	1/64	1/32	1/64
Hewan 2	1/32	1/8	1/8
Hewan 3	1/16	1/16	1/16
Hewan 4	1/32	1/8	1/32

Tabel 2. Data Uji aktivitas titer immunoglobulin G (IgG) setelah pemberian ekstrak heksan kulit buah manggis (*Garcinia mangostana*)

Perlakuan	Replikasi		
	1	2	3
Kontrol	1/64	1/32	1/64
1%	1/64	1/32	1/32
1,5%	1/256	1/128	1/128
2%	1/256	1/256	1/256



Gambar 4. Grafik rata-rata titer imunoglobulin G (IgG) dalam serum kelinci sebelum dan setelah pemberian ekstrak.

#### IV. 2 Pembahasan

Masuknya suatu bahan yang dapat merangsang sistem imun yang biasa disebut antigen akan merangsang produksi antibodi dan bereaksi dengan antigen tersebut. Salah satu Antigen yang digunakan untuk induksi produksi antibodi adalah suspensi sel darah merah domba (SDMD), yang diinjeksikan ke tubuh kelinci yang dilanjutkan dengan pemberian sampel ekstrak heksan *Garcinia Fructus Corteks* hingga hari ke 10 setelah pemberian suspensi sel darah merah domba (SDMD), dengan asumsi bahwa selama selang waktu tersebut diharap telah terjadi sensitasi terhadap sel B sehingga membentuk sel plasma dan sel memori yang akan berdiferensiasi membentuk antibodi. Pada hari kesepuluh setelah penginjeksian, darah kelinci diambil melalui telinga. Darah kelinci diambil pada hari kesepuluh karena IgG mencapai puncak pada hari 10-14 setelah pemaparan antigen.

Pengukuran pada serum darah kelinci dilakukan dengan menambahkan antigen yang sama yaitu sel darah merah domba. Infeksi berulang memfungsikan sel memori yang mengenali antigen sebagai suatu antigen asing dan segera ditangkap oleh antibodi. Interaksi antara antigen dan antibodi ini menyebabkan aglutinasi sebab antigen merupakan partikel-partikel kecil yang merupakan bahan tidak larut (12). Gumpalan yang terbentuk antara antigen dan anti serum 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 (11).

Pencampuran serum dengan antigen dibuat dalam pelarut PBS (NaCl dalam buffer fosfat) dan memerlukan pengadukan (shaker) serta inkubasi selama 1 jam sebelum dibiarkan selama 1 x 24 jam pada suhu kamar. Hal ini dilakukan karena 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 sentrifuge). Selain itu, terbentuknya gumpalan memerlukan garam-garam yang berasal dari PBS yang digunakan (11).

Hasil pengamatan pada tabel 1 tidak menunjukkan terjadinya peningkatan aktivitas imunoglobulin G (IgG) secara signifikan. Hal ini dapat dilihat pada perlakuan 1, 2, dan 3 rata-rata titer imunoglobulinnya masing-

masing sebesar 1/16, 1/16, dan 1/24 yang sangat rendah bila dibandingkan dengan rata-rata titer imunoglobulin perlakuan kontrol sebesar 1/53,33. Hasil pengamatan pada tabel 2 menunjukkan tidak terjadinya peningkatan aktivitas imunoglobulin G (IgG) pada perlakuan kontrol dan pemberian ekstrak heksan 1%, dengan rata-rata titer imunoglobulinnya masing-masing sebesar 1/53,33 dengan 1/42,67. sedangkan pada perlakuan dengan pemberian ekstrak heksan 1,5% dan 2% menunjukkan terjadinya peningkatan aktivitas imunoglobulin G (IgG) dengan rata-rata titer imunoglobulinnya sebesar 1/170,67, dan 1/256. Tingginya titer imunoglobulin ini diduga disebabkan karena respon imun sangat ditentukan oleh kesetimbangan jumlah antigen dan antibodi. Apabila jumlah dari antigen atau antibodi tidak seimbang (salah satu diantaranya berlebihan) maka pembentukan antibodi akan terganggu (12).

Berdasarkan analisis statistika dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) memperlihatkan bahwa pemberian ekstrak heksan kulit buah manggis (*Garcinia mangostana*) memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap peningkatan aktivitas Imunoglobulin G (IgG), yang dapat dilihat dari nilai F hitung yang lebih besar dari F tabel pada taraf 1% dan 5%, maka dilakukan uji lanjutan. Dari perhitungan koefisien keragaman diperoleh hasil 9,52% yang lebih kecil dari 10%, maka uji lanjutan yang digunakan yaitu BNT (Uji beda nyata terkecil)

Hasil perhitungan statistik antar perlakuan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) antara perlakuan kontrol negatif dan kelompok

perlakuan dengan pemberian ekstrak heksan kulit buah manggis (*Garcinia mangostana*) menunjukkan perbedaan yang tidak nyata antara kontrol negatif (Na-CMC) dengan ekstrak 1%, sedangkan antara kontrol negatif (Na-CMC) dengan ekstrak 1,5% dan 2% menunjukkan perbedaan yang sangat nyata. Antara ekstrak 1% dengan 1,5% menunjukkan perbedaan sangat nyata dan antara ekstrak 1% dengan 2% menunjukkan perbedaan tidak nyata. Hal ini berarti terjadi peningkatan aktivitas Imunoglobulin G (IgG) pada konsentrasi ekstrak 1,5%. Dari hasil perhitungan statistik, Setelah pemberian ekstrak heksan dengan konsentrasi 1%, 1,5%, dan 2% kadar imunoglobulin kelinci meningkat dengan nyata, bila dibandingkan dengan kadar imunoglobulin G (IgG) kelinci sebelum pemberian ekstrak yang dapat diamati pada gambar 4.

Hasil yang diperoleh ini memberikan informasi bahwa kandungan senyawa yang ada dalam kulit buah manggis ekstrak heksan 1,5% baik dalam meningkatkan sistem imun tubuh (IgG). Hal ini juga didukung beberapa penelitian yang dilakukan oleh Habibi dan Nirwana dengan menggunakan ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) 0,125%, 0,25%, 0,5%, 1,0%, dan 2% b/v dan ekstrak metanol batang Kinca (*Feronia elephantum* Corr) 0,1%, 0,3%, dan 0,5% b/v, dimana semakin tinggi konsentrasi yang digunakan, semakin baik aktivitas imunoglobulin yang didapatkan. Peningkatan konsentrasi tidak selamanya diikuti dengan peningkatan aktivitas imunoglobulin, hal ini dapat terlihat pada penelitian yang dilakukan Habibi menggunakan ekstrak etanol daun mimba

(*Azadirachta indica* A. Juss) 0,125%, 0,25%, 0,5%, 1,0%, dan 2% b/v dimana pada konsentrasi 0,125% hingga konsentrasi 1% meningkatkan aktivitas imunoglobulin tetapi pada konsentrasi 2% tidak meningkatkan aktivitas imunoglobulin bila dibandingkan dengan kontrol. Hal ini disebabkan kandungan zat berkhasiat yang ada dalam jumlah sedikit dapat berefek sinergis dengan zat berkhasiat lainnya dalam ekstrak tetapi dalam jumlah banyak dapat bersifat berlawanan dengan zat berkhasiat lainnya sehingga aktivitasnya berkurang, sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Winarno dan kawan-kawan menggunakan infus benalu teh (*Scurulla atropurpurea* Bl. Dauser) dengan beberapa konsentrasi ternyata tidak meningkatkan aktivitas imunoglobuli. Beberapa penelitian juga membuktikan bahwa kandungan dalam kulit buah manggis dapat digunakan sebagai antioksidan, antibakteri, antikanker, dan dapat menghambat pertumbuhan sel-sel leukemia.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data secara statistika, maka disimpulkan bahwa ekstrak heksan kulit buah manggis (*Garcinia mangostana*) konsentrasi 1% b/v tidak meningkatkan aktivitas imunoglobulin G (IgG) pada kelinci jantan, sedangkan kosentrasi 1,5% b/v dan 2% b/v dapat meningkatkan aktivitas imunoglobulin G (IgG).

#### V.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian yang lebih spesifik untuk menentukan peningkatan jumlah imunoglobulin G (IgG) dengan menggunakan ekstrak heksan kulit buah manggis (*Garcinia mangostana*) 1,5% b/v.

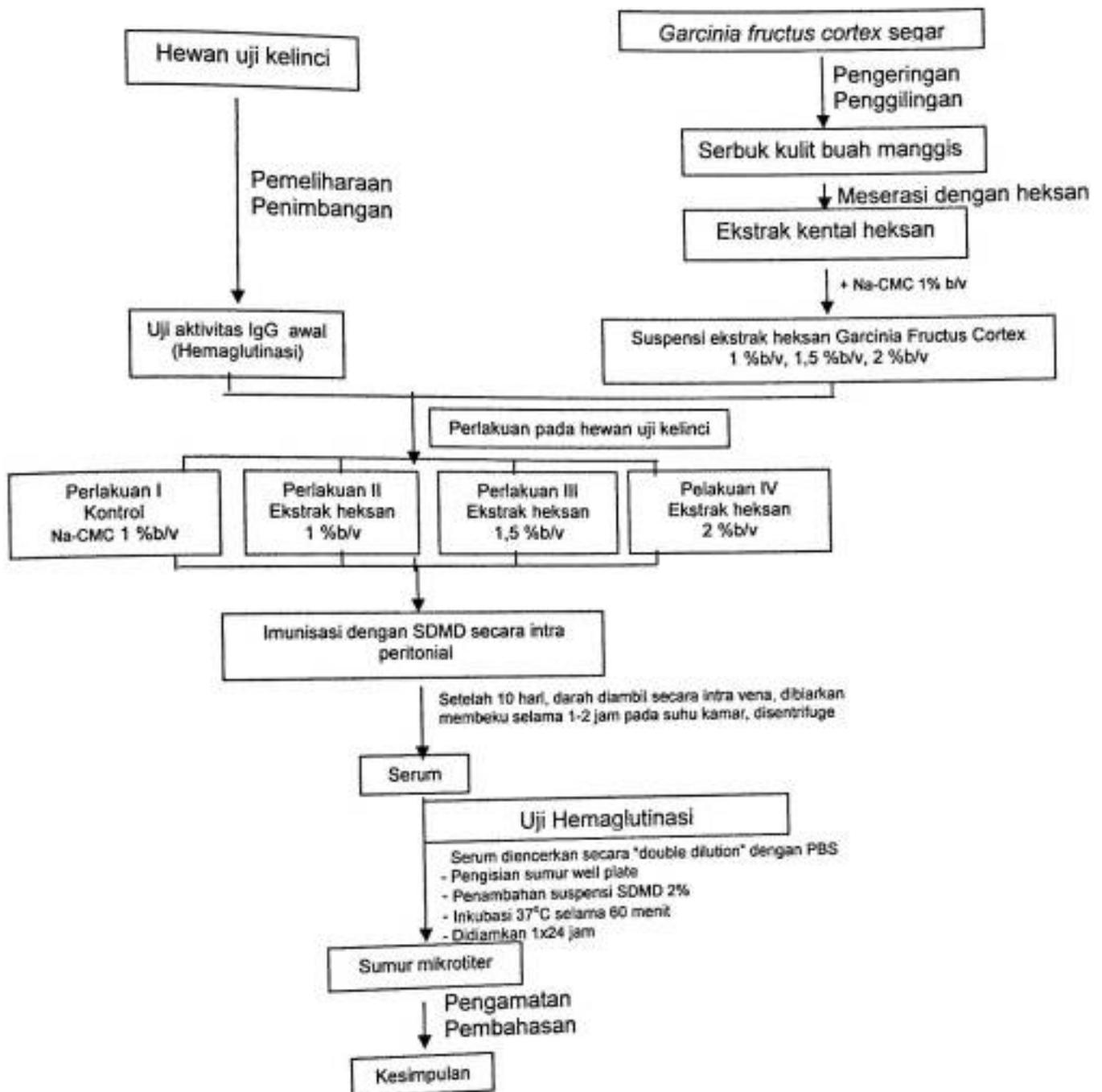
## DAFTAR PUSTAKA

1. Price, S.A., dan Wilson, L.M., 1995. *Patofisiologi Konsep-Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Terjemahan oleh Wijaya, C. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 8.
2. Bellanti, A. J., 1985. *Imunologi*. Terjemahan oleh Samik Wahab. 1993. Gajah Mada University Press. 105-107.
3. Firdayani, Pengembangan Formula Anti Asam Urat dan Antikolesterol Dari Ekstrak Tanaman Obat. *Jurnal. Saint dan Teknologi BPPT. Vol VII. IIA. 03.* 56-60
4. Kartasapoetra, G., 2004. *Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat*. Rineka Cipta. Jakarta. 1
5. Rukmana, R., 1994. *Budidaya Manggis*. Kanisius. Jakarta. 1,14.
6. Jung, H.A., 2006. Antioksidant Xanthones From Pericarp of *Garcinia mangostana* (Mangosteen). *J. Agric Food Chem. Vol 6.* 2077-2082.
7. Moongkarndi, P., 2004. antiproliferation, antiooxidant and Induction of apoptosis by *Garcinia mangostana* (Mangosteen). *Jurnal of Ethonopharmacology. Vol. 90. No 1.* 161-166.
8. Parrot, E. L. 1979. *Pharmaceutical Technology Fundamental Pharmaceutics*. Burgess Publishing Company. 353
9. Direktorat Jenderal POM, 1986, *Sediaan Galenik*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, jakarta. 2,7, 10, 32.
10. Winarno, M. 2000. *Penelitian Aktivitas Biologik Infus Benalu Teh (*Scurulla tropurpurea* BL. Danser) Terhadap Aktivitas Sistem Imun Mencit.* <http://www.kalbefarma.com/files/odk/files/06> Diakses tanggal 20 Maret 2006
11. 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. 101, 150-152
12. Bratawidjaya, K., 2006. *Immunologi Dasar*. Edisi VII dan VI. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 6, 15, 16, 70.

13. Bellanti, J. A., 1993. *Imunologi*. Edisi III. Terjemahan oleh Wahab, S., Gadjah Mada University Press. 14, 15, 97
14. Roitt, I. 1994. *Essential Immunology*, Eight edition. Black Well Scientific Publication. London, 43, 51
15. Heyne, K., 1987, *Tanaman Berguna Indonesia*, Jilid II, Cetakan pertama, Badan Litbang, Departemen Kehutanan, Jakarta, 1385-1386
16. Steenis, C.G.G.J Van, 1987, *Flora*, Cetakan ke 4, PT Pradnya Paramita, Jakarta, 306
17. Dit Jen POM. 1989. *Materia Medika Indonesia*, jilid V. Dep Kes RI. Jakarta. 221-225
18. Sastroamidjojo, S., 1988. *Obat Asli Indonesia*. Dian Rakyat. Jakarta. 370
19. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, 1979, *Farmakope Indonesia*, Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta. 9,378,401,602,645.
20. Rantam, F.A., 2003. *Metode Imunologi*. Airlangga University Press. Surabaya. 3, 4, 8
21. Kresno, S., 1996, *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*, Edisi ketiga, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta. 4, 11, 26-29, 35, 273
22. Clancy, J., 2000. *Basic Concept in Immunology*. McGraw-Hill Companies, Singapore. 19, 26.
23. Strohi, W. A, Harriet R, Bruce D. F. 2001. *Microbiology*. Medical Publishing Division. New York. 80-81.
24. Rose, N., Milgrom, F., J. Van Oss, C. 1973. *Principle of Immunology*. Muacmilan Publishing Co. New York. 122, 125
25. Barrer, J. 1988. *Text Book of Immunology*, Fifth edition. C.V Mosby Company. 26
26. Darmono, 2000. *Subklas Immunoglobulin dan Aktifasinya*. <http://Salmonellosis/Kidhealth.org>. Diakses tanggal 10 September 2007

27. Nirwana. 2006. Uji efek ekstrak metanol batang Kinca (*Feronia elephantum* Corr terhadap aktifitas imunoglobulin G (IgG) mencit jantan (*Mus musculus*). Skripsi , Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin. Makassar.
28. Habibi. 2006. Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) Terhadap Aktivitas Imunoglobulin M (IgM) Mencit Jantan (*Mus musculus*). Skripsi. Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin. Makassar.
29. Winarno, W., Sundari, D., Nuratmi, B., 2000. Penelitian Aktivitas Biologik Infus Benalu Teh (*Scurulla atropurpurea* Bl. Dauser) Terhadap Aktivitas sistem Imun Mencit. *Cermin Kedokteran* No. 127. [www.kalbe.co.id/files/](http://www.kalbe.co.id/files/), diakses 4 Desember 2007.

LAMPIRAN 1  
SKEMA KERJA AKTIVITAS IgG



## LAMPIRAN 2

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

Tabel 3. Data titer imunoglobulin G (IgG) setelah ditransformasi dengan :  $2 \log(\text{titer}) + 1$

Kelompok Hewan	Replikasi			Jumlah	Rata-Rata
	1	2	3		
Hewan 1	2,61	2,01	2,61	7,23	2,41
Hewan 2	2,01	0,81	0,81	3,63	1,21
Hewan 3	1,41	1,41	1,41	4,23	1,41
Hewan 4	2,01	0,81	2,01	4,83	1,61
Jumlah	8,04	5,04	6,84	19,92	1,66

#### Analisis Sidik Ragam (ASR)

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

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

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

$$1. FK = \frac{T_{ij}^2}{r.t} = \frac{19,92^2}{3.4} = \frac{396,81}{12} = 33,07$$

$$\begin{aligned} 2. JKT &= T(Y_{ij}^2) - FK \\ &= (2,61^2 + 2,01^2 + \dots + 2,01^2) - 33,07 \\ &= 37,72 - 33,07 \\ &= 4,65 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \text{JKP} &= \frac{TP^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(7,23^2 + 3,63^2 + \dots + 4,83^2)}{3} - 33,07 \\
 &= 35,56 - 33,07 \\
 &= 2,49
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{JKG} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\
 &= 4,65 - 2,49 \\
 &= 2,16
 \end{aligned}$$

**C. Perhitungan Kuadrat Tengah (KT)**

$$1. \text{KTP} = \frac{\text{JKP}}{\text{DbP}} = \frac{2,49}{3} = 0,83$$

$$2. \text{KTG} = \frac{\text{JKG}}{\text{DbG}} = \frac{2,16}{8} = 0,27$$

**D. Perhitungan Distribusi F (Fh)**

$$\text{FhP} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTG}} = \frac{0,83}{0,27} = 3,07$$

Tabel 4. 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	2,49	0,83	3,07 <sup>ns</sup>	4,07	7,59
Galat (G)	8	2,16	0,27			
Total (T)	11					

Keterangan : (<sup>ns</sup>) Tidak ada perbedaan kadar imunoglobulin G (IgG) awal dari keempat kelinci.

**2. ANALISIS STATISTIKA RASIO AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN G (IgG) SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK HEKSAN 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 :  
 $2 \log(\text{titer}) + 1$

Perlakuan	Replikasi			Jumlah	Rata-Rata
	1	2	3		
Kontrol	2,61	2,01	2,61	7,23	2,41
1%	2,61	2,01	2,01	6,63	2,21
1,5%	3,83	3,21	3,21	10,24	3,41
2%	3,82	3,82	3,82	11,48	3,82
Jumlah	12,87	11,05	11,63	35,58	2,97

**Analisis Sidik Ragam (ASR)**

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

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

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

$$1. FK = \frac{T_{ij}^2}{r.t} = \frac{35,58^2}{3.4} = \frac{1.265,94}{12} = 105,49$$

$$\begin{aligned}
 2. JKT &= T(Y_{ij}^2) - FK \\
 &= (2,61^2 + 2,01^2 + \dots + 3,82^2) - 105,49 \\
 &= 111,61 - 105,49 \\
 &= 6,12
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JKP} &= \frac{TP^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(7,23^2 + 6,63^2 + \dots + 11,48^2)}{3} - 105,49 \\
 &= 110,96 - 105,49 \\
 &= 5,47 \\
 4. \text{ JKG} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\
 &= 6,12 - 5,47 \\
 &= 0,65
 \end{aligned}$$

### C. Perhitungan Kuadrat Tengah (KT)

$$\begin{aligned}
 1. \text{ KTP} &= \frac{JKP}{DbP} = \frac{5,47}{3} = 1,82 \\
 2. \text{ KTG} &= \frac{JKG}{DbG} = \frac{0,65}{8} = 0,08
 \end{aligned}$$

### D. Perhitungan Distribusi F (Fh)

$$\text{FhP} = \frac{KTP}{KTG} = \frac{1,82}{0,08} = 22,75$$

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	5,47	1,82	22,75**	4,07	7,59
Galat (G)	8	0,65	0,08			
Total (T)	11					

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

### E. Koefisien Keragaman (KK)

$$\begin{aligned} \text{KK} &= \sqrt{KTG} / \text{rata-rata} \times 100\% \\ &= \sqrt{0,08} / 2,97 \times 100\% \\ &= 9,52\% \end{aligned}$$

Kesimpulan : Dengan nilai KK sebesar (9,52%) maka analisis statistik dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

### Analisis Lanjutan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

KTG = 0,08, v = 8, r = 3,  $t_{0,05(8)} = 2,306$ ,  $t_{0,01(8)} = 3,355$  sehingga :

$$S_d = \sqrt{\frac{2KTG}{r}} = \sqrt{\frac{2(0,08)}{3}} = 0,23$$

$$\begin{aligned} \text{BNT}_{0,05} &= 2,306 \times 0,23 \\ &= 0,53 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT}_{0,01} &= 3,355 \times 0,23 \\ &= 0,77 \end{aligned}$$

Tabel 7. Hasil analisis lanjutan untuk  $\text{BNT}_{0,05} (=0,53)$  dan  $\text{BNT}_{0,01} (=0,77)$

Perlakuan	Rata-rata	P <sub>0</sub>	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>
P <sub>0</sub>	2,41	-	-	-	-
P <sub>1</sub>	2,21	0,2 <sup>ns</sup>	-	-	-
P <sub>2</sub>	3,41	1 <sup>ss</sup>	1,2 <sup>ss</sup>	-	-
P <sub>3</sub>	3,82	1,41 <sup>ss</sup>	1,61 <sup>ss</sup>	0,41 <sup>ns</sup>	-

Keterangan : P<sub>0</sub> = Kontrol negatif (Na-CMC)  
P<sub>1</sub> = Ekstrak heksan kulit buah manggis 1%  
P<sub>2</sub> = Ekstrak heksan kulit buah manggis 1,5%  
P<sub>3</sub> = Ekstrak heksan kulit buah manggis 2%  
ss = Sangat signifikan  
ns = Non Signifikan

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

Tabel 6. Data titer imunoglobulin G (IgG) setelah ditransformasi dengan :  $2 \log(\text{titer}) + 1$

Hewan Coba	Perlakuan		Jumlah
	Awal	Ekstrak	
1	2,41	2,41	4,82
2	1,21	2,21	3,42
3	1,41	3,41	4,82
4	1,61	3,82	5,43
Jumlah	6,64	11,85	18,49

**Analisis Sidik Ragam (ASR)**

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

1.  $DbT = (r.t) - 1 = (2.4) - 1 = 7$
2.  $DbP = t - 1 = 2 - 1 = 1$
3.  $DbG = DbT - DbP = 7 - 1 = 6$

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

$$1. FK = \frac{T_{ij}^2}{r.t} = \frac{18,49^2}{2.4} = \frac{341,88}{8} = 42,47$$

$$\begin{aligned}
 2. JKT &= T(Y_{ij}^2) - FK \\
 &= (2,41^2 + 1,21^2 + \dots + 3,82^2) - 42,47 \\
 &= 48,77 - 42,47 \\
 &= 6,03
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JKP} &= \frac{TP^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(6,64^2 + 11,82^2)}{4} - 42,74 \\
 &= 45,95 - 42,74 \\
 &= 3,21 \\
 4. \text{ JKG} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\
 &= 6,03 - 3,21 \\
 &= 2,82
 \end{aligned}$$

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

$$\begin{aligned}
 1. \text{ KTP} &= \frac{JKP}{DbP} = \frac{3,21}{1} = 3,21 \\
 2. \text{ KTG} &= \frac{JKG}{DbG} = \frac{2,82}{6} = 0,47
 \end{aligned}$$

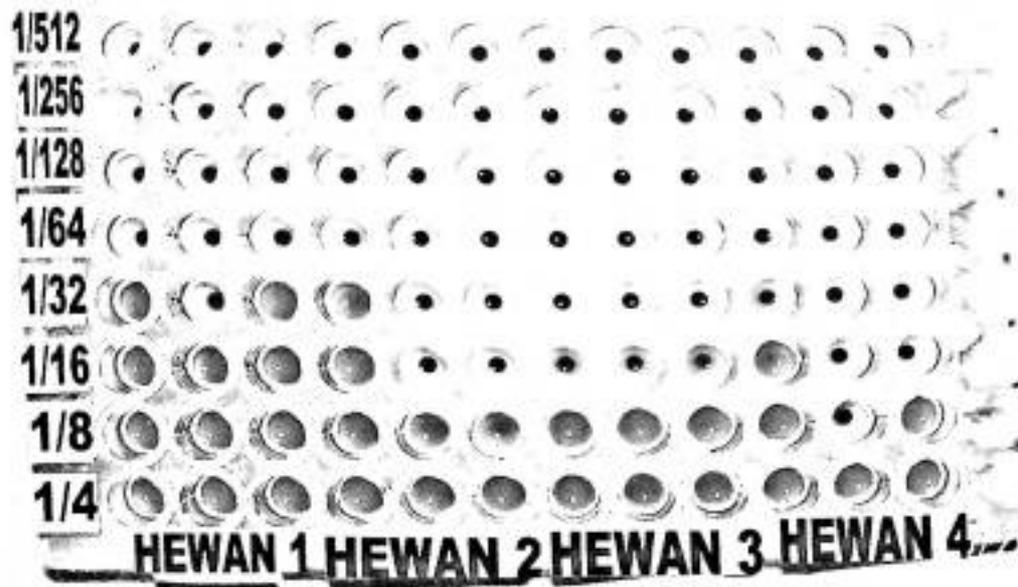
**E. Perhitungan Distribusi F (Fh)**

$$\text{FhP} = \frac{KTP}{KTG} = \frac{3,21}{0,47} = 6,83$$

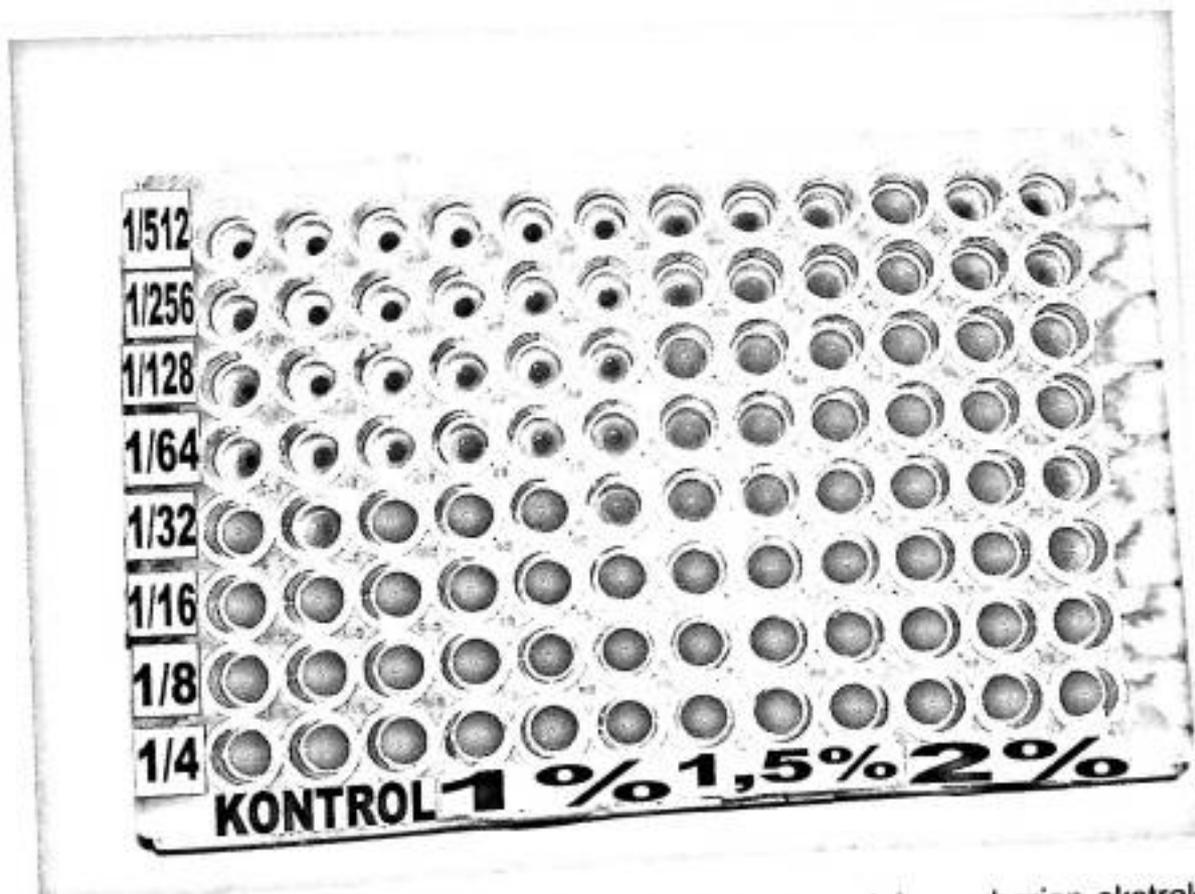
Tabel 6. Hasil Analisis Sidik Ragam (ASR) Perlakuan Terhadap Rasio perubahan aktivitas Imunoglobulin G (IgG)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Fh	Ft	
					5%	1%
Perlakuan (P)	1	3,21	3,21	6,83*	5,99	13,74
Galat (G)	6	2,82	0,47			
Total (T)	7					

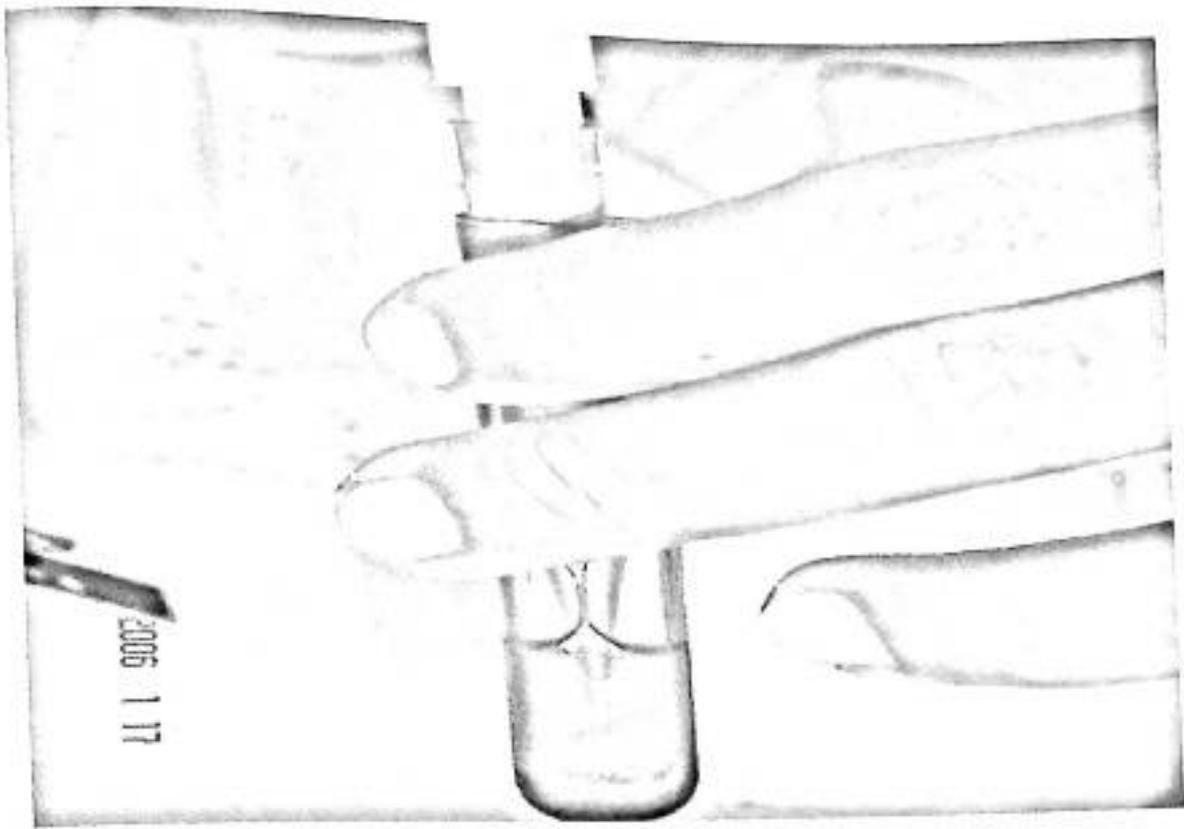
Keterangan : ( <sup>\*</sup> ) Berbeda nyata, ada perbedaan kadar imunoglobulin kelinci sebelum dan setelah pemberian ekstrak.



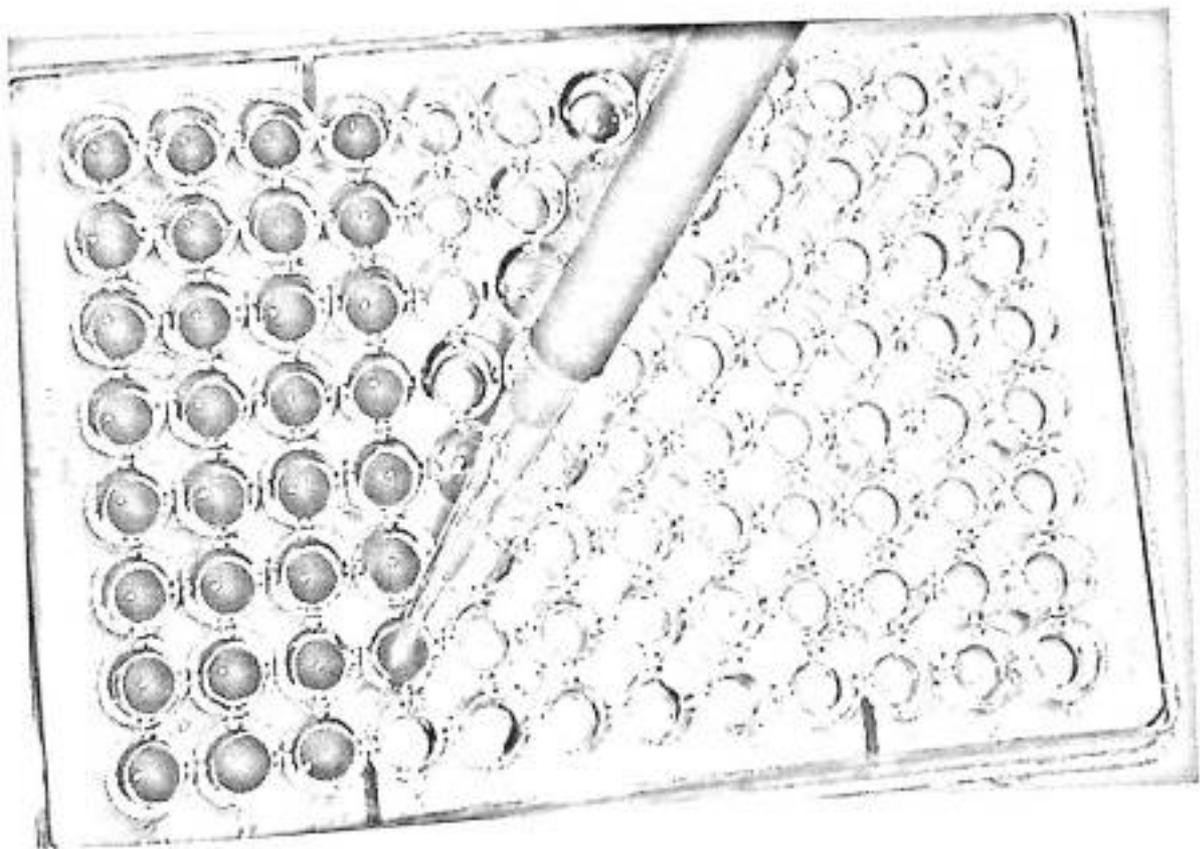
Gambar 5 : Foto data titer Imunoglobulin G (IgG) awal (sebelum pemberian ekstrak heksan kulit buah manggis) pada sumur mikrotiter



Gambar 5 : Foto data titer Imunoglobulin G (IgG) setelah pemberian ekstrak heksan kulit buah manggis pada sumur mikrotiter



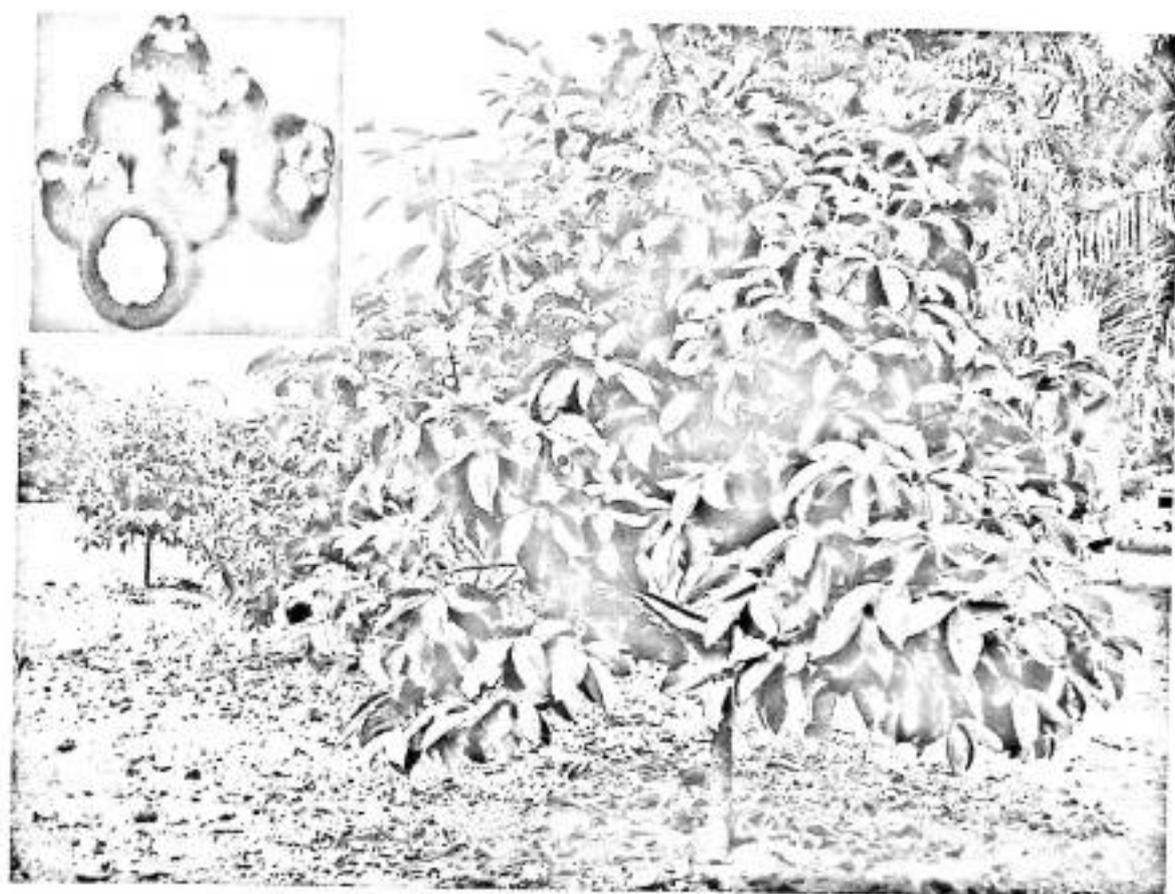
Gambar 7 . Foto Pencucian Sel Darah Merah Domba (SDM)



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



Gambar 9. Foto Domba sumber antigen sel darah merah domba (SDMD)



Gambar 10. Tanaman Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.)