

**Uji Aktivitas Immunoglobulin G (IgG) Mencit Jantan
(*Mus musculus*) Akibat Pengaruh Pemberian
Minyak Kelapa Murni (Virgin Coconut Oil)
Hasil Fermentasi**

**FARID
H511 01 051**



**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2007**



**Uji Aktivitas Immunoglobulin G (IgG) Mencit Jantan
(*Mus musculus*) Akibat Pengaruh Pemberian
Minyak Kelapa Murni (Virgin Coconut Oil)
Hasil Fermentasi**

SKRIPSI

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

**FARID
H511 01 051**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2007**

Uji Aktivitas Immunoglobulin G (IgG) Mencit Jantan
Akibat Pengaruh Pemberian Minyak Kelapa Murni (Virgin Coconut Oil)
Hasil Fermentasi

FARID

H511 01 051

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,



Dr. rer-nat Marianti A. Manggau
NIP. 130 446 089

Pembimbing Pertama,



Dr. M. Natsir Djide, MS
NIP. 130 369543

Pada tanggal

2007

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang uji aktivitas imunoglobulin G (IgG) mencit jantan (*Mus musculus*). Penelitian ini bertujuan untuk memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh minyak kelapa murni hasil fermentasi terhadap aktivitas IgG mencit jantan dengan menggunakan metode hemaglutinasi. Secara prinsip, metode ini mengevaluasi peningkatan kadar IgG dalam serum hewan coba yang telah diberi sampel dan antigen penginduksi (sel darah merah domba ; SDMD) dimana parameter yang digunakan adalah terjadinya aglutinasi (bentuk interaksi antigen-antibodi) pada pemaparan serum dengan antigen yang sama pada hari kesepuluh setelah penginduksian. Nilai titer yang digunakan pada uji hemaglutinasi adalah nilai pengenceran tertinggi serum mencit yang masih menunjukkan reaksi aglutinasi. Berdasarkan hasil analisis statistika dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan Analisis Sidik Ragam (ASR) serta analisis lanjutan dengan metode uji Beda Nyata Jarak Duncan (BNJD) memperlihatkan bahwa pemberian minyak kelapa murni dengan konsentrasi 7,8%, 15,6% dan 31,2% secara oral meningkatkan respon sistem imun dengan meningkatkan titer antibodi imunoglobulin G (IgG) terhadap SDMD.

Kata kunci : Minyak Kelapa Murni, Imunoglobulin G (IgG), Hemaglutinasi

ABSTRACT

A research about immunoglobulin activity of male mice (*Mus musculus*) had been conducted. The research was aimed to get scientific information about effect of VCO (*Virgin Coconut Oil*) as fermentative product to immunoglobulin G (IgG) activity of mice by hemagglutination method. Principally, this method evaluate the increase of the IgG quantity in mice serum, that had been given VCO and inductor-antigen (Sheep's Red Blood Cell). Parameter that was used is agglutination development (interact of antigen-antibody form) in the attached with same antigen on 10 days after induction was hold. Titer value that used in the hemagglutination test was the highest dilution value of mice serum in which agglutination was showed. Acording to statistical analysis result using the Complete Random Device (CRD) method and than continued with the Duncan's Multiple Range Test (DMRT) method, showed that the administration by oral of Virgin Coconut Oil at concentration 7,8%, 15,6% and 31,2% v/v increased imun system respons by increased the antibody titer of Immunoglobulin G (IgG) afford to Sheep's Red Blood Cell .

Key words : Virgin Coconut Oil ,Immunoglobulin G (IgG), Hemagglutination

UCAPAN TERIMA KASIH

Syukur Alhamdulillah kehadiran Allah SWT, dengan segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

Banyak kendala yang ditemui penulis dalam penyelesaian skripsi ini, mulai dari awal penelitian hingga akhir penyusunan skripsi ini, namun berkat bantuan dan keikutsertaan dari berbagai pihak semua kendala tersebut dapat dilalui. Oleh karena itu, penulis ingin menghaturkan terima kasih yang sebanyak-banyaknya kepada :

1. Ibu Dr. rer-nat. Marianti A. Manggau, Bapak Dr. M. Natsir Djide, MS dan Bapak Drs. H. Fachruddin Tobo (Almarhum) selaku pembimbing yang dengan penuh kesabaran memberikan saran dan petunjuk, arahan dan bimbingan selama penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
2. Dekan Fakultas Farmasi UNHAS, Bapak dan Ibu Dosen atas pemberian ilmu dan bantuan yang sangat bermanfaat. Serta seluruh staf pegawai dan karyawan.
3. Sembah sujudku kepada ayahanda Drs. M Kasim Bandu dan Ibunda Herlina atas kasih sayang dan cinta kasih yang engkau berikan selama ini, atas perjuangan yang tidak sia-sia sampai skripsi ini tersusun, juga untuk semua saudara-saudaraku, yang selalu memberi dukungan tanpa henti baik moril maupun materil.
4. Rekan kerja yang kompak, Idrus dan Jemmi yang telah membantu memberikan tenaga dan pikiran selama pengerjaan penelitian ini.

5. Sahabat-sahabat terbaik, geng IQRA, Ulla, Abie, Icchang "jujur", Ippank, Akhmed, Agus"gagah", yang terus menerus mendorong, membantu dan memompa semangat penyusun selama tahun-tahun kebersamaan
6. Untuk kebersamaan dan kasih terindah dalam hidup penyusun, terima kasih kepada Hani B.S.D serta terima kasih pula pada sahabat penyusun Sunshine.
7. Teman-teman angkatan 2001 Farmasi, semoga kebersamaan kita dan persaudaraan kita menjadi kenangan sepanjang zaman.
8. Seluruh pihak lain yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini tidak sempurna adanya, karena keterbatasan kemampuan yang penulis miliki, namun semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat di bidang ilmu pengetahuan dan menambah pengetahuan kita akan kebesaran-Nya.

Makassar, 14 Februari 2007

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Uraian Tanaman kelapa	4
II.1.1 Klasifikasi	4
II.1.2 Morfologi	4
II.2 Uraian <i>Candida utilis</i>	5
II.1.1 Klasifikasi	5
II.1.2 Morfologi	5
II.3 Teori Minyak kelapa Murni	6
II.3.1 Definisi	6
II.3.2 Minyak kelapa Biasa dan Virgin Coconut Oil	6
II.3.3 Karakteristik Kandungan kimia	7
II.3.4 Keutamaan Minyak Kelapa Murni	8

II.3.5 Minyak Kelapa Murni dan Kesehatan	9
II.3.6 Teknik Produksi	10
II.4 Teori Sistem Imun Tubuh	13
II.4.1 Definisi	13
II.4.2 Klasifikasi Sistem Imun Tubuh	14
II.4.2.1 Respon Imun Nonspesifik	14
II.4.2.2 Respon Imun Spesifik	16
II.4.3 Antigen	17
II.4.4 Antibodi	18
II.4.4.1 Definisi Antibodi	18
II.4.4.2 Struktur Antibodi	19
II.4.4.3 Fungsi Antibodi	20
II.4.4.4 Klasifikasi Antibodi	21
II.4.5 Immunoglobulin G (IgG)	23
II.4.6 Immunokimia	25
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN	28
III.1 Alat dan Bahan	28
III.2 Metode Kerja	28
III.2.1 Penyiapan Alat	28
III.2.2 Pengambilan Bahan Penelitian	29
III.2.3 Pembuatan Santan	29
III.2.4 Pemisahan Krim dan Skim Santan	29
III.2.5 Pembuatan Medium	30

III.2.6 Peremajaan Khamir	30
III.2.7 Pembuatan Starter	31
III.2.8 Pembuatan Kultur Khamir	31
III.2.9 Perhitungan Jumlah Total Khamir Dalam Kultur Khamir	31
III.2.10 Pembuatan Minyak Kelapa Murni	31
III.2.11 Pembuatan suspensi Sel Darah Merah Domba (SDMD) dan Larutan PBS (<i>Phospat Buffered Saline</i>)	32
III.2.11.1 Penyiapan Suspensi SDMD 2%	32
III.2.11.2 Penyiapan Larutan PBS	32
III.2.12 Penyiapan Emulsi Minyak	33
III.2.13 Pemilihan dan Penyiapan Hewan Coba	34
III.2.13.1 Pemilihan Hewan Coba	34
III.2.13.2 Penyiapan Mencit	34
III.2.14 Perlakuan Terhadap Mencit	34
III.2.14.1 Kelompok kontrol	34
III.2.14.2 Kelompok Perlakuan	34
III.2.15 Pengambilan Sampel Darah mencit	35
III.2.16 Pengukuran konsentrasi imunoglobulin G (IgG)	36
III.2.17 Pengumpulan dan Analisis Data	36
III.2.18 Analisis Data	36
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	37
IV.1 Hasil Penelitian	37
IV.2 Pembahasan	38

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	43
V.1 Kesimpulan	43
V.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN-LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Data titer imunoglobulin G (IgG) pada sumur mikrotitrasi interpretasi hasil berdasarkan hemaglutinasi yang teramati	37
2. Titer imunoglobulin G (IgG) pada mencit jantan 10 hari setelah diberikan Sel Darah Merah Domba (SDMD) 2%	38
3. Data titer imunoglobulin G (IgG) setelah ditransformasi dengan $[2 \log (\text{titer})]+1$	47
4. Hasil analisis sidik ragam (ASR) perlakuan terhadap aktivitas Imunoglobulin G (IgG)	49
5. Nilai beda nyata jarak metode Duncan	50
6. Perbandingan antar perlakuan	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Histogram perbandingan aktivitas imunoglobulin G (IgG) tiap perlakuan	57
2. Grafik perbandingan aktivitas imunoglobulin G (IgG) tiap perlakuan	57
3. Buah kelapa	58
4. Proses pemerasan (ekstraksi) buah kelapa	59
5. Sari buah kelapa (Santan)	60
6. Sari buah kelapa yang telah mengalami pendiaman	60
7. Starter <i>Candida utilis</i>	61
8. "Virgin coconut oil" hasil fermentasi 12 jam khamir <i>Candida utilis</i>	62
9. Virgin Coconut Oil	63
10. Domba sumber antigen sel darah merah	64
11. Pencucian Sel Darah Merah Domba (SDMD)	64
12. Perlakuan pada sumur mikrotitrasi	65
13. Contoh hasil uji aktivitas imunoglobulin G (IgG)	66
14. Data titer Imunoglobulin G (IgG) pada sumur mikrotitrasi	66

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Pembuatan VCO secara fermentasi	53
2. Skema Kerja Uji Hemaglutinasi	54
3. Perhitungan berat jenis dan Perhitungan rendamen minyak kelapa murni hasil fermentasi	56
4. Perhitungan Statistika Data aktivitas imunoglobulin G (IgG) mencit jantan pada pemberian minyak kelapa murni hasil fermentasi (<i>Azadirachta indica</i> A. Juss) berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan Uji Beda Nyata Jarak Duncan (BNJD)	53

DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/singkatan	Arti
$\alpha, \delta, \xi, \gamma, \mu$	alpha, delta, epsilon, gamma, mu
Fab	<i>Fragmen antigen binding</i>
Fc	<i>Fragmen crystallizable</i>
Ig	Imunoglobulin
MCFA	<i>Medium Chain Fatty Acid</i>
MCT	<i>Medium Chain Triglycerida</i>
PBS	<i>Phosphat Buffer Saline</i> , NaCl dalam dapar fosfat
PDA	<i>Potato Dextrose Agar</i>
PGA	<i>Pulvis Gummi Arabicum</i>
RBD	<i>Refined</i> (pemurnian), <i>Bleaching</i> (Pemucatan), <i>Deodorized</i> (penghilangan bau)
SDMD	Sel Darah Merah Domba
TFA	<i>Trans Fatty Acid</i>
VCO	<i>Virgin Coconut Oil</i> , Minyak Kelapa Murni

BAB I PENDAHULUAN

Produk yang banyak menyita perhatian masyarakat Indonesia dan dunia, tetapi juga telah banyak dikonsumsi sebagai produk kesehatan adalah *Virgin Coconut Oil (VCO)*. Produk tersebut telah berkembang cukup pesat menjadi produk kesehatan yang secara empiris dan ilmiah telah terbukti mampu menyembuhkan berbagai macam penyakit. *Food and Drug Administration (FDA)*, bahkan telah memasukkan VCO dalam daftar makanan alami yang aman. VCO berada dalam daftar *Generally Regarded As safe (GRA)* eksklusif dari FDA, yang artinya secara umum dianggap aman. Hanya makanan yang telah melewati pengujian ketat dan memiliki riwayat penggunaan aman yang memenuhi syarat untuk masuk ke dalam daftar FDA (1).

Minyak kelapa umumnya dibagi ke dalam dua kategori utama yaitu minyak kelapa biasa (RBD oil ; *Refined, Bleached, Deodorized*) dan "*virgin coconut oil*" atau VCO (2). Minyak RBD oil yang diolah dari kelapa kopra melibatkan proses penyulingan dengan suhu tinggi dan penambahan bahan kimia tertentu (3). Enig, (dalam jurnal *The American College of Nutrition*), hanya menganjurkan *Virgin Coconut Oil* untuk kesehatan dan menghindari minyak kelapa biasa yang umumnya melewati proses hidrogenasi (4). Minyak terhidrogenasi jika dikonsumsi akan mengakibatkan peningkatan kadar kolesterol darah yang berpengaruh terhadap kesehatan. Pemanasan tinggi pada tahap pemurnian juga

menyebabkan penurunan kadar karoten dan tokoferol yang merupakan antioksidan alami, selain itu terjadinya oksidasi minyak membentuk asam lemak rantai pendek, aldehid dan keton akan memberikan bau tengik dan rasa getir yang tidak dikehendaki (3, 5).

Minyak kelapa murni dibuat dari kelapa segar tanpa pemanasan dan bahan kimia. Selain itu tidak melalui tahap pemurnian, pemucatan dan penghilang aroma. Komponen "*virgin coconut oil*" adalah asam lemak jenuh sekitar 90% dan asam lemak tak jenuh sekitar 10%. Asam lemak jenuh didominasi oleh asam laurat, termasuk asam lemak rantai menengah alias *medium chain fatty acid* (MCFA). MCFA yang terdapat dalam minyak kelapa murni mirip dengan lemak yang terdapat pada ASI (Air Susu Ibu) dan jumlahnya sekitar 52 persen (hampir setara dengan air susu ibu) serta mempunyai efek nutrisi yang sama, dimana ASI berperan dalam mendukung dan meningkatkan daya tahan tubuh (3, 6, 7, 8).

Teknik fermentasi adalah salah satu metode yang umum dilakukan dalam memproduksi VCO disamping metode basah. Metode ini menggunakan mikroba untuk memfermentasi santan menjadi minyak kelapa murni (6), dalam penelitian ini *Candida utilis*. Dari penelitian Sri M. (2006) VCO hasil metode fermentasi secara signifikan memberikan pengaruh peningkatan aktivitas imunoglobulin dibanding metode sentrifuge (9). Berdasarkan penelitian Evi S. (2005) bahwa khamir *Candida utilis* memiliki kemampuan yang besar dalam menghasilkan

minyak kelapa murni yang memenuhi standar baku sebagai bahan baku farmasi (10).

Menurut Soejobroto, minyak kelapa sebenarnya memiliki banyak kelebihan, asam lemak jenuh rantai sedangnya mudah dimetabolisir dan bersifat antimikroba (antivirus, antibakteri dan antijamur) dan dapat meningkatkan imun tubuh serta mudah diubah menjadi energi (5).

Sistem imun berhubungan dengan antibodi atau imunoglobulin yaitu molekul protein yang sebagian strukturnya mempunyai urutan asam amino khas yang memungkinkan interaksi sangat khusus dengan antigen yang sesuai (11). IgG salah satu jenis imunoglobulin (Ig) merupakan komponen utama imunoglobulin serum, IgG ditemukan antara lain dalam cairan cerebrospinal (CFS) dan juga urin serta ditemukan pula dalam darah dan peritoneal (12,13). IgG adalah antibodi utama yang melintasi plasenta dari ibu kepada janinnya selama kehamilan (14).

Informasi mengenai khasiat VCO meningkatkan imunitas tubuh sangat minim dilaporkan. Karena minyak kelapa dapat meningkatkan imun tubuh diduga VCO, dengan kandungan asam laurat yang tinggi, juga berefek menaikkan Imunoglobulin. Oleh karena itu telah dilakukan penelitian mengenai kemampuan minyak kelapa murni hasil fermentasi dalam peningkatan sistem imun dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian minyak kelapa murni (Virgin Coconut Oil) secara oral terhadap aktivitas imunoglobulin G (IgG) mencit jantan (*Mus musculus*) dengan metode hemaglutinasi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tanaman Kelapa (*Cocos nucifera* Linn)

II.1.1 Klasifikasi (15)

- Dunia : Plantae
- Divisi : Spermatophyta
- Sub divisi : Angiospermae
- Kelas : Monocotyledoneae
- Bangsa : Arecales
- Suku : Arecaceae
- Marga : *Cocos*
- Jenis : *Cocos nucifera* Linne.

II.1.2 Morfologi (15)

Tanaman kelapa merupakan tanaman palma yang tinggi besar dengan batang yang tidak bercabang, menebal dari pangkal dan dapat mencapai tinggi sampai 30 meter atau lebih. Daun waktu muda tunggal, kemudian robek-robek sehingga menjadi majemuk menyirip, tersusun sebagai rozat pada ujung batang. Bunga berkelamin tunggal, berumah satu tersusun dalam bunga majemuk campuran yang bagian-bagiannya berupa bulir dan waktu muda seluruh bunga majemuk itu diselubungi oleh suatu daun pelindung yang kaku tebal. Pada tiap bulir terdapat satu bunga betina pada bagian bawah, sedang selanjutnya seluruh tangkai bulir

penuh dengan bunga-bunga jantan. Buahnya buah batu dengan biji yang memiliki lembaga yang kecil dan endosperm yang besar.

II.2 Uraian khamir *Candida utilis*

II.2.1 Klasifikasi (16)

- Divisi : Thallophyta
Sub divisi : Fungi
Kelas : Ascomycetes
Sub kelas : Hemiascomycetidae
Bangsa : Endomycetales
Suku : Endomycetaceae
Marga : *Candida*
Jenis : *Candida utilis*.

II.2.2 Morfologi (17,18,19)

Sel-sel jamur *Candida sp* berbentuk bulat, lonjong atau bulat lonjong dengan ukuran $2-5\mu \times 3-6\mu$ sampai $2-5,5\mu \times 5-28,5\mu$. Berkembang biak dengan memperbanyak diri dengan spora yang tumbuh dengan tunas yang disebut blastospora. *Candida utilis* mudah tumbuh di dalam media Sabaroud yang membentuk koloni ragi dengan sifat-sifat khas yakni menonjol dari permukaan medium, permukaan koloni halus, licin, berwarna putih kekuningan dan berbau ragi.

II.3 Teori Minyak Kelapa Murni

II.3.1 Definisi

Minyak kelapa murni oleh *Codex Alimentarius* didefinisikan sebagai minyak dan lemak makan yang dihasilkan tanpa mengubah minyak, minyak diperoleh dengan hanya perlakuan mekanis dan pemakaian panas minimal. Minyak kelapa murni diekstraksi dengan berbagai metode yaitu pemasakan, fermentasi, pendinginan dan tekanan mekanis (sentrifugasi) (1, 3, 5).

II.3.2 Minyak Kelapa Biasa dan Virgin Coconut Oil

Minyak kelapa yang umum dijumpai di masyarakat adalah minyak kelapa komersial (RBD) yakni minyak kelapa dibuat dari kopra yang terlebih dahulu harus dimurnikan (*refined*), lalu diputihkan (*bleaching*) dan dihilangkan aromanya (*deodorized*). Pada tahap pemurnian, asam lemak jenuhnya sebagian besar terhidrogenasi membentuk asam lemak trans (3). Asam lemak trans adalah kategori lain dari lemak yang telah terbukti mempunyai pengaruh yang besar terhadap resiko penyakit jantung. Asam lemak ini meningkatkan konsentrasi LDL (*Low Density Lipoprotein*) dan menurunkan konsentrasi HDL (*High Density Lipoprotein*) dalam darah (5). Selain itu, pemanasan tinggi pada tahap pemurnian juga menyebabkan karoten dan tokoferol yang merupakan antioksidan alami kadarnya akan menurun. Hal ini akan berakibat pada terjadinya oksidasi minyak membentuk asam lemak rantai pendek, aldehid dan keton yang memberikan bau tengik dan rasa getir yang tidak dikehendaki (3,5).

"*Virgin coconut oil*" terbuat dari daging kelapa segar. Prosesnya semua dilakukan dalam suhu relatif rendah. Daging buah diperas santannya. Santan ini diproses lebih lanjut melalui pemanasan dengan suhu relatif rendah (kurang dari 120°C), fermentasi, pendinginan, penambahan enzim, tekanan mekanis atau sentrifugasi. Penambahan zat kimiawi anorganis dan pelarut kimia tidak dipakai serta pemakaian suhu tinggi berlebihan juga tidak diterapkan. Hasilnya berupa minyak kelapa murni yang rasanya lembut dan bau khas kelapa yang unik. Minyak ini apabila beku warnanya putih murni dan dalam keadaan cair tidak berwarna atau bening (7).

II.3.3 Karakteristik Kandungan Kimia

Karakteristik kandungan kimia minyak kelapa murni didukung oleh komponen trigliserida yang menyusunnya. Kebanyakan minyak tidak mengandung "medium chain fatty acid" (MCFA). Tetapi minyak kelapa unik karena mengandung sumber MCFA alami yang paling tinggi (5). Minyak kelapa murni mengandung sekitar 90% asam lemak jenuh ("*saturated fatty acid*"), sementara sisanya 10% merupakan asam lemak tak jenuh ("*unsaturated fatty acid*"), berupa oleat dan linoleat. Pada golongan asam lemak jenuh, asam laurat merupakan komponen utama (40-50%), diikuti oleh asam miristat (13-19%), dan asam palmitat (4-18%). Tingginya asam lemak jenuh yang dikandungnya menyebabkan minyak kelapa murni tahan terhadap proses ketengikan akibat oksidasi. Kandungan asam lemak rantai sedangnya (*Medium Chain Fatty Acid*)

sebesar 65,4%. Selain itu minyak kelapa murni juga mengandung sejumlah kecil senyawa tokoferol dan tokotrienol (1).

II.3.4 Keutamaan Minyak Kelapa Murni (2)

Hasil analisa dari berbagai jenis minyak goreng menunjukkan bahwa semua minyak sayur mengandung asam lemak tak jenuh majemuk rantai panjang (LCFA) dalam kadar tinggi (22-78%). Minyak safflower menduduki urutan yang paling atas dengan kadar LCFA 78%, disusul oleh minyak biji matahari (69%), dan seterusnya sampai pada minyak kelapa yang menduduki urutan paling bawah dengan kadar LCFA hanya 2% saja.

Sedangkan persentasi kandungan asam lemak tak jenuh tunggal (*mono-unsaturated fatty acids*=MUSFA) kadarnya cukup bervariasi dan kadar MUSFA yang paling rendah, sekali lagi, adalah minyak kelapa (6%), sedangkan minyak jenis lain berkisar dari 12% , minyak palm, sampai yang paling tinggi pada minyak zaitun (*olive oil*) 77%. Sedangkan pada minyak goreng yang diiklankan sebagai minyak goreng paling aman dan sehat dan sedang menjadi favorit oleh para konsumen adalah minyak canola mengandung 63%. Jika kedua jenis asam lemak tak jenuh rantai panjang, baik yang poli maupun mono, digabungkan menjadi satu, maka kadar LCFA minyak canola menjadi 93% (31 + 63%), sedangkan minyak zaitun adalah 86% (9 + 77%) dan minyak kelapa hanya 8% (2 + 6%).

Minyak atau lemak yang mengandung persentasi asam lemak tak jenuh rantai panjang (LCFA) dengan kadar tinggi, seperti canola (93%) adalah kurang baik untuk kesehatan. Karena bila untuk menggoreng

(*deep fried* atau dipanaskan), disamping akan mengalami polimerisasi (penggumpalan), ia juga membentuk asam lemak trans, dan radikal bebas yang bersifat toksik dan karsinogenik. Di dalam alur proses pencernaan dan dimetabolisme akan menghasilkan energi, kolesterol dan lemak. Sedangkan minyak kelapa hanya menghasilkan energi. Dengan demikian minyak kelapa adalah lebih aman terhadap kesehatan dibandingkan semua jenis minyak goreng.

II.3.5 Minyak Kelapa Murni dan Kesehatan

Asam lemak rantai sedang (MCFA) yang terdapat pada minyak kelapa mirip dengan lemak yang terdapat pada air susu ibu (ASI) dan mempunyai efek nutrisi yang sama. Efek-efek yang menyehatkan ini telah diketahui sejak ribuan tahun yang lalu dan telah disebutkan dalam kitab Ayurveda, minyak kelapa berkhasiat untuk menyegarkan dan meningkatkan daya tahan tubuh (3).

Minyak kelapa juga dikenal karena komponen antibakteri dan antimikrobanya. Penggunaan obat yang dicampur dengan minyak kelapa telah lama dikenal luas dimasyarakat. Penyiapan minyak kelapa dengan cara lain menstimulasi pertumbuhan rambut dan melindungi kulit dari bakteri, protozoa dan infeksi virus (3).

Riset dan observasi klinis telah menunjukkan bahwa *Medium Chain Fatty Acids*, seperti asam lemak yang ditemukan pada minyak ini, mungkin memberikan banyak manfaat kesehatan. Beberapa manfaat tersebut antara lain : (3, 20).

1. Mengurangi resiko terserang atherosclerosis dan penyakit jantung
2. Mengurangi resiko penyakit kanker dan gangguan generatif mbantu mengendalikan diabetes
3. Melainnya
4. Membantu mencegah infeksi bakteri, virus, jamur dan ragi
5. Mendukung fungsi kekebalan tubuh
6. Memberikan sumber energi cepat
7. Menunjang fungsi metabolik
8. Memperbaiki pencernaan dan penyerapan bahan gizi
9. Berfungsi sebagai antioksidan
10. Membantu menjaga agar kulit tetap lembut dan halus
11. Meningkatkan pengurangan berat badan
12. Menjaga kesehatan lever
13. Menangani gejala kelelahan kronis

II.3.6 Teknik Produksi (21)

Berbagai alternatif teknologi untuk menghasilkan "*virgin coconut oil*" telah tersedia. Umumnya dengan menggunakan pemanasan minimal (pada suhu rendah). Teknologi pengolahan "*virgin coconut oil*" yang berkembang di Indonesia saat ini secara garis besar menggunakan prinsip dari kedua metode utama di bawah ini :

1. Penggilingan Basah

Metode ini mengekstraksi minyak kelapa dari daging kelapa segar tanpa proses pengeringan terlebih dahulu. Santan dikeluarkan dengan

pemerasan kemudian minyak dipisahkan dari fase air. Metode yang digunakan untuk memisahkan minyak dari air adalah dengan perebusan, pendinginan, dan sentrifugasi menggunakan alat mekanis.

2. Metode Fermentasi (Enzimatis) atau Fermentasi Spontan

Metode ini pun mengekstraksi minyak kelapa dari daging kelapa segar tanpa proses pengeringan terlebih dahulu. Santan dikeluarkan dari kelapa yang baru dipetik lalu difermentasi selama 24-36 jam. Selama waktu tersebut, air terpisahkan dari minyaknya. Selanjutnya, minyak dipanaskan dalam waktu singkat guna menghilangkan kandungan airnya, kemudian disaring.

Dari beberapa proses yang dikembangkan tersebut dapat dibagi lagi dalam 3 proses sebagai berikut :

1. Pemanasan Bertahap

Ini merupakan metode pengembangan dari metode penggilingan basah. Pemisahan minyak dari air dilakukan dengan proses pemanasan bertahap dengan memanaskan krim santan sampai terbentuk "blondho" dalam wajan pada suhu 100-110°C. Minyak yang didapat dipisahkan dari "blondho" dengan penyaringan. Minyak ini kemudian dipanaskan lagi pada suhu yang sama. Terakhir, minyak perlu disaring kembali. Jumlah energi yang digunakan pada metode ini tidak terkendali dengan baik karena pemanasan dilakukan secara bertahap dengan wajan, menggunakan suhu tinggi, serta prosesnya yang panjang.



2. Fermentasi dan Enzimatis (3, 22, 23, 24)

Teknik fermentasi menggunakan sel hidup seperti mikroba penghasil enzim tertentu, sementara teknik enzimatis menggunakan enzim dalam mikroba yang telah "dikeluarkan" sehingga tidak ada lagi sel-sel yang hidup.

Enzim tersebut berfungsi untuk memecah protein yang berikatan dengan minyak dan karbohidrat sehingga minyak dapat terpisah dengan baik. Jenis enzim tersebut antara lain adalah enzim penghidrolisis emulsi pengikat minyak dalam santan atau enzim fermentatif karbohidrat. Karena pada prinsipnya, santan kelapa merupakan bentuk emulsi dari minyak dalam air yang sangat kuat disebabkan adanya protein dan karbohidrat sebagai penstabil emulsi (emulgator). "*virgin coconut oil*" dari santan didapatkan dengan prinsip menghilangkan fungsi protein sebagai emulgator.

Secara prinsip, metode ini adalah pengembangan dari metode fermentasi spontan. Santan yang didapat dibiarkan dahulu sampai terbentuk bagian yang kentalnya, disebut krim santan. Krim ini kemudian ditambahkan dengan enzim pemecah emulsi ataupun dengan ragi (mikroba fermentatif karbohidrat) dan difermentasikan selama 10-14 jam (waktu fermentasi relatif lebih singkat dari fermentasi spontan).

3. Pemancingan

Prinsip metode ini adalah dengan mengubah bentuk emulsi air-minyak menjadi minyak-minyak dengan cara menambahkan dan

mengaduk krim santan dengan "*virgin coconut oil*" yang sudah jadi dengan perbandingan 3 : 1 dan didiamkan selama 6-7 jam sampai terbentuk lapisan minyak.

Selain metode-metode di atas, terdapat metode lainnya yang masih jarang dilakukan di Indonesia yaitu dengan proses mekanis. Metode ini pada prinsipnya dilakukan dengan pengeringan cepat buah kelapa segar menggunakan alat pengering. Pemanasan dilakukan pada suhu seminimal mungkin. Selanjutnya minyak diperas keluar secara mekanis.

II.4 Teori Sistem Imun Tubuh

II.4.1 Definisi Sistem Imun Tubuh

Istilah imun berasal dari bahasa latin *immunis* (bebas dari pajak atau beban). Definisi imunitas masa kini mencakup semua mekanisme fisiologis yang membantu untuk mengenal benda-benda asing pada diri untuk menetralkan, menyisihkan, atau memetabolisme benda asing tersebut dengan atau tanpa kerusakan pada jaringannya sendiri (25). Gabungan sel, molekul dan jaringan yang berperan dalam resistensi terhadap infeksi disebut sistem imun, sedangkan respon imun adalah reaksi yang dikoordinasi sel-sel dan molekul-molekul terhadap mikroba dan bahan lainnya (12). 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 (26).

II.4.2 Klasifikasi Sistem Imun Tubuh

Pertahanan imun terdiri atas sistem imun alamiah atau nonspesifik (*natural/innate/native*) dan didapat atau spesifik (*adaptive/acquired*) (12).

Respon imun nonspesifik umumnya merupakan imunitas bawaan (*innate immunity*) dalam arti bahwa respon terhadap zat asing dapat terjadi walaupun tubuh sebelumnya tidak pernah terpapar oleh zat tersebut, sedangkan respon imun spesifik merupakan respon didapat (*acquired*) yang timbul terhadap antigen tertentu. Perbedaan utama antara kedua jenis respon imun itu adalah dalam hal spesifitas dan pembentukan memori terhadap antigen tertentu pada respon imun spesifik yang tidak terdapat pada respon imun nonspesifik (26).

II.4.2.1 Respon Imun Nonspesifik

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. Disebut nonspesifik karena tidak ditujukan terhadap mikroba tertentu, telah ada dan siap berfungsi sejak lahir. Mekanismenya tidak menunjukkan spesifitas terhadap bahan asing dan mampu melindungi tubuh terhadap banyak patogen (12).

Komponen-komponen sistem imun nonspesifik terdiri atas : (27)

1. Pertahanan fisik/mekanik

Sistem pertahanan fisik/mekanik ini melibatkan kulit, selaput lendir, silia saluran nafas, proses batuk dan bersin untuk mencegah masuknya

berbagai kuman patogen ke dalam tubuh. Kulit yang rusak misalnya oleh luka bakar dan selaput lendir yang rusak antara lain oleh asap rokok akan meningkatkan resiko infeksi.

2. Pertahanan biokimia

pH asam keringat dan sebaseus, berbagai asam lemak yang dilepas kulit mempunyai efek denaturasi protein sehingga dapat mencegah infeksi yang terjadi melalui kulit.

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 laktooksidase dan asam neuraminik yang mempunyai sifat anti bakterial terhadap *E. coli* dan stafilokokus (12).

3. 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.

4. 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 (12).

II.4.2.2 Respon imun Spesifik (12, 26)

Sistem imun spesifik mempunyai kemampuan mengenal benda yang dianggap asing bagi dirinya. Benda atau senyawa asing yang pertama kali muncul dalam tubuh segera dikenal oleh sistem imun spesifik sehingga terjadi sensitasi sel-sel sistem imun tersebut. Senyawa asing yang sama bila terpapar ulang akan dikenal lebih cepat, kemudian dihancurkan.

1. Sistem imun spesifik humoral

Limfosit B atau sel B mempunyai peranan penting dalam sistem imun spesifik humoral. Bila limfosit B dirangsang oleh antigen, sel tersebut akan berproliferasi, berdiferensiasi dan berkembang menjadi sel plasma yang membentuk antibodi. Antibodi ini berikatan dengan antigen membentuk kompleks antigen antibodi yang dapat mengaktivasi komplemen dan menyebabkan hancurnya antigen tersebut.

2. Sistem imun spesifik seluler

Limfosit T atau sel T berperan pada sistem imun spesifik selular. Limfosit T dibentuk di dalam sumsum tulang tetapi proliferasi dan diferensiasinya terjadi di dalam kelenjar timus. Fungsi utama sistem imun spesifik selular adalah pertahanan terhadap bakteri yang hidup intraseluler, jamur, virus dan parasit.

3. Interaksi antara respon imun humoral dengan selular.

Interaksi ini disebut *antibodi 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.

II.4.3 Antigen

Zat yang menginduksi respon imun yang spesifik disebut antigen (28). Pengertian lain yaitu suatu molekul yang terikat pada suatu struktur protein spesifik yang disebut antibodi (29). Istilah lain yang berkenaan dengan antigen adalah imunogen yakni suatu antigen yang mengaktivasi sel imun untuk memicu respon imun melawan dirinya sendiri (29). Istilah Antigen dan imunogen sering salah dalam digunakan pada banyak buku pedoman dan artikel jurnal. Perbedaan mendasar dari kedua istilah ini adalah imunogen merupakan substansi yang mampu merangsang respon imun (baik respon seluler maupun humoral ataupun keduanya) apabila dimasukkan ke dalam tubuh menghasilkan suatu antibodi sedangkan antigen adalah substansi yang mampu bereaksi dengan antibodi yang diproduksi atas rangsangan imunogen tadi, tanpa mempertimbangkan apakah antigen itu sendiri bersifat imunogenik. Ini berarti bahwa semua imunogen adalah antigen, tetapi tidak semua antigen adalah imunogen (26).

Istilah epitop biasa digunakan untuk menyebut antigen, dimana sebenarnya epitop adalah bagian dari molekul antigen yang berikatan dengan bagian dari antibodi (*antigen binding site*) (26).

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 haptan, dapat bereaksi dengan antibodi yang diproduksi tetapi ia sendiri tidak imunogenik (26).

Haptan didefinisikan sebagai bahan non-antigen, biasanya berberat molekul rendah, yang mana dapat berikatan berpasangan secara kovalen bersama dengan antigen yang sesuai untuk membentuk turunan antigen yang baru (30).

Selain itu dikenal pula istilah ajuvan yaitu zat-zat tertentu yang dapat memperbesar respon imun bila dimasukkan bersama-sama dengan imunogen (25).

II.4.4 Antibodi

II.4.4.1 Definisi Antibodi

Antibodi adalah bahan larut digolongkan dalam protein yang disebut sebagai globulin dan sekarang dikenal sebagai imunoglobulin. Dua cirinya yang penting ialah spesifitas dan aktivitas biologik (12).

Imunoglobulin (Ig) dibentuk oleh sel plasma yang berasal dari proliferasi sel B akibat adanya kontak dengan antigen, merupakan molekul

glikoprotein yang terdiri atas komponen polipeptida sebanyak 82-96% dan selebihnya karbohidrat (12, 26).

II.4.4.2 Struktur Antibodi (12, 26)

Semua molekul imunoglobulin, mempunyai 4 rantai polipeptida dasar yang terdiri atas 2 rantai berat (Heavy Chain) dan 2 rantai ringan (Ligth Chain) yang identik serta dihubungkan satu sama lain oleh ikatan disulfida (S-S). Ada 2 jenis rantai ringan (*kappa* dan *lambda*) yang terdiri atas 230 asam amino serta 5 jenis rantai berat yang tergantung pada kelima jenis imunoglobulin. Rantai berat terdiri atas 450-600 asam amino, sehingga berat dan panjang rantai berat tersebut adalah dua kali rantai ringan. 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) yang tetap memiliki sifat antibodi disebut fragmen *Fab* (*Fragmen antigen binding*) yang dibentuk oleh dominant terminal-N dan 1 fragmen yang hanya terdiri atas rantai berat saja dan dapat dikristalkan dari larutan disebut fragmen *Fc* (*Fragmen crystallizable*) yang dibentuk oleh domain terminal-C. Fragmen *Fab* dengan antigen *binding site* berfungsi mengikat antigen. Karena itu susunan asam amino di bagian ini berbeda antara molekul imunoglobulin satu dengan yang lain dan sangat variabel sesuai dengan variabilitas

antigen yang merangsang pembentukannya. Fragmen *Fc* tidak mempunyai kemampuan mengikat antigen tetapi dapat bersifat sebagai antigen (determinan antigen) dan menentukan sifat biologi imunoglobulin bersangkutan, misalnya kemampuan imunoglobulin untuk melekat pada sel, fiksasi komplemen, distribusinya dalam tubuh dan lain-lain.

Enzim proteolitik lain yaitu pepsin dapat memecah molekul imunoglobulin di belakang ikatan S-S, mengakibatkan terbentuknya satu fragmen besar yang disebut $F(ab')_2$ yang mampu mengikat dan menggumpalkan antigen karena ia bersifat bivalen dan dapat membentuk *lattice*. Bagian molekul imunoglobulin yang peka terhadap pemecahan oleh kedua enzim di atas disebut bagian engsel (*hinge region*).

II.4.4.3 Fungsi Antibodi (26)

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 peran penting dalam menangkap dan menyingkirkan kompleks imun. Bentuk trans membran reseptor *FcRIII* pada makrofag dan sel NK diduga terlibat dalam merangsang sitotoksitas selular. Disamping itu reseptor *Fc* yang terdapat pada beberapa subpopulasi sel T dan sel B diduga terlibat dalam pengaturan

produksi berbagai isotipe antibodi walaupun mekanismenya yang pasti belum diketahui.

II.4.4.4 Klasifikasi Antibodi

Lima kelas imunoglobulin tubuh yang dikenal adalah IgG, IgM, IgA, IgD dan IgE. Kelima imunoglobulin ini menunjukkan perbedaan pada rantai beratnya. Rantai berat yang awalnya dipolakan dalam huruf Yunani diubah dalam huruf Romawi yang menunjukkan sifat dari tiap imunoglobulin; IgG memiliki ikatan γ , IgM memiliki ikatan μ , IgA memiliki ikatan α , IgD mempunyai ikatan δ , dan IgE membentuk ikatan ϵ (31).

IgA merupakan kelas imunoglobulin utama dalam sekresi tubuh. Tiap molekul sekresi IgA terdiri dari 2 unit 4 rantai dasar dan 1 molekul komponen sekresi dan rantai J. Berat Molekul IgA sekresi sekitar 400.000 Dalton. IgA sekresi merupakan mekanisme pertahanan primer melawan beberapa infeksi lokal oleh karena jumlahnya yang banyak dalam saliva, air mata, sekresi bronkial, mukosa hidung, cairan prostatik, sekresi vaginal dan sekresi mukosa dari usus kecil. Keutamaan IgA sekresi ini dalam membran sekresi mengarahkannya pada spekulasi bahwa secara prinsip fungsi dari IgA sekresi bukanlah untuk menghancurkan antigen (misalnya organisme asing atau sel) tetapi lebih kepada mencegah masuknya substansi tersebut kedalam sistem imunologi umum (32). IgA dalam serum dapat mengaglutinasi dan mengganggu motilitas kuman sehingga memudahkan fagositosis. IgA dapat pula meningkatkan fungsi sel

polimorfonuklear (opsonisasi) oleh karena sel tersebut memiliki reseptor untuk *Fc* dari IgA (31).

IgD, molekul IgD adalah monomer dengan berat molekul sekitar 180.000 Dalton (7-8S) yang lebih tinggi dari IgG. Imunoglobulin ini normalnya dalam serum ditemukan sekitar 0,2% dari total imunoglobulin serum. IgD relatif labil terhadap degradasi oleh panas dan enzim proteolitik. Dilaporkan telah diisolasi IgD dengan aktivitas antibodi terhadap antigen khusus seperti insulin, penisilin. IgD (dengan IgM) merupakan imunoglobulin utama pada permukaan dari B limfosit manusia, akan tetapi fungsi utama dari IgD belum dapat ditentukan (32).

IgE, memiliki berat molekul sekitar 190.000 (8S). IgE terdiri hanya 0,004% dari total imunoglobulin serum. Pada kombinasi dengan beberapa antigen spesifik yang disebut alergen. Alergen adalah nama alternatif yang digunakan pada proses alergi untuk setiap antigen yang menstimulasi produksi IgE (30). IgE disebut pula antibodi reagenik dan merupakan Ig dengan jumlah paling sedikit dalam serum, tetapi efeknya sangat efisien. IgE mudah diikat mastosit (mast cell), basofil dan eosinofil yang pada permukaannya memiliki reseptor untuk fraksi *Fc* dari IgE. IgE dibentuk setempat oleh sel plasma dalam selaput lendir saluran nafas dan cerna (31).

IgM, kadar IgM sekitar 10% dari imunoglobulin serum normal dan normalnya terdapat sebagai pentamer dengan berat molekul sekitar 900.000 Dalton (19S). Antibodi IgM memiliki peranan penting dalam

respon imun awal terhadap banyak antigen dan respon utama dalam antibodi khusus seperti antibodi golongan darah alami. IgM (dengan IgD) adalah imunoglobulin utama yang diekspresikan pada permukaan sel B. Antibodi IgM (dan juga IgG) bertanggung jawab atas banyak aktivitas spesifik klasik yang berhubungan dengan antibodi secara umum, termasuk presipitasi, aglutinasi, hemolisis, fiksasi komplemen dan reaksi transfusi (32).

II.4.5 Imunoglobulin G (IgG)

Sifat Umum dan fisikokimia, IgG normalnya terdapat pada serum orang dewasa dengan konsentrasi 1,0-1,4 gr/100 mL dan ini mewakili 12-18% dari total protein serum. IgG juga didistribusikan secara extravaskular (sekitar 50%) dan melakukan aktivitas antibodi dalam jaringan. Laju sintesanya sekitar 2,3 gr/hari (untuk BB 70Kg) dan "*half life*"nya sekitar 23 hari. Berat molekul dari IgG sekitar 160.000 Dalton dan koefisien sedimentasinya mendekati 7S (7 svedbergs). IgG merupakan imunoglobulin utama yang dibentuk atas rangsangan antigen (31,26).

Struktur, IgG memiliki struktur simetrik ; 2 rantai berat (H, heavy) dengan berat molekul sekitar 55.000 Dalton masing-masingnya yang berikatan satu sama lainnya dengan 2 ikatan disulfida (atau lebih) dekat bagian tengah IgG. Sedikit diatas pertengahan dari tiap-tiap rantai H (ke arah akhir aminoterminal), suatu rantai ringan (L, light) dihubungkan pada titik yang dekat dengan akhir karboksiterminal IgG dengan menggunakan ikatan disulfida. Rantai L IgG memiliki berat molekul sekitar 23.000 Dalton.

Pada semua molekul Immunoglobulin rangkaian asam amino dari 2 rantai H adalah identik satu sama lainnya, begitu pula dengan 2 rantai L, oleh karena itu IgG adalah divalen. Molekul IgG terdiri dari 2 tipe γ pada rantai H dan juga 2 tipe κ atau λ pada rantai L (31).

Sifat Biologi dan Immunologi, IgG adalah satu-satunya imunoglobulin yang mampu melewati sawar plasenta. IgG (dan juga IgM) merupakan suatu molekul opsonisasi. IgG pulalah yang umumnya melapisi partikel/mikroorganisme sehingga partikel itu lebih mudah difagositosis. Berdasarkan sifat uniknya yang dapat melewati sawar plasenta, IgG adalah satu-satunya imunoglobulin yang menjadi pertahanan terhadap bayi yang baru lahir terutama pada bulan pertamanya. IgG juga mampu menetralisasi toksin dan virus. Bila melekat pada reseptor *Fc* pada permukaan trombosit IgG dapat merangsang pelepasan vasoactive amine dan menyebabkan agregasi trombosit. IgG dapat melekat pada reseptor *Fc* yang terdapat pada permukaan sel sasaran dan memungkinkan terjadinya proses ADCC (Antibody Dependent Cell Cytotoxicity) (26, 31). IgG juga berperan pada imunitas selular, karena dapat merusak antigen selular melalui interaksi dengan sistem komplemen atau melalui efek sitolitik *killer cell* (sel K), eosinofil, neutrofil, yang semuanya mengandung reseptor untuk *Fc* dari IgG. Sel K merupakan efektor *antibody dependent cellular cytotoxicity cell* (ADCC). ADCC tidak hanya merusak sel tunggal, tetapi juga mikroorganisme multiselular seperti telur skistosoma. Peranan efektor ADCC ini penting

pada penghancuran kanker, penolakan transplan dan penyakit autoimun, sedang ADCC melalui neutrofil dan eosinofil berperan pada infestasi parasit. Kadar IgG meninggi pada infeksi penyakit kronis dan penyakit autoimun(12). Kadar IgG meningkat secara lambat selama respon primer terhadap suatu antigen, tetapi meningkat secara cepat dan dengan kekuatan yang lebih besar pada pajanan kedua (14).

II.4.6 Imunokimia

Antibodi merupakan komponen imunitas didapat yang melindungi tubuh terhadap infeksi mikroorganisme dan produknya yang toksik. Oleh karena itu interaksi antara antigen dan antibodi sangat penting dan banyak digunakan invitro untuk tujuan diagnostik. Interaksi antara antigen dan antibodi dapat menimbulkan berbagai akibat, antara lain presipitasi (bila antigen merupakan bahan larut dalam garam fisiologik), aglutinasi (bila antigen merupakan bahan tidak larut/partikel-partikel kecil), netralisasi toksin dan aktivasi komplemen. Kebanyakan reaksi tersebut disebabkan oleh interaksi antara antigen multivalen dan antibodi yang sedikitnya memiliki 2 tempat ikatan per molekul (12).

Imunopresipitasi, Uji presipitasi merupakan salah satu metode tertua untuk memberikan informasi kuantitatif mengenai jumlah kehadiran antibodi dalam suatu antiserum. Uji ini biasanya dilakukan dengan meningkatkan penambahan sejumlah antigen larut ke tabung yang mengandung sejumlah antiserum spesifik konstan (31).



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. Selain itu masih ada faktor-faktor lain yang berpengaruh misalnya suhu ($0-37^{\circ}\text{C}$), pH (tidak kurang dari 6 dan lebih dari 8,6), dan molaritas larutan yang dipakai (sebaiknya larutan dengan molaritas 0,15 M) serta yang tidak boleh diabaikan adalah perbandingan antara konsentrasi antigen dan antibodi. Pembentukan presipitat terjadi apabila antara konsentrasi antigen dengan antibodi tercapai keseimbangan. Kondisi antigen berlebihan akan mengakibatkan melarutnya kembali kompleks yang terbentuk, sedangkan antibodi berlebihan menyebabkan kompleks antigen-antibodi tetap ada dalam larutan. Hal yang pertama disebut *postzone effect* dan yang kedua disebut *prozone effect* (26).

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 (33).

Reaksi aglutinasi terjadi dalam dua tahap, yaitu pertama-tama antibodi dengan salah satu reseptor pengikat antigen bereaksi dengan antigen. Karena pada umumnya antibodi memiliki lebih dari satu reseptor pengikat antigen maka pada tahap kedua dengan perantaraan reseptornya yang lain antibodi bereaksi dengan molekul antigen lain yang mungkin sudah berikatan dengan salah satu molekul antibodi sehingga

dengan demikian terbentuklah gumpalan antigen-antibodi. Mudah dimengerti bahwa aglutinasi lebih mudah terjadi dengan antibodi kelas IgM yang berbentuk pentamer dibandingkan IgG atau IgA yang mempunyai reseptor pengikat antigen lebih sedikit (26).

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan

III.1.1 Alat-alat yang Digunakan

Alat-alat yang digunakan adalah, corong, corong pisah, gelas piala, gelas ukur, labu erlenmeyer, labu tentukur, LAF (*Laminar Air Flow*), lumpang dan alu, neraca analitik (Chyo), otoklaf, oven, sumur mikrotitrasi (*Wheel plate* 96 lubang), pipet mikron (Socorex), pipet ukur, pipet volum (Fortuna), spoit, spoit oral, seperangkat alat sentrifus (Hettich), spektrofotometer, tangas air, termometer, timbangan hewan (Denver).

III.1.2 Bahan-bahan yang Digunakan

Bahan-bahan yang digunakan adalah air suling, air kelapa, alkohol 70% v/v, biakan murni *Candida utilis*, buah kelapa tua (*Cocos nucifera* Linn.), gom arab, Hewan Coba Mencit Jantan (*Mus musculus*), larutan natrium klorida fisiologis (NaCl 0,9%), larutan PBS (*Phosphat Buffered Saline*), medium PDA (*Potato Dextrose Agar*), suspensi Sel Darah Merah Domba 2%.

III.2 Metode Kerja

III.2.1 Penyiapan Alat (34)

Alat-alat yang digunakan dicuci bersih dan dikeringkan. Alat yang terbuat dari gelas disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Untuk alat-alat logam disterilkan dengan cara

dipijarkan pada api, dan alat-alat yang terbuat dari plastik, alat gelas berskala, serta karet disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

III.2.2 Pengambilan Bahan Penelitian

Bahan penelitian adalah daging buah kelapa tua yang telah diparut (*Cocos nucifera*), yang diperoleh dari dusun Pakalu kelurahan Kalabbirang, kecamatan Bantimurung, kabupaten Maros. Mikroorganisme yang digunakan adalah khamir *Candida utilis* dalam bentuk biakan murni yang diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Farmasi Universitas Hasanuddin.

III.2.3 Pembuatan Santan (35,36)

Daging buah kelapa tua yang tidak dikupas kulit arinya diparut dan diperas dimana pemerasan awal tanpa menggunakan air. Pemerasan kedua dilakukan dengan menambahkan air yang telah dididihkan dan suhunya masih hangat pada ampas perasan pertama. Proses ini diulangi sebanyak 2-3 kali dengan perbandingan kelapa dan air 1:1. Seluruh hasil perasan kemudian dikumpulkan.

III.2.4 Pemisahan Krim dan Skim Santan (5, 22)

Santan dimasukkan dan didiamkan dalam corong pisah selama 30 menit sampai 2 jam sehingga terbentuk dua lapisan, yaitu krim santan di bagian atas dan skim santan di bagian bawah. Skim dan krim santan

kemudian dikeluarkan secara bertahap dan ditampung pada masing-masing wadah terpisah.

III.2.5 Pembuatan Medium (37)

A. Medium PDA (*Potato Dextrose Agar*)

Komposisi (g/l):

- Infus kentang 4,0 g (dari 200 g kentang)
- D(+) Glukosa 20,0 g
- Agar-agar 15,0 g
- Air suling hingga 1000 ml

pH $5,6 \pm 0,1$

B. Cara Pembuatan :

Ditimbang semua bahan sesuai dengan perhitungan lalu dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer kemudian dilarutkan dalam air suling dan dihomogenkan. Setelah itu diatur pH-nya ($5,6 \pm 0,1$). Medium lalu disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit.

III.2.6 Peremajaan Khamir

Biakan murni khamir *Candida utilis* diremajakan dengan cara menginokulasikan secara aseptis 1 ose biakan murni sebelumnya pada medium PDA miring dan diinkubasikan pada suhu kamar selama 3 x 24 jam.

III.2.7 Pembuatan Starter (22)

Komposisi medium starter:

- Skim santan 9 ml
- Air kelapa hingga 10 ml

Cara pembuatan :

Sebelumnya wadah medium starter harus disterilkan terlebih dahulu dalam oven bersuhu 180°C selama 2 jam. Kedua bahan kemudian dicampurkan dan dimasukkan ke dalam wadah secara aseptis.

III.2.8 Pembuatan Kultur Khamir (22)

Kultur khamir dibuat dengan menginokulasikan 1 ose biakan murni khamir. Kultur ini kemudian diinkubasikan selama 3 x 24 jam pada suhu kamar.

III.2.9 Perhitungan Jumlah Total Khamir Dalam Kultur Khamir

Kultur khamir yang telah diinkubasikan selama 3 x 24 jam diambil dengan spoit sebanyak 1 ml kemudian dibuat pengencerannya dari 10^{-1} sampai 10^{-11} . Hasil pengenceran 10^{-7} sampai 10^{-11} diinokulasikan pada medium PDA lalu diinkubasikan pada suhu kamar selama 3 x 24 jam, selanjutnya dihitung jumlah total khamirnya.

III.2.10 Pembuatan Minyak Kelapa Murni (22)

Sebanyak 200 ml krim santan dipanaskan dalam penangas air pada suhu 65°C selama 15 menit kemudian diinokulasikan 20 ml kultur khamir *Candida utilis*. Krim santan lalu difermentasikan pada suhu kamar

selama 8-12 jam sampai terbentuk 3 lapisan dimana minyak sebagai lapisan teratas. Minyak yang diperoleh dipisahkan dengan hati-hati lalu ditampung dalam botol dan dipanaskan pada temperatur hangat-hangat kuku selama 15 menit kemudian disimpan pada suhu kamar.

III.2.11 Pembuatan suspensi Sel Darah Merah Domba (SDMD) dan Larutan PBS (*Phosphat Buffered Saline*)

III.2.11.1 Penyiapan Suspensi SDMD 2% (26,27)

Darah domba di tampung dalam tabung bersih dan kering yang berisi serbuk EDTA sebagai antikoagulan. Untuk 1 mL darah domba, diperlukan 1 mg EDTA. Sel darah merah domba (SDMD) dipisahkan dari plasmanya dengan pemusingan pada kecepatan 1500 rpm. Selanjutnya sel darah merah dicuci dengan menambahkan PBS (*Phosphat Buffered saline*) dalam jumlah besar dan tabung berisi suspensi tersebut dibolak balik beberapa kali dan dipusingkan kembali. Lakukan pencucian paling sedikit 3 kali. Setelah selesai, PBS dibuang dan diperoleh SDMD 100%. Kemudian pada SDMD 100% tadi tambahkan PBS dengan volume sama hingga diperoleh suspensi SDMD 50%. Siapkan antigen yang akan digunakan dengan mengencerkan 0,4 mL suspensi SDMD 50% dengan 9,8 mL PBS sehingga diperoleh 10 mL suspensi antigen (SDMD 2%).

III.2.11.2 Penyiapan Larutan PBS (26,27)

Larutan PBS disiapkan dengan terlebih dahulu membuat larutan A yaitu larutan $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 1,38g/L dan NaCl 8,3 g/L dan larutan B yaitu

larutan NaH_2PO_4 1,42 g/L dan NaCl 8,5 g/L. Selanjutnya 280 mL larutan A ditambahkan pada 720 mL larutan B untuk mendapatkan Larutan PBS dengan pH 7,2.

III.2.12 Penyiapan Emulsi Minyak (38)

Penyiapan emulsi didahului pembuatan korpus emulsi dengan cara mencampurkan 1 bagian minyak dengan $\frac{1}{2}$ bagian PGA dan $1 \frac{1}{2}$ bagian air pada lumpang hingga terdengar suara yang khas, dilanjutkan dengan penambahan sisa air yang telah diukur sebelumnya.

Emulsi dengan konsentrasi 7,8% dibuat dengan mencampur minyak sebanyak 7,8 ml dengan 3,9 g PGA dan 11,7 ml air untuk pembuatan korpus emulsi. Sisa air ditambahkan hingga diperoleh emulsi 100 ml.

Emulsi dengan konsentrasi 15,6% dibuat dengan mencampur minyak sebanyak 15,6 ml dengan 7,8 g PGA dan 23,4 ml air untuk pembuatan korpus emulsi. Sisa air ditambahkan hingga diperoleh emulsi 100 ml.

Emulsi dengan konsentrasi 31,2% dibuat dengan mencampur minyak sebanyak 31,2 ml dengan 15,6 g PGA dan 46,8 ml air untuk pembuatan korpus emulsi. Sisa air ditambahkan hingga diperoleh emulsi 100 ml.

III.2.13 Pemilihan dan Penyiapan Hewan Coba (19, 39)

III.2.13.1 Pemilihan Hewan Coba

Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan (*Mus musculus*) yang sehat dan aktivitas normal, dengan bobot badan antara 20-25 gram

III.2.13.2 Penyiapan Mencit

Disiapkan 15 ekor mencit jantan yang dibagi atas 5 kelompok. Tiap kelompok masing-masing terdiri dari 3 ekor mencit. Mencit ini dipuasakan selama 8 jam sebelum perlakuan.

III.2.14 Perlakuan Terhadap Mencit (2,26,40)

III.2.14.1 Kelompok kontrol

Mencit jantan diberi emulsi air-gom arab dengan volume 1 ml/25 gr bobot badan secara oral selama 6 hari berturut-turut. Setelah 6 hari, mencit diberi injeksi dengan suspensi sel darah merah domba 2% dengan volume 0,1 ml/ekor secara intraperitoneal.

III.2.14.2 Kelompok Perlakuan

a. Kelompok I

Mencit jantan diberi emulsi minyak kelapa murni (*Virgin Coconut Oil*) dengan konsentrasi 7,8% v/v secara oral dengan volume 1 ml/25 g bobot badan selama 6 hari berturut-turut. Setelah 6 hari, mencit diberi injeksi dengan suspensi sel darah merah domba 2% dengan volume 0,1 ml/ekor secara intraperitoneal.

b. Kelompok II

Mencit jantan diberi emulsi minyak kelapa murni (*Virgin Coconut Oil*) dengan konsentrasi 15,6% v/v secara oral dengan volume 1 ml/25 gr bobot badan setiap hari selama 6 hari berturut-turut. Setelah 6 hari, mencit diberi injeksi dengan suspensi sel darah merah domba 2% dengan volume 0,1 ml/ekor secara intraperitoneal.

c. Kelompok III

Mencit jantan diberi emulsi minyak kelapa murni (*Virgin Coconut Oil*) dengan konsentrasi 31,2% v/v secara oral dengan volume 1 ml/25 gr bobot badan setiap hari selama 6 hari berturut-turut. Setelah 6 hari, mencit diberi injeksi dengan suspensi sel darah merah domba 2% dengan volume 0,1 ml/ekor secara intraperitoneal.

d. Kelompok IV

Mencit jantan diberi emulsi minyak kelapa biasa (*Oleum Cocos*) dengan konsentrasi 7,8% v/v secara oral dengan volume 1 ml/25 gr bobot badan setiap hari selama 6 hari berturut-turut. Setelah 6 hari, mencit diberi injeksi dengan suspensi sel darah merah domba 2% dengan volume 0,1 ml/ekor secara intraperitoneal.

III.2.15 Pengambilan Sampel Darah mencit (2,40)

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

III.2.16 Pengukuran konsentrasi imunoglobulin G (IgG) (24,40)

Serum yang diperoleh dari hasil pemusingan selanjutnya diencerkan secara "*double dilution*" dengan tingkat perbandingan 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512 dengan PBS. Sebanyak 50 μ L hasil pengenceran dimasukkan pada tiap sumur piring mikrotitrasi. 50 μ L suspensi sel darah merah domba kemudian ditambahkan ke dalam tiap sumur yang berisi hasil pengenceran serum lalu diaduk rata (menggunakan shaker) selama 5 menit. Pengerjaan dilanjutkan dengan penginkubasian sampel pada suhu 37°C selama 60 menit lalu didiamkan semalam pada suhu kamar.

III.2.17 Pengumpulan dan Analisis Data

Data diperoleh dari hasil pengamatan pengenceran tertinggi serum yang masih menunjukkan aglutinasi.

III.2.18 Analisis Data

Data dikumpulkan dari hasil pengamatan selanjutnya dianalisis secara statistika dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan Analisis Sidik Ragam (ASR)

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

Data Uji aktivitas immunoglobulin G (IgG) setelah pemberian minyak kelapa murni konsentrasi 7,8% v/v; 15,6% v/v; dan 31,2% v/v berdasarkan titer immunoglobulin G (IgG) pada mencit jantan 10 hari setelah diberikan SDMD 2% v/v adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Data titer immunoglobulin G (IgG) pada sumur mikrotitrasi interpretasi hasil berdasarkan hemaglutinasi yang teramati

Kontrol negatif			VCO 7,8%			VCO 15,6%			VCO 31,2%			Ol. Cocos			Pengenceran
1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	1/4
O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	1/8
O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	1/16
X	X	X	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	X	O	1/32
X	X	X	X	O	O	O	O	O	O	O	O	O	X	X	1/64
X	X	X	X	X	X	X	O	O	O	O	O	X	X	X	1/128
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	O	X	X	X	X	1/256
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	1/512

Keterangan O = Terjadi aglutinasi
X = Tidak terjadi aglutinasi

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

Perlakuan	Titer Imunoglobulin G (IgG)				
	Kontrol	VCO 7,8%	VCO 15,6%	VCO 31,2%	Ol. Cocos
Replikasi 1	1/16	1/32	1/64	1/128	1/64
Replikasi 2	1/16	1/64	1/128	1/256	1/16
Replikasi 3	1/16	1/64	1/128	1/128	1/32

IV.2 Pembahasan

Minyak kelapa murni (VCO) banyak dilaporkan dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit, Karena itulah penelitian ini dilakukan, agar dapat memberikan data ilmiah mengenai kemampuan minyak kelapa murni dalam meningkatkan sistem imun.

Pada penelitian ini digunakan VCO yang diproduksi sendiri. Pada proses pembuatan minyak kelapa murni ini digunakan metode fermentasi (enzimatis). Tahap pemecahan atau penarikan minyak dari emulsi santan secara fermentatif menggunakan bantuan khamir *Candida utilis*. Khamir golongan ini akan memfermentasikan karbohidrat membentuk alkohol yang mengalami reaksi lanjut menghasilkan asam dan akan mendenaturasi struktur protein dalam santan (krim santan) yang berperan sebagai emulgator. Jika protein terdenaturasi maka tidak akan berfungsi sebagai emulgator sehingga akhirnya terjadi pemecahan emulsi sehingga diperoleh minyak kelapa murni yang telah terpisah dari karbohidrat atau fase air (3).

Minyak kelapa murni mengandung asam lemak jenuh berantai sedang dalam konsentrasi tinggi (sekitar 52 %) yang sangat bermanfaat bagi kesehatan. Asam lemak jenuh rantai sedang ini mirip dengan asam lemak yang terdapat di air susu ibu (ASI) yang diketahui sangat bermanfaat bagi sistem imun tubuh.

Perlakuan terhadap hewan coba diawali dengan pemberian VCO yang dilakukan selama 6 hari berturut-turut dengan konsentrasi 7,8%, 15,6%, dan 31,2% , karena konsentrasi tersebut adalah dosis yang umum dikonsumsi masyarakat dalam memelihara kesehatannya. Pada hari ketujuh, setelah pemberian VCO, hewan coba diinjeksikan dengan sel darah merah domba (SDMD) sebagai antigen untuk dapat menimbulkan respon imun (menghasilkan antibodi). Digunakan SDMD oleh karena merupakan antigen yang terbaik untuk pengujian produksi antibodi pada hewan coba mencit. Hewan coba, setelah diinjeksi dengan SDMD, lalu dibiarkan selama 10 hari tanpa perlakuan dengan anggapan bahwa selama rentang waktu tersebut telah terjadi sensitasi sel B sehingga berproliferasi dan diferensiasi membentuk sel plasma yang akan menghasilkan antibodi dan juga sel memori terhadap antigen yang sama. Pada hari keenam sampai hari ketujuh IgG mulai terbentuk dan mencapai puncaknya pada hari ke 10-14 setelah pemaparan antigen (SDMD). Pada hari ke 10 setelah injeksi, dilakukan pengambilan darah hewan coba secara intrakardial, agar dapat diperoleh jumlah darah yang cukup banyak yang nantinya diambil serumnya untuk diuji aktivitasnya terhadap IgG.

Digunakan serum, karena injeksi suatu substansi asing (imunogen) ke dalam tubuh, mampu membuat respon imun menghasilkan antibodi spesifik yang muncul di dalam serum setelah beberapa waktu. Selain itu IgG merupakan sistem imun spesifik yang terdapat dalam sistem sirkulasi (humoral) sehingga memungkinkan penggunaan serum pada pengujiannya (26).

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. Titer antibodi yang tinggi menunjukkan bahwa sediaan uji dapat meningkatkan sistem imun. Aglutinasi terjadi bila antigen yang berbentuk partikel direaksikan dengan antibodi spesifik (26). Gumpalan yang terbentuk antara antigen dan antiserum 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.

Pengamatan rata-rata titer antibodi serum darah mencit terhadap SDMD tertinggi terdapat pada kelompok III (VCO 31,2%) sebesar 1/153,6 diikuti oleh kelompok II (VCO 15,6%) yakni 1/96 lalu kelompok I (VCO 7,8%) yaitu 1/48, lalu kelompok IV (ol.cocos 7,8%) sebesar 1/27,4 dan

terakhir kelompok kontrol (Air-gom) yakni 1/16. Hal ini menunjukkan adanya peningkatan aktivitas sistem imun sesuai dengan kenaikan konsentrasi minyak kelapa murni yang diberikan kepada hewan coba. Pada kelompok IV (yang diberikan ol.cocos dengan konsentrasi yang sama dengan kelompok I) nilai rata-rata titer antibodi menunjukkan nilai yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok I. Perbedaan ini terjadi akibat adanya degradasi pada ol.cocos oleh suhu yang sangat tinggi dan penggunaan bahan kimia pada waktu proses produksi ol.cocos tersebut, sehingga struktur fisiko-kimianya mengalami kerusakan. Hal inilah yang membedakannya dengan minyak kelapa murni karena masih mempertahankan kandungan dan struktur fisiko-kimianya secara alami.

Untuk perhitungan statistik, data pengamatan titer antibodi serum darah mencit terhadap SDMD ditransformasikan dengan $[2\log \text{titer}] + 1$, lalu diuji anova diperoleh perbedaan yang sangat signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa ada perbedaan yang sangat nyata antara kelompok mencit yang diberi sediaan uji dan kelompok mencit kontrol ($p < 0,01$). Uji BNJD (Beda Nyata Jarak Duncan) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan sangat nyata antara kelompok III dengan kelompok IV. Sedangkan kelompok III dengan kelompok kontrol terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$). Hal ini juga terlihat pada kelompok II dan kelompok I yang mempunyai perbedaan sangat nyata dengan kelompok kontrol. Perbandingan kelompok hewan coba yang diberi minyak kelapa murni dengan kelompok hewan coba yang diberi ol.cocos menunjukkan

perbedaan yang tidak nyata. Hal ini karena meskipun ol.cocos mengalami degradasi tetapi MCFA yang merupakan senyawa asam lemak jenuh yang juga dikandung dalam ol.cocos memiliki kestabilan yang tinggi sehingga tidak mudah rusak oleh panas dan bahan kimia. Antara kedua kelompok IV dan kelompok kontrol sendiri tidak memiliki perbedaan yang nyata. Hal ini karena tubuh, secara normal akan meningkatkan antibodi dalam darah apabila terdapat benda asing atau antigen yang masuk ke dalam tubuh. Antibodi tersebut akan mencapai jumlah maksimum kemudian akan turun kembali.

Dari penelitian ini dapat dinyatakan bahwa pemberian minyak kelapa murni dapat meningkatkan respon imun, yang ditunjukkan dengan adanya peningkatan titer antibodi. Diduga senyawa yang dikandung minyak kelapa murni berperan sebagai mitogen. Mitogen merupakan molekul-molekul yang dapat menginduksi sel untuk membelah. Pengaruh mitogen terhadap sel B dapat menginduksi sekresi antibodi dengan cara mengaktifkan terlebih dahulu sel T penolong (Th). Mitogen bereaksi dengan permukaan sel imun dalam tubuh secara tidak spesifik (bukan sebagai antigen) dan menghasilkan serangkaian perubahan sel-sel imun tubuh yang sama seperti reaksi terhadap antigen. Jadi dengan adanya mitogen, respon imun berlangsung lebih tinggi dan dalam waktu yang lebih lama.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka disimpulkan bahwa pemberian minyak kelapa murni dengan konsentrasi 7,8%, 15,6% dan 31,2%, secara oral meningkatkan respon sistem imun dengan meningkatkan titer antibodi imunoglobulin G (IgG) terhadap SDMD yang sebanding dengan peningkatan konsentrasi.

VI.2 Saran

Perlu dilakukan uji-uji imunologis lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh minyak kelapa murni terhadap sistem imun tubuh, misalnya aktivitas komplemen, sel darah putih dan sistem organ tubuh lainnya (misalnya hati, dan limpa).

DAFTAR PUSTAKA

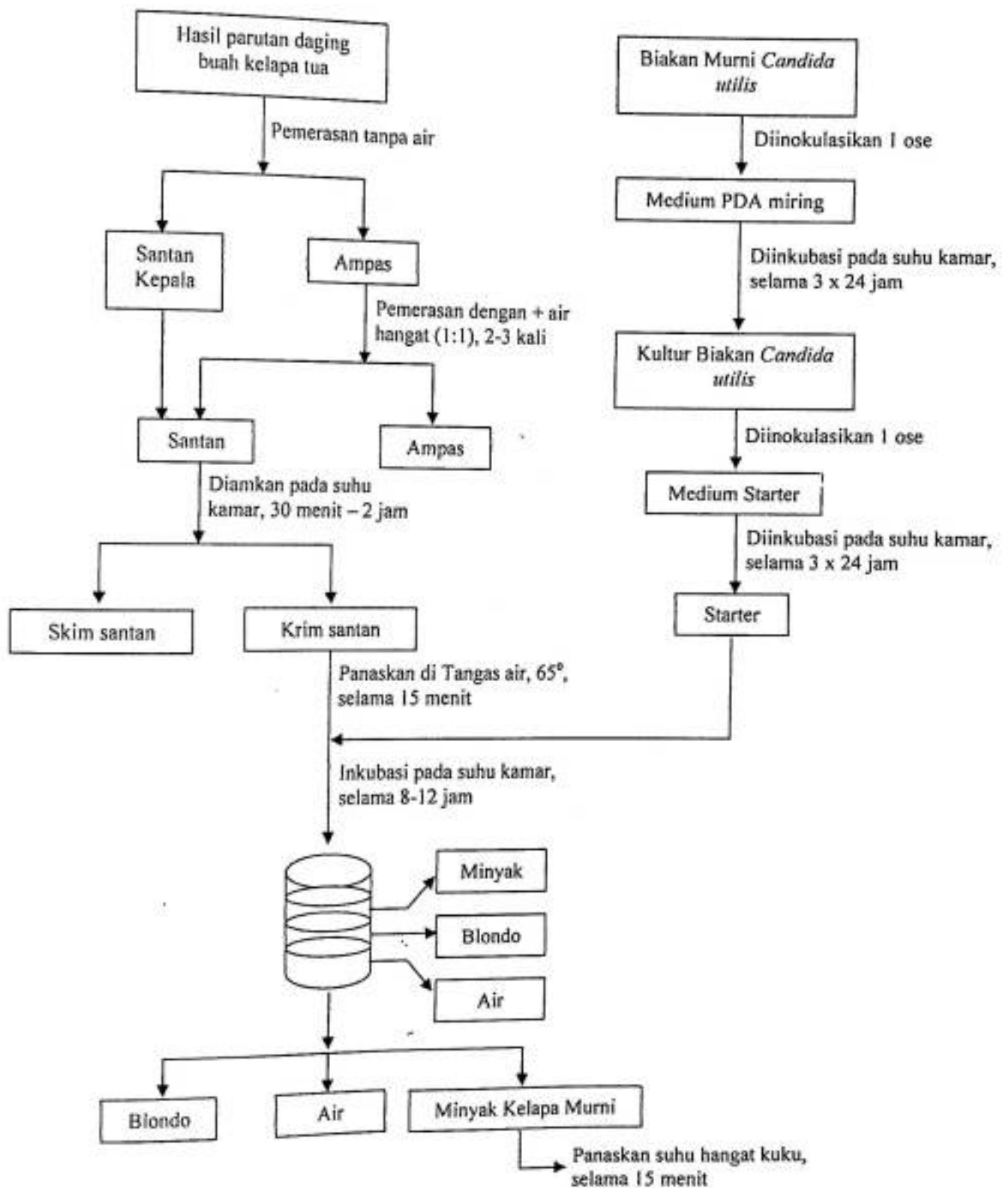
1. Nur, A. 2005. *Perpaduan Sang Penakluk Penyakit VCO+Minyak Buah Merah*. Agro Media Pustaka. Jakarta. 2, 16-18
2. Budiarmo, I.T. 2005. *Minyak Kelapa, Minyak Goreng Paling Aman dan Sehat* (on line). <http://www.indosiar.com>. diakses 12 Desember 2006
3. Nur, A. 2005. *Virgin Coconut Oil : Minyak Penakluk Aneka Penyakit*. Agro Media Pustaka. Jakarta. 27,34,48,103
4. Cahyana,D, 2005, *Manfaat Kelapa dari Dinding Laboratorium*, Tabloid *Trubus*, Agustus 2005, 22-23
5. Sutarmi, S.Tp., & Rozaline, Hartin, S.Tp. 2005. *Taklukkan Penyakit Dengan VCO*. Penebar swadaya. Jakarta. 3,9
6. Baswardojo, D. 2005. *Seluk Beluk Pembuatan Minyak Kelapa dan VICO*. <http://www.indo-coco.com/modules.php>. diakses 27 januari 2007
7. Baswardojo, D. 2005. *Defenisi Virgin Coconat Oil* (on line). <http://www.indo-coco.com/modules.php?>. 27 januari 2007
8. Sibuea, P., 2005, "Virgin Coconut Oil", *Penyembuh Ajaib dari Buah Kelapa*, <http://www.kimia.lipi.go.id/index.php?pilihan=berita>, diakses 3 Mei 2005
9. Marlina, S., 2006, *Perbandingan efek Virgin Coconut Oil yang dibuat dari berbagai metode terhadap aktivitas imunoglobulin*, Universitas Hasanuddin, Makassar.
10. Sulastri, E., (2005) *Pemanfaatan enzim candida utilis untuk memproduksi virgin coconut oil secara enzimatik*.Universitas Hasanuddin, Makassar.
11. Price, Sylvia & Wilson, Lorraine. 1995. *Patologi Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 68
12. Bratawidjaja, K. 2004. *Immunologi Dasar*. Edisi III. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 19, 78, 82
13. Weir, D.M. 1990. *Segi Praktis Immunologi*. Binaturpa Aksara. Jakarta. 30

14. Corwin, E. 2001. *Buku Saku Patofisiologi*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 57
15. Tjitrosoepomo, G. 1994. *Taksonomi Tumbuhan Obat-obatan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 444, 445
16. Tjitrosoma, S. _____. Mikologi Dasar ke II
17. Alsina, A., et al. *Catheter-associated Candida utilis fungemia in a patient with acquired immunodeficiency syndrome: species verification with a molecular probe (on line)*. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/arti>, diakses 12 Desember 2005
18. Siregar, R.S. 1995. *Penyakit Jamur kulit*. Laboratorium Ilmu Penyakit dan kelamin. Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya. Palembang. 11
19. Sheris, J.C., et al. 1984. *Medical Microbiology*. Elsevier Science Publishing Co. Inc. USA. 339
20. Price, M. 2004. *Terapi minyak kelapa*. Prestasi Pustaka. Jakarta. 217, 246
21. Rindengan, B., & Novarianto, H. 2004. *Minyak Kelapa Murni: Pembuatan dan Pemanfaatan*. Jakarta. 31, 38
22. Suryanto, D., Nasution, S.K., & Yurnaliza. 2005. *Potensi Isolat Bakteri dari Kepiting Batu untuk Menghasilkan Minyak Kelapa secara Fermentasi*. Jurnal Mikrobiologi Indonesia vol.10. No.1:14-16
23. Tim redaksi. 2005. *Terapi Minyak Nabati, Flona Serial*, Edisi Serial Flora Khasiat 3. PT. Duta Prima. Jakarta. 8,17-19
24. Setiadji, B. 1987. *Modifikasi Pemecahan Emulsi Santan Sebagai Upaya Mendapatkan Minyak Kelapa dan Blondo*, Buletin Biosains. Pusat Antar Universitas Biosains
25. Bellanti, J.A. 1985. *Imunologi III*. W.B Sanders. Philadelphia. 8, 57
26. Kresno, S. 1996. *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*, Edisi ketiga. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 4, 10, 26-30, 271

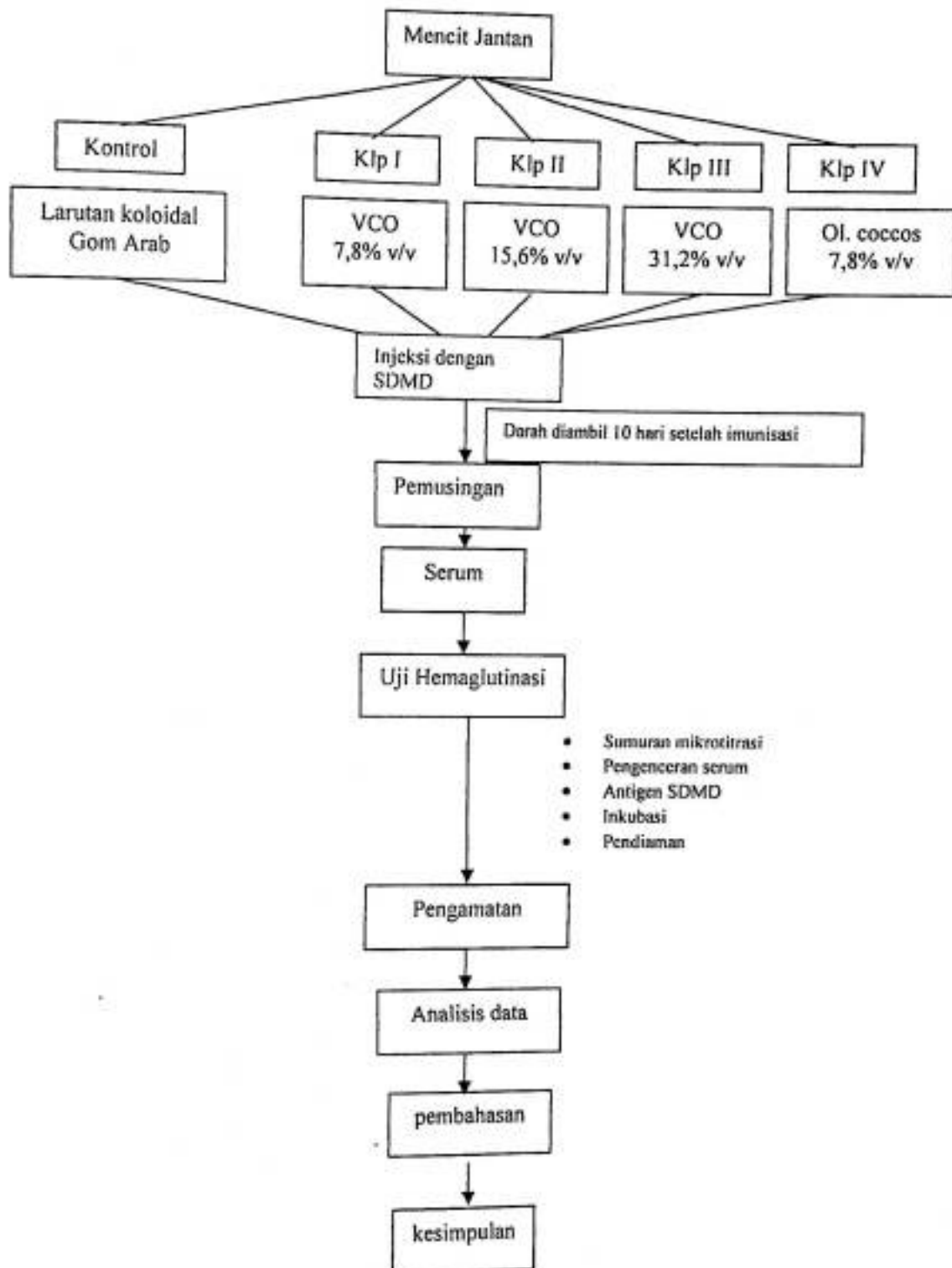
27. Winarno, M. 2000. *Penelitian Aktivitas Biologik Infus Benalu Teh (Scurulla atropurpurea Bl. Danser) terhadap aktivitas Sistem Imun Mencit*(online). <http://www.kalbefarma.com/files/cdk/files/06PenelitianAktivitasBiologikInfusBenaluTeh127.pdf/06PenelitianAktivitasBiologikInfusBenaluTeh127.html>. diakses 27 januari 2007
28. Staine, N., Brostoff, J., James K., & Mosby M. 1994. *Introduction Immunology*. 2nd edition. London. England. 8
29. Clancy, J. 2000. *Basic Concepts in Immunology*. McGraw-Hill Companies. Singapore. 19, 20
30. Barrer, J. 1988. *Textbook of Immunology*. Fifth edition. C.V. mosby Company. USA. 40
31. Rose, N. 1973. *Principles of Immunology*. Maacmillan Publishing CO. New york. 124-127
32. Fudenberg, H.H., Stites, D.P., Caldwell, J.L., & Wells, V. 1976. *Basic and Clinical Immunology*. Lange Medical Publications. Canada. 18
33. Roitt, I. 1994. *Essential Immunology*. Eight edition. Black Well Scientific Publications. London. 43
34. Hadioetomo, R.S. 1990. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek : Teknik dan Prosedur Laboratorium*. PT Gramedia. Jakarta. 56-57
35. Hasbullah. 2001. *Teknologi Tepat Guna Agroindustri Kecil Sumatra Barat* (online). <http://www.ristek.go.id>. diakses 23 januari 2007
36. Masun, M.S., & Helmi. 2004. *Membuat Minyak Kelapa Secara Inovatif*. Adi Cita Karya Nusa. Yogyakarta. 55
37. Difco. 1988. *Culture Media Handbook*. E-Merck. Darmstad. 121
38. Anis. 1998. *Ilmu Meracik Obat*. UGM Press. Yogyakarta. 38
39. Malole, M.B.M., Pramono, C.S. 1989. *Penggunaan Hewan-hewan Percobaan di Laboratorium*. Institut Pertanian Bogor. 105
40. Ma'at,S. 2004. *Penelitian dan Pengembangan Produk Fitofarmaka dari Daun Jambu Biji (Psidium guajava) untuk Tujuan Terapi Demam Berdarah Dengeu Berdasarkan Data Preklinik, Toksisitas Dan Percobaan Klinik*. Universitas Airlangga. Surabaya. 101-102

Lampiran 1

SKEMA KERJA PEMBUATAN MINYAK KELAPA MURNI



Lampiran 2
SKEMA KERJA UJI HEMAGLUTINASI



Lampiran 3

Perhitungan berat jenis dan rendamen produk minyak kelapa murni hasil fermentasi

1. Perhitungan berat jenis (BJ)

Dari hasil "*virgin coconut oil*" yang diperoleh dapat dihitung berat jenisnya pada suhu 25°C adalah sebagai berikut :

Berat piknometer kosong = I. 15,637

II. 15,637

Berat piknometer + sampel = I. 38,618

II. 38,619

Berat piknometer + air = I. 40,629

II. 40,621

Berat jenis "*virgin coconut oil*" pada suhu 25°C adalah =

$$BJ = \frac{(\text{berat piknometer} + \text{minyak}) - (\text{berat piknometer kosong})}{(\text{berat piknometer} + \text{air}) - (\text{berat piknometer kosong})}$$

$$I. BJ = \frac{38,618 - 15,637}{40,629 - 15,637} = 0,9195$$

$$II. BJ = \frac{38,619 - 15,637}{40,621 - 15,637} = 0,9198$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{I + II}{2}$$

$$= \frac{0,9195 + 0,9198}{2} = 0,9197$$

2. Perhitungan Rendamen

Produksi minyak kelapa murni yang dilakukan secara triplo menghasilkan data

Produksi 1 = 112 ml = 103,01 g (dengan BJ minyak kelapa murni 0,9197)

Produksi 2 = 125 ml = 114,96 g

Produksi 3 = 127 ml = 116,80 g

Dari data di atas dapat dihitung rendamennya adalah sebagai berikut :

$$\% \text{ rendamen} = \frac{\text{g minyak kelapa murni}}{\text{g substrat kelapa}} \times 100\%$$

$$\% \text{ rendamen}_{\text{produksi 1}} = \frac{103,01}{1000} \times 100\% = 10,301\%$$

$$\% \text{ rendamen}_{\text{produksi 2}} = \frac{114,96}{1000} \times 100\% = 11,496\%$$

$$\% \text{ rendamen}_{\text{produksi 3}} = \frac{116,80}{1000} \times 100\% = 11,680\%$$

$$\% \text{ rendamen}_{\text{rata-rata}} = \frac{10,301\% + 11,496\% + 11,680\%}{3} = 11,159\%$$

Lampiran 4

Perhitungan Statistika Data aktivitas imunoglobulin G (IgG) mencit jantan berdasarkan titer IgG pada pemberian Minyak Kelapa Murni berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan Uji Beda Nyata Jarak Duncan (BNJD)

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

Perlakuan	Hewan Uji			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
Kontrol negatif	1,40	1,40	1,40	4,20	1,40
VCO 7,8%	2,01	2,61	2,61	7,23	2,41
VCO 15,6%	2,61	3,21	3,21	9,03	3,01
VCO 31,2%	3,21	3,81	3,21	10,23	3,41
<u>Ol. Cocos</u>	2,61	1,40	2,01	6,02	2,00
Jumlah total				36,71	

Analisis Sidik Ragam (ASR)

A. Sumber Keragaman

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

Dimana : Y = Total hasil percobaan

μ = Nilai rata-rata harapan

ζ = Pengaruh kesalahan/galat

Sumber Keragaman adalah :

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

B. Perhitungan Derajat Bebas (Db)

1. $DbT = (r.t)-1 = (3.5) - 1 = 14$
2. $DbP = t - 1 = 5 - 1 = 4$
3. $DbG = DbT - DbP = 14 - 4 = 10$

C. Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK)

$$FK = \frac{Tj^2}{r.t} = \frac{36,71^2}{3.5} = \frac{1347,62}{15} = 89,84$$

$$\begin{aligned} 1. \quad JKT &= T(Y_{ij}^2) - FK \\ &= (1,40^2 + 1,40^2 + 1,40^2 + 2,01^2 + 2,61^2 + 2,61^2 + 2,61^2 + \\ &\quad 3,21^2 + 3,21^2 + 3,21^2 + 3,81^2 + 3,21^2 + 2,61^2 + 1,40^2 + \\ &\quad 2,01^2) - 89,84 \\ &= 98,90 - 89,84 \\ &= 9,06 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2. \quad JKP &= \frac{TP^2}{r} - FK \\ &= \frac{(4,2^2 + 6,02^2 + 7,23^2 + 9,03^2 + 10,23^2)}{3} - 89,84 \\ &= 97,44 - 89,84 \\ &= 7,6 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \text{JKG} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\
 &= 9,06 - 7,6 \\
 &= 1,46
 \end{aligned}$$

D. Perhitungan Kuadrat Tengah (KT)

$$1. \text{KTP} = \frac{\text{JKP}}{\text{DbP}} = \frac{7,6}{4} = 1,9$$

$$2. \text{KTG} = \frac{\text{JKG}}{\text{DbG}} = \frac{1,46}{10} = 0,14$$

E. Perhitungan Distribusi F (Fh)

$$Fh = \frac{\text{KTP}}{\text{KTG}} = \frac{1,9}{0,14} = 13,57$$

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)	4	7,6	1,9	13,57**	3,48	5,98
Galat (G)	10	1,46	0,14			
Total (T)	14	9,06				

Keterangan : (**) berbeda sangat nyata karena $Fh > Ft$ taraf 1%, H_0 diterima, yaitu ada pengaruh pemberian minyak kelapa murni terhadap aktivitas Immunoglobulin G (IgG) mencit jantan.

$$\text{Nilai tengah } (\bar{y}) = \frac{T_{ij}}{r \cdot l} = \frac{36,71}{3,5} = 10,49$$

$$\begin{aligned}
 \text{Koefisien Keragaman (KK)} &= \frac{\sqrt{KTG}}{y} \times 100\% \\
 &= \frac{\sqrt{0,14}}{2,44} \times 100\% \\
 &= 15,33\%
 \end{aligned}$$

Kesimpulan : Dari hasil analisis statistik diperoleh bahwa ada pengaruh pemberian minyak kelapa murni terhadap aktivitas Immunoglobulin G (IgG) mencit jantan. Dengan nilai KK yang besar (15,33%) maka analisis statistik dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Jarak Duncan (BNJD)

Analisis Lanjutan dengan Uji Beda Nyata Jarak Duncan (BNJD)

$$KTG = 0,14$$

$$SY_i = \sqrt{\frac{KTG}{r}} = \sqrt{\frac{0,14}{3}} = 0,21$$

Tabel 5. Nilai beda nyata metode Duncan

A	2	3	4	5
JN _{5%}	3,15	3,30	3,37	3,43
JN _{1%}	4,48	4,73	4,88	4,96
JNT _{5%}	0,66	0,69	0,70	0,72
JNT _{1%}	0,94	0,99	1,02	1,04

- Untuk jarak nyata 2

$$\begin{aligned} \text{JNT}_{5\%} &= \text{JN}_{5\%} \cdot \text{SYi} \\ &= 3,15 \cdot 0,21 = 0,66 \\ \text{JNT}_{1\%} &= \text{JN}_{1\%} \cdot \text{SYi} \\ &= 4,48 \cdot 0,21 = 0,94 \end{aligned}$$
- Untuk jarak nyata 3

$$\begin{aligned} \text{JNT}_{5\%} &= \text{JN}_{5\%} \cdot \text{SYi} \\ &= 3,30 \cdot 0,21 = 0,69 \\ \text{JNT}_{1\%} &= \text{JN}_{1\%} \cdot \text{SYi} \\ &= 4,73 \cdot 0,21 = 0,99 \end{aligned}$$
- Untuk jarak nyata 4

$$\begin{aligned} \text{JNT}_{5\%} &= \text{JN}_{5\%} \cdot \text{SYi} \\ &= 3,37 \cdot 0,21 = 0,70 \\ \text{JNT}_{1\%} &= \text{JN}_{1\%} \cdot \text{SYi} \\ &= 4,88 \cdot 0,21 = 1,02 \end{aligned}$$
- Untuk jarak nyata 5

$$\begin{aligned} \text{JNT}_{5\%} &= \text{JN}_{5\%} \cdot \text{SYi} \\ &= 3,43 \cdot 0,21 = 0,72 \\ \text{JNT}_{1\%} &= \text{JN}_{1\%} \cdot \text{SYi} \\ &= 4,96 \cdot 0,21 = 1,04 \end{aligned}$$

Perlakuan	A	B	C	D	E
Rata-rata	3,41	3,01	2,41	2,00	1,40

Keterangan : A = Diberi emulsi minyak kelapa murni (VCO) 31,2%
 B = Diberi emulsi minyak kelapa murni (VCO) 15,6%
 C = Diberi emulsi minyak kelapa murni (VCO) 7,8%%
 D = Diberi emulsi minyak kelapa (*Oleum Cocos*) 7,8%
 E = Kontrol negatif

Tabel 6. Perbandingan Antar Perlakuan

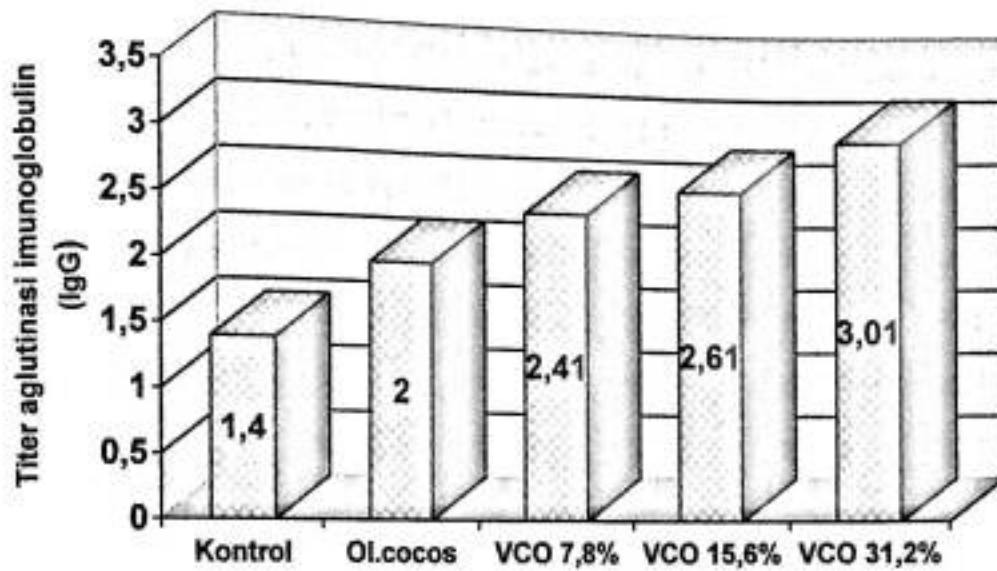
Perlakuan	Selisih	JNT		Keterangan
		p = 0,05	P = 0,01	
A - B	0,40	0,66	0,94	TS
A - C	1,00	0,69	0,99	SS
A - D	1,41	0,70	1,02	SS
A - E	2,01	0,72	1,04	SS
B - C	0,20	0,66	0,94	TS
B - D	0,61	0,69	0,99	TS
B - E	1,21	0,70	1,02	SS
C - D	0,41	0,66	0,94	TS
C - E	1,01	0,69	0,99	SS
D - E	0,60	0,66	0,94	TS

Ket : SS = Sangat signifikan

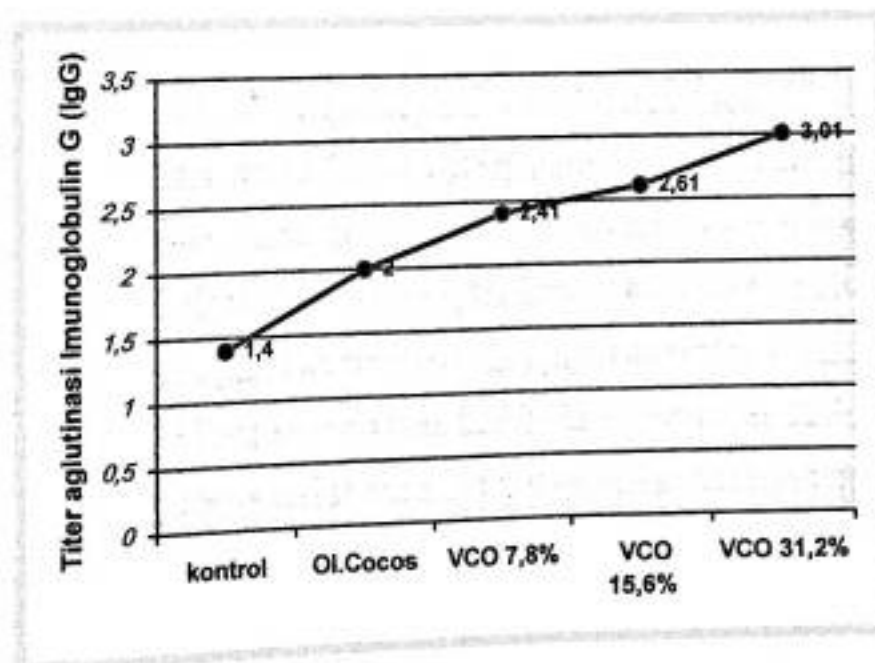
S = Signifikan

TS = Tidak signifikan

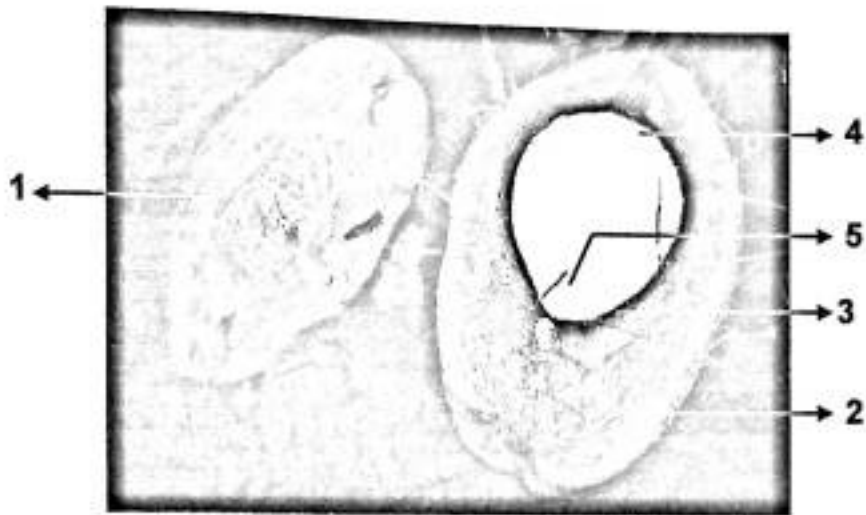
Gambar



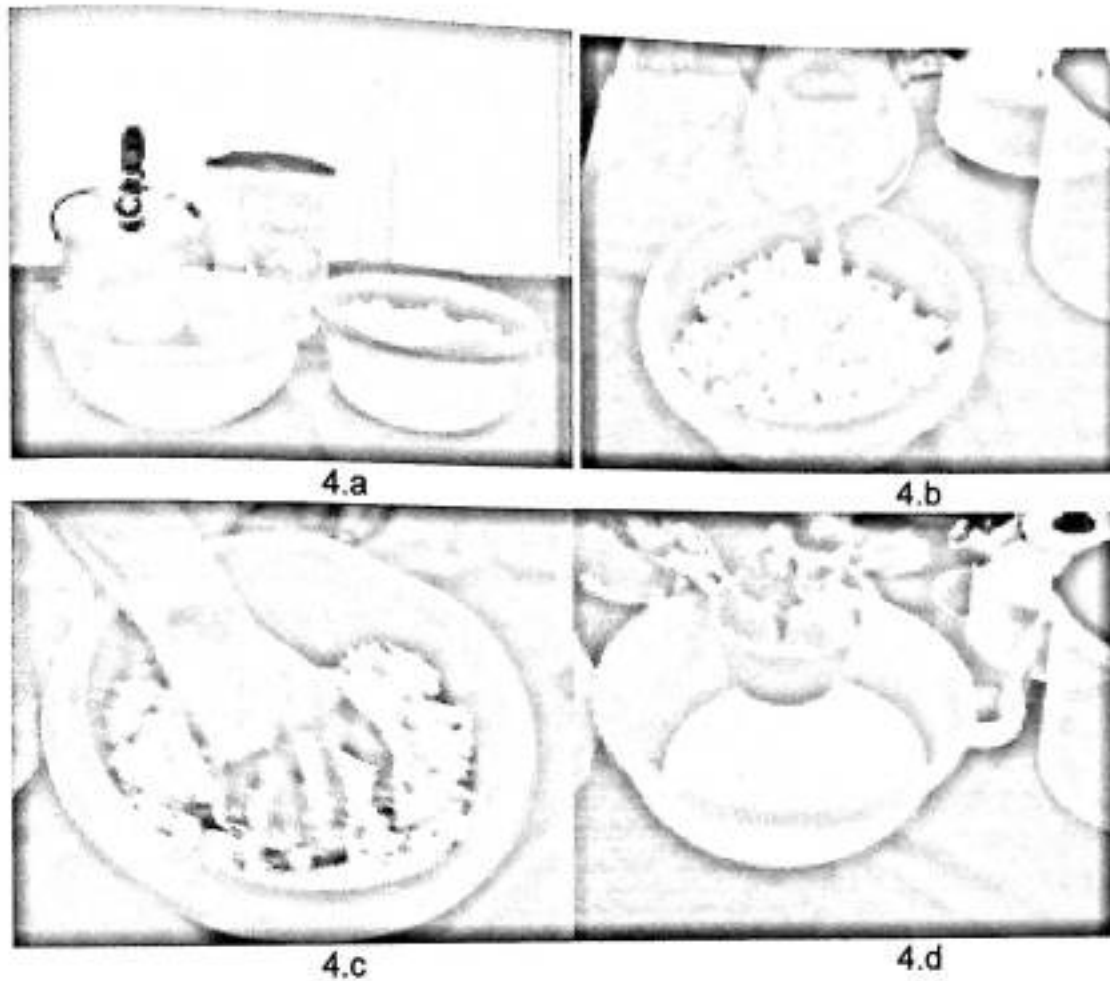
Gambar 1. Histogram perbandingan aktivitas imunoglobulin G (IgG) tiap Perlakuan



Gambar 2. Grafik Perbandingan aktivitas imunoglobulin G (IgG)



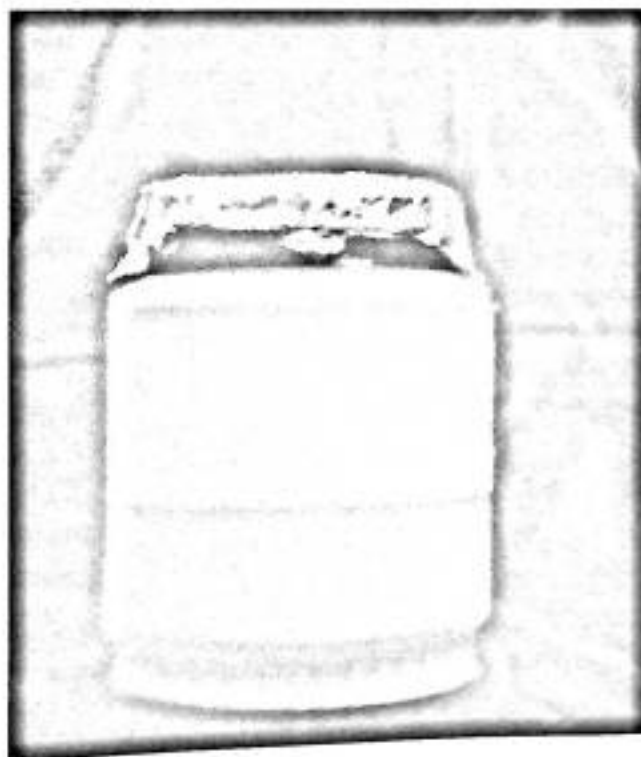
Gambar 3. Buah kelapa. (1) *Exocarp*, (2). *Mesocarp*, (3). *Endocarp*, (4). *Endosperm*, (5). *Embyro*.



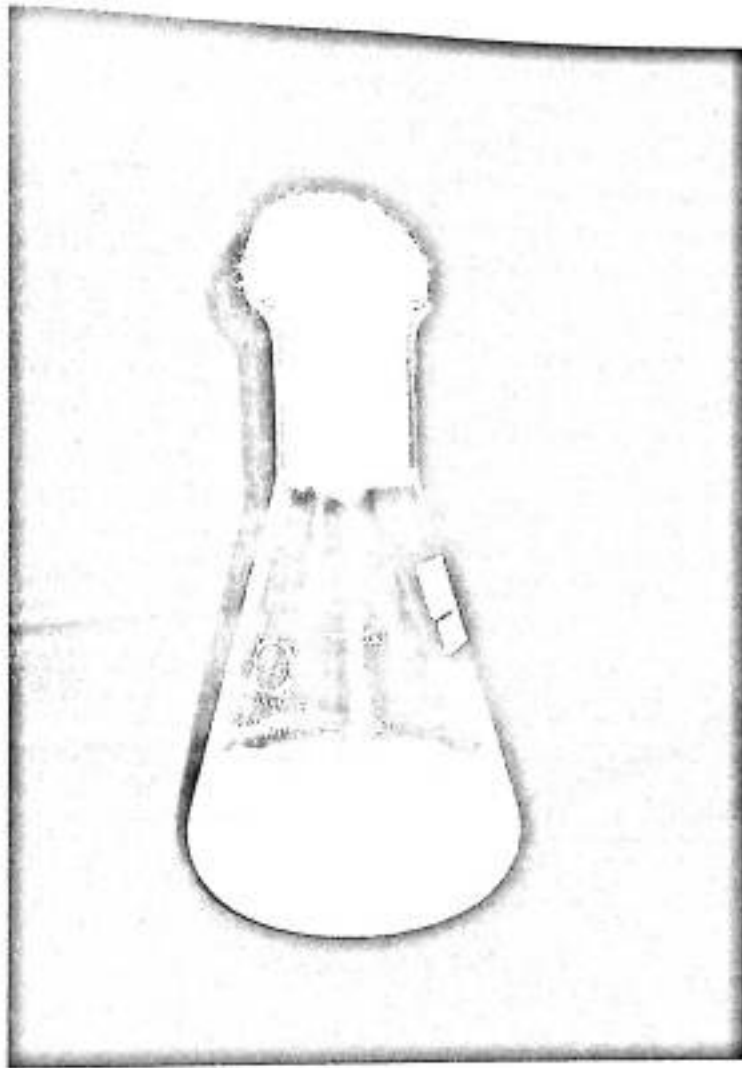
Gambar 4. Proses pemerasan (ekstraksi) buah kelapa . (4a) Alat dan bahan; (4b) Penambahan cairan penyari (air); (4c) Pengekstraksian secara mekanis (pemerasan) menggunakan tangan; (4d) Pemisahan (penyaringan) filtrat sari dengan ampas/residu



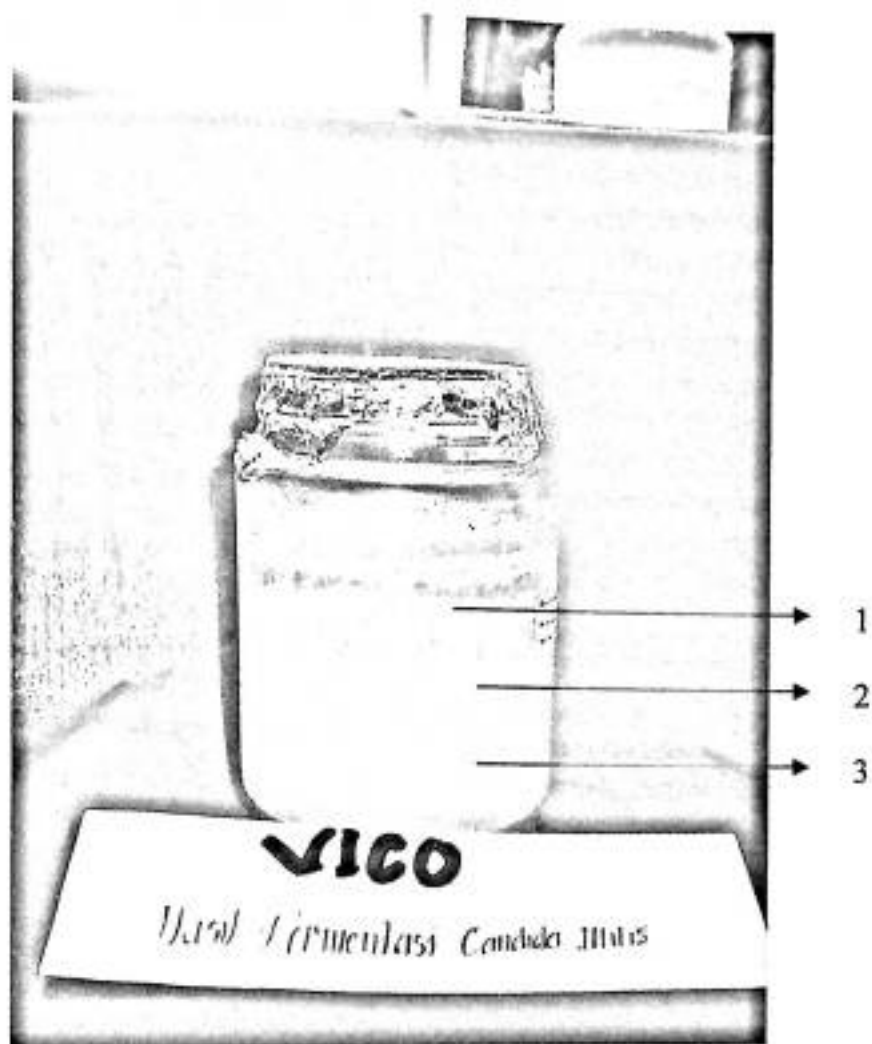
Gambar 5. Sari buah kelapa (Santan)



Gambar 6. Sari buah kelapa (Santan) yang telah mengalami pendiaman. (Bagian atas disebut kepala santan (krim) dan bagian bawah disebut skim)



Gambar 7. Starter *Candida utilis*



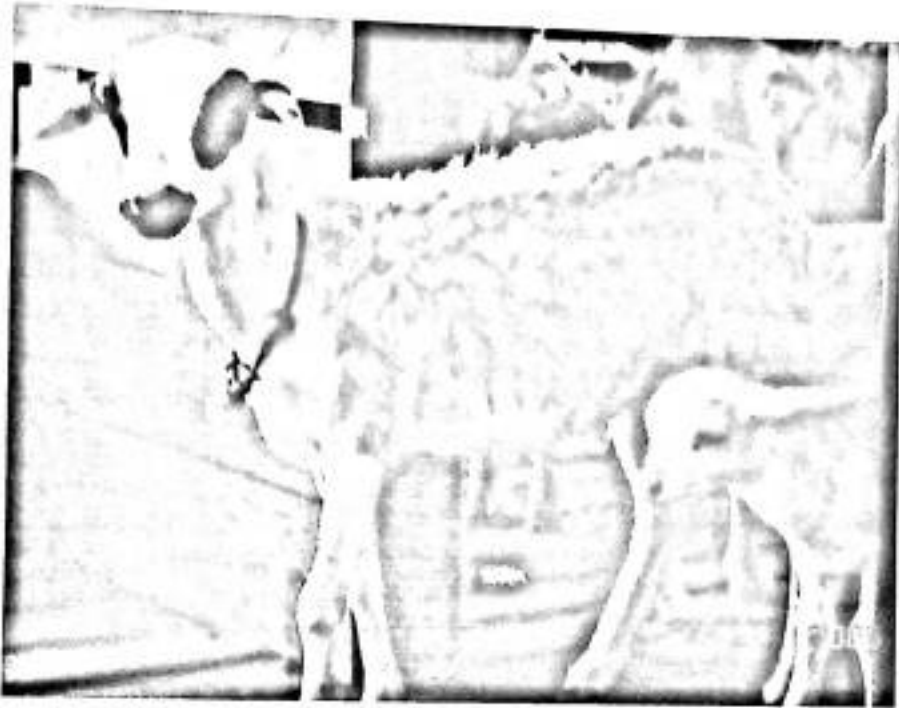
Gambar 8 . "Virgin coconut oil" hasil fermentasi 12 jam khamir
Candida utilis

Keterangan

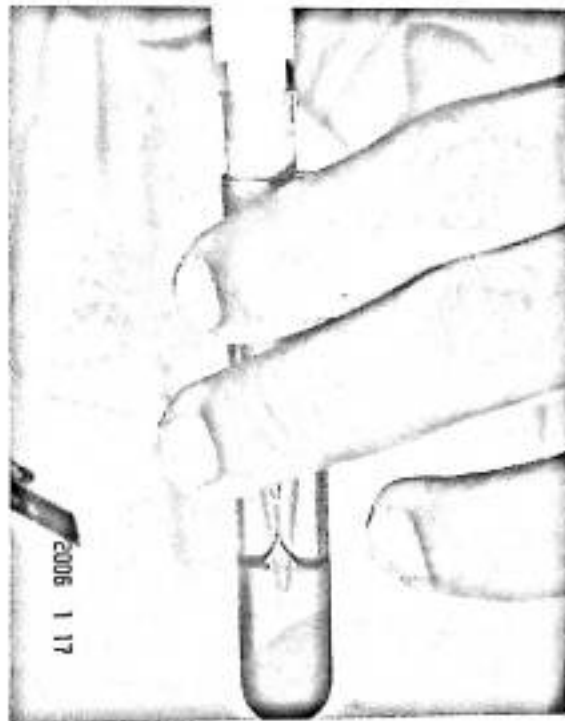
1. "Virgin coconut oil"
2. Blondo
3. Air



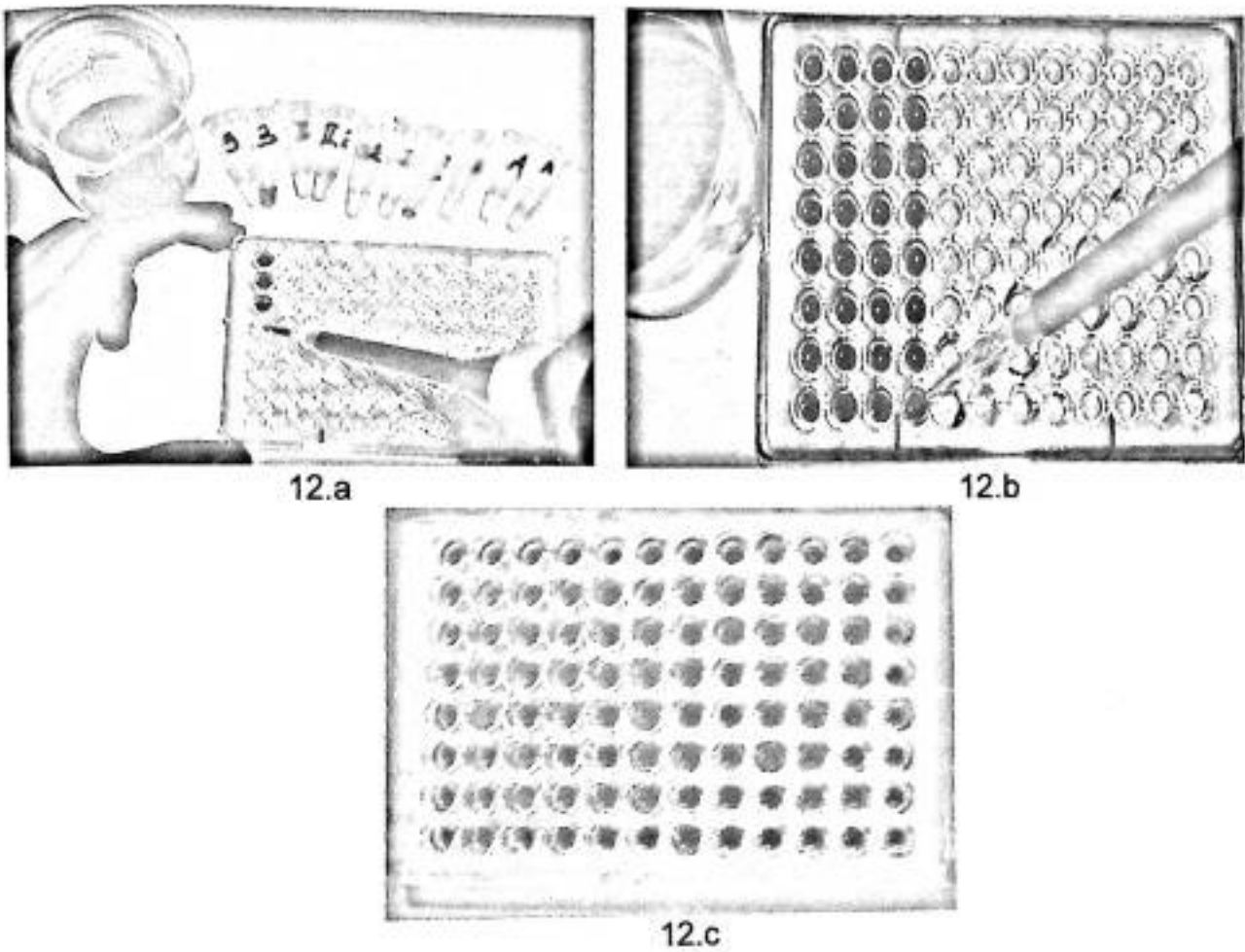
Gambar 9. Virgin Coconut Oil



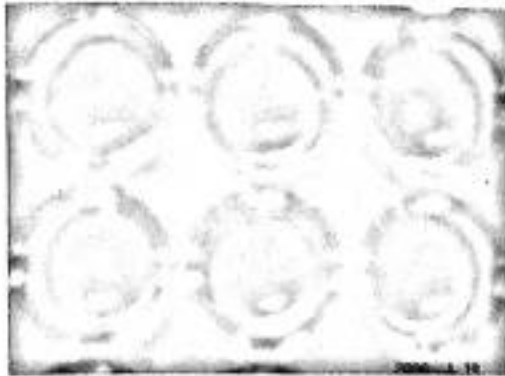
Gambar 10. Foto Domba sumber antigen sel darah merah domba (SDMD)



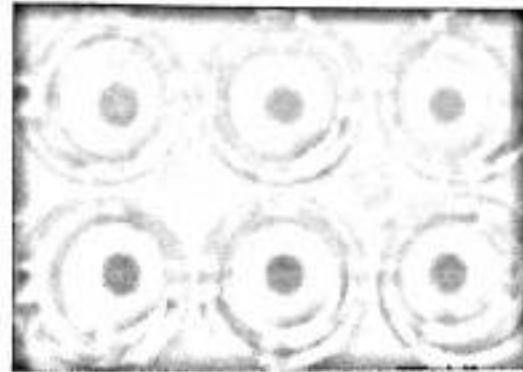
Gambar 11. Foto Pencucian Sel Darah Merah Domba (SDMD)



Gambar 12. Foto perlakuan pada sumur mikrotitrasi. Foto pengisian sumur mikrotitrasi (10a); Foto penambahan antigen (SDMD) ke dalam sumur yang sebelumnya telah diisi dengan PBS dan Serum darah mencit (10b); Sel darah merah domba (SDMD) sebelum diinkubasi dan didiamkan semalam (10c)

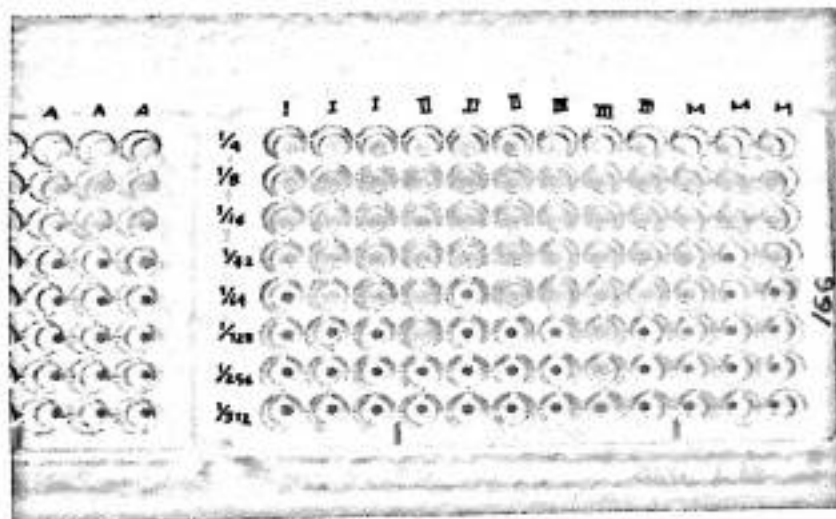


13.a



13.b

Gambar 13. Contoh hasil uji aktivitas imunoglobulin G (IgG). Titer teraglutinasi (Hasil positif) (13a); Titer tidak teraglutinasi (Hasil negatif) (13b)



Gambar 14. Data titer Imunoglobulin G (IgG) pada sumur mikrotitrasi