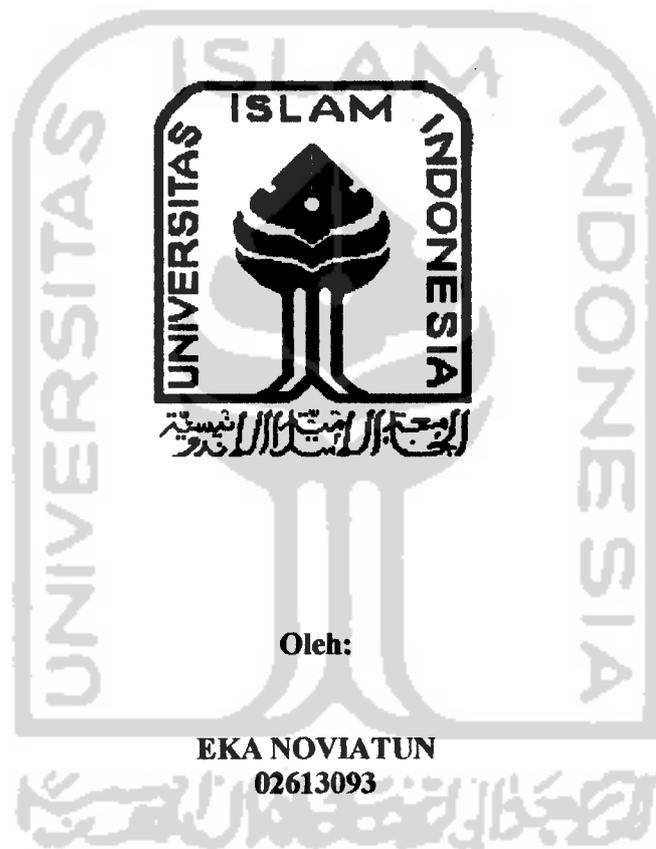


**AKTIVITAS IMUNOSTIMULAN EKSTRAK ETANOL DAUN
RAMBUTAN (*Nephellium lappaceum*, L) TERHADAP SRBC
PADA MENCIT**

SKRIPSI



Oleh:

**EKA NOVIATUN
02613093**

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
APRIL 2006**

SKRIPSI

**AKI
RA**

**AKTIVITAS IMUNOSTIMULAN EKSTRAK ETANOL DAUN
RAMBUTAN (*Nephellium lappaceum*, L) TERHADAP SRBC
PADA MENCIT**

Yang diajukan oleh

**EKA NOVIATUN
02613093**

Telah disetujui oleh :

Anj

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping



Sri Mulyaningtih, M. Si., Apt

Endang Darmawan, M. Si., Apt

Endang I

MOTTO

**JADIKANLAH SABAR DAN SHALAT SEBAGAI PENOLONGMU.
DAN SESUNGGUHNYA YANG DEMIKIAN ITU SUNGGUH BERAT,
KECUALI BAGI ORANG-ORANG YANG KHUSYU “.
(AL BAQARAH (2): 45)**

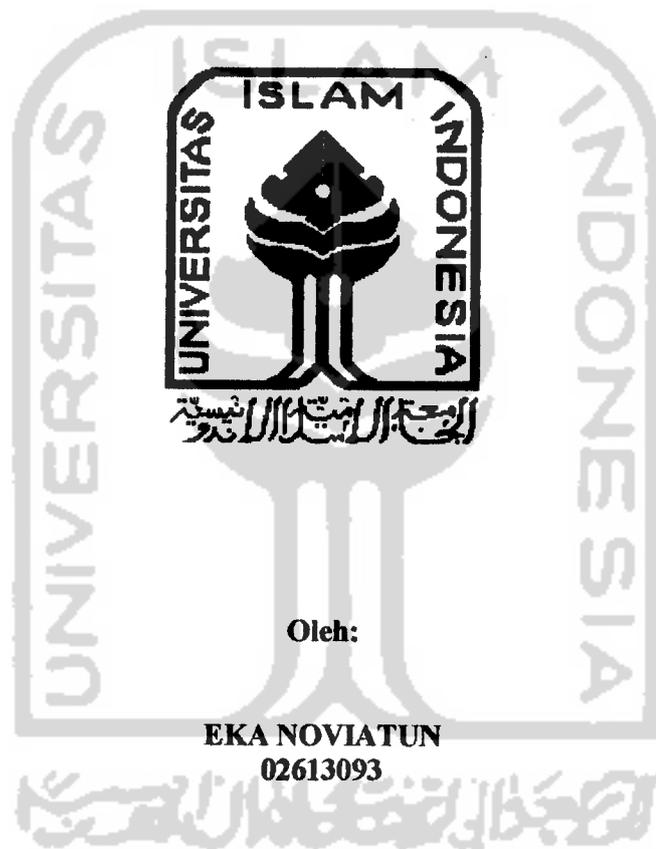
**ANDA TIDAK AKAN PERNAH TAHU APA YANG ANDA
LAKUKAN, SAMPAI ANDA MENCOBANYA.
(HENRY JAMES)**

**TERKADANG ALLAH SWT TIDAK MEMBERIKAN APA YANG
KITA INGINKAN, TAPI ALLAH SWT PASTI AKAN MEMBERIKAN
APA YANG KITA BUTUHKAN**

**BERAMALLAH UNTUK AKHIRATMU SEAKAN-AKAN ENGKAU
AKAN MATI BESOK, DAN BERAMALLAH UNTUK DUNIAMU
SEAKAN-AKAN ENGKAU AKAN HIDUP SELAMANYA**

**AKTIVITAS IMUNOSTIMULAN EKSTRAK ETANOL DAUN
RAMBUTAN (*Nephellium lappaceum*, L) TERHADAP SRBC
PADA MENCIT**

SKRIPSI



Oleh:

**EKA NOVIATUN
02613093**

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
APRIL 2006**

**AKTIVITAS IMUNOSTIMULAN EKSTRAK ETANOL DAUN
RAMBUTAN (*Nephellium lappaceum*, L) TERHADAP SRBC
PADA MENCIT**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat dalam mencapai gelar Sarjana
Farmasi (S.Farm.)
Program Studi farmasi fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia Yogyakarta



Oleh :

EKA NOVIATUN

02613093

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
APRIL 2006**

SKRIPSI

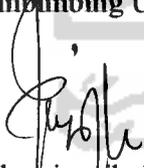
**AKTIVITAS IMUNOSTIMULAN EKSTRAK ETANOL DAUN
RAMBUTAN (*Nephellium lappaceum*, L) TERHADAP SRBC
PADA MENCIT**

Yang diajukan oleh

**EKA NOVIATUN
02613093**

Telah disetujui oleh :

Pembimbing Utama


Sri Mulyahingsih, M. Si., Apt

Pembimbing Pendamping


Endang Darmawan, M. Si., Apt

SKRIPSI

**AKTIVITAS IMUNOSTIMULAN EKSTRAK ETANOL DAUN
RAMBUTAN (*Nephellium lappaceum*, L) TERHADAP SRBC
PADA MENCIT**

OLEH

**EKA NOVIATUN
02613093**

Telah dipertahankan dihadapan panitia penguji skripsi
Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal: 17 April 2006

Ketua Penguji,



Sri Mulyaningih, M.Si., Apt

Anggota Penguji



Endang Darmawan, M.Si., Apt

Anggota Penguji



Dr. Ediat Sasmito, Apt

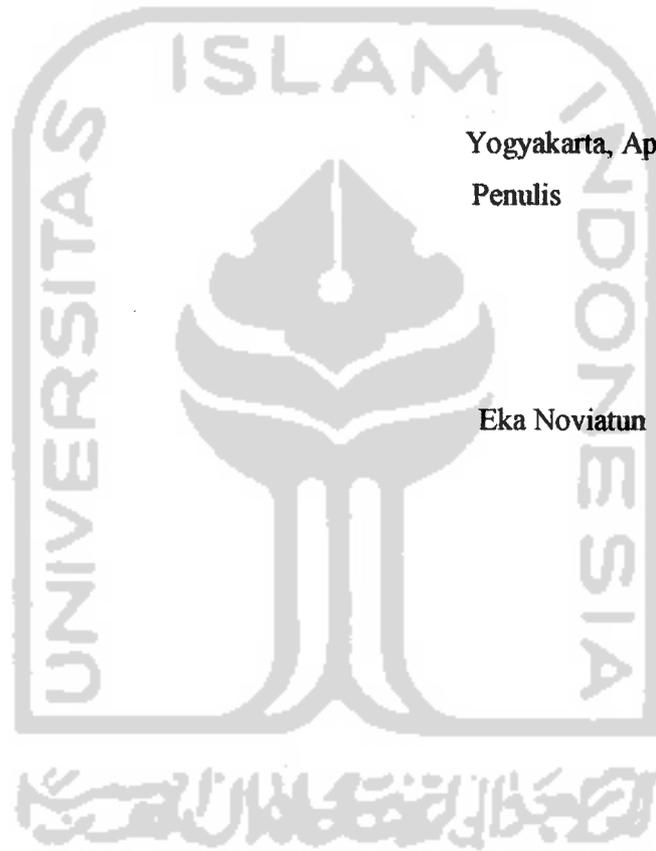
Mengetahui
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia



Jaka Nugraha, M.Si

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar sarjana di suatu perguruan tinggi dan sepanjang sepengetahuan saya, juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.



HALAMAN PERSEMBAHAN

- *Segala puji bagimu Ya Robbi 'ALLAH SWT' yang telah melimpahkan berbagai nikmat Iman, Islam, Ihsan, sehat, dan kemudahan dalam berbagai bentuk, hingga saat ini smoga masih kurengkuhi hidayahmu, syukurku pada-MU Ya Robbi...*
- *Shalawat dan salam bagimu Ya Rosulullah 'Muhammad SAW', yang telah menerangi bumi ini dengan cahaya Islam, smoga jejakmu tidak hanya dikenang tapi menjadi inspirasi setiap langkahku...*

Karya kecilku ini kupersembahkan untuk:

- *Mama dan Bapakku atas segala doa, kasih dan harapan yang tidak pernah habis, untuk segala pengorbanan untukku semoga ALLAH SWT membalas semua kebaikan dan mencatatnya sebagai pahala, amin.*
- *Adekkku tersayang 'Nunung Nurhayati' semoga slalu menjadi cahaya kehidupan, seperti namamu. Ingat de selangkah kita dekat pada-Nya seribu langkah Dia mendekat, semua yang dilakukan karena-Nya tidak akan sia-sia.*
- *Keluarga besar Mama dan Bapakku... betapa besar arti sebuah keluarga smoga ALLAH SWT memberi kesempatan untuk mengenal-Nya lebih dekat lagi, amin.*
- *Temen-temen di Darul hijrah, Ngruki, Pringgolayan, menjadi satu episode hidupku yang tidak ternilai harganya 'Ghirahku' untukmu, akan selalu ada cinta dan waktu untuk mengenangmu, kali pertama aku mengenal-Nya*
- *Temen –temen di asrama GOW untuk semua hari-hari indah dan kenangan yang terukir yang dirindu, ngantri mandi, masak mie, makan malam bersama ga lengkap tanpa krupuk he... he.. lembur belajar, tujuh belasan, and kartinian de el el... yang top bgt*

- *Anak-anak PC PMR Cherbon untuk semua pengalaman berharga & Ketupat, Smunam yang menggoreskan kenangan, masa-masa indah di sekolah.*
- *Sendowo, tempat pertama di Yogya yang kutapaki, kukenal indahnya sebuah persahabatan, merasakan serunya piala dunia & menikmati indahnya malam di malioboro asyik juga..*
- *Keluarga besar Kumala kost, teh Ria & Retna yang selalu siap memberiku bantuan smoga ALLAH SWT memberikan balasan kebaikan, mba Ratri makasih dah ngajarin all about komputer, Rosi yang slalu membuat rame suasana & memberiku banyak pelajaran, untuk adek-adekku di kost Lia, Astari, Ati, Venny, Tri, Putri, Lili, Desi, & Ani, terima kasih untuk kebersamaan yang indah.*
- *Sahabatku 'Tari' terima kasih untuk semua bantuan yang tak terhingga, semoga ALLAH SWT membalas semua kebaikanmu, terima kasih 'Yau can 'take me as I am', kritik dan saran langsung lewat penulis yach... lewat sms juga boleh, gratis, & mudah-mudahan beroleh pahala, amin.*
- *Temen-temenku Wuri, Damaz, Ayun, Aya, Ika, Nopi dan keluarga besar angkatan 2002 yang tidak bisa kusebutkan satu persatu, inilah jalan hidup kita smoga bisa menjadi farmasis-farmasis sejati.*
- *Temen-temen KKN Ririen & Sari, akhirnya terlewati juga satu step yang melelahkan.*
- *Dan semua tempat, waktu serta kesempatan yang menjadi pengalamanku yang berharga di kota Yogya.*

1. KATA PENGANTAR



Dengan mengucapkan syukur alhamdulillah kehadirat ALLAH SWT yang telah melimpahkan rahmat, hidayah serta inayahnya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Rambutan (*Nephelium Lappaceum*, L) Terhadap Respon Imun Spesifik Secara In Vivo Pada Mencit”.

Skripsi ini diajukan sebagai salah satu persyaratan dalam menyelesaikan studi sarjana farmasi (S. Farm.) pada pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.

Dalam penyusunan skripsi ini penulis menyadari sepenuhnya tidak terlepas dari bantuan dan dorongan dari berbagai pihak, oleh karena itu dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Sri Mulyaningsih, M.Si., Apt., selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan pengarahan, bimbingan serta saran selama penelitian sampai penyusunan skripsi ini.
2. Endang Darmawan, M.Si., Apt., selaku dosen pembimbing pendamping, yang telah memberikan pengarahan, bimbingan, serta arahan selama penelitian sampai penyusunan skripsi ini.
3. Dr. Ediati Sasmito, Apt., selaku penguji yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan.
4. Jaka Nugraha, M.Si, selaku dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia
5. Bapak dan Ibuku yang senantiasa memberikan doa, kasih sayang dan nasehat serta dorongan, tiada kata yang dapat menggantikan semua kebaikan mereka.
6. Pak Sumarno, Pak Riyanto, Mas Hartanto, Mba Diah Setia dan Mba Nura Eka sebagai laboran yang telah membantu dan memberikan pengarahan selama penulis melakukan penelitian.

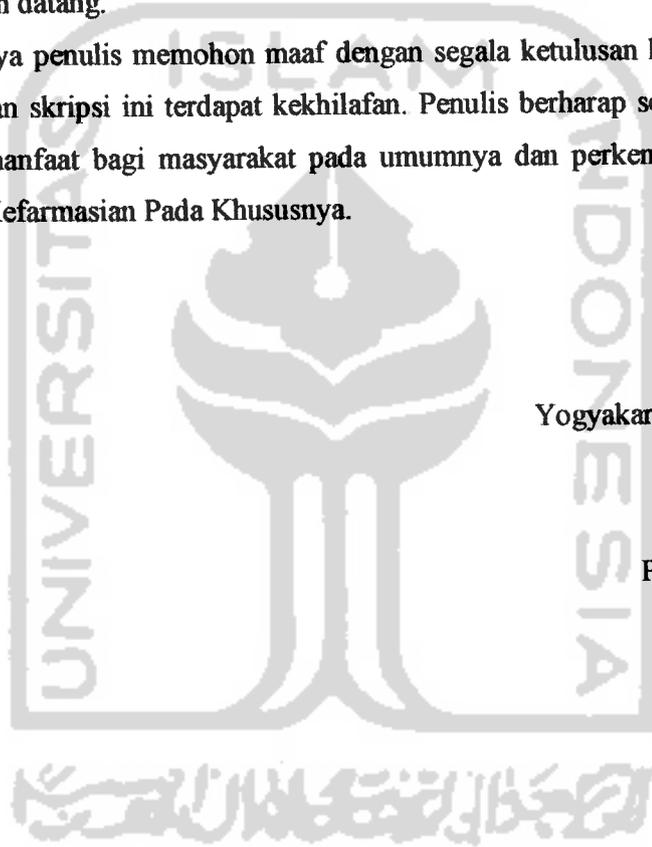
7. Rekan-rekan penelitian Widarika, Nopi Nadiasari, Damasari dan Mas Wawan yang telah memberikan bantuan dan memberikan motivasi selama melakukan penelitian.
8. Semua pihak yang telah membantu penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis juga menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu kritik dan saran dari pembaca dan semua pihak yang bersifat membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan penulisan di masa yang akan datang.

Akhirnya penulis memohon maaf dengan segala ketulusan hati sekiranya dalam penulisan skripsi ini terdapat kekhilafan. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi masyarakat pada umumnya dan perkembangan Ilmu Pengetahuan Kefarmasian Pada Khususnya.

Yogyakarta, April 2006

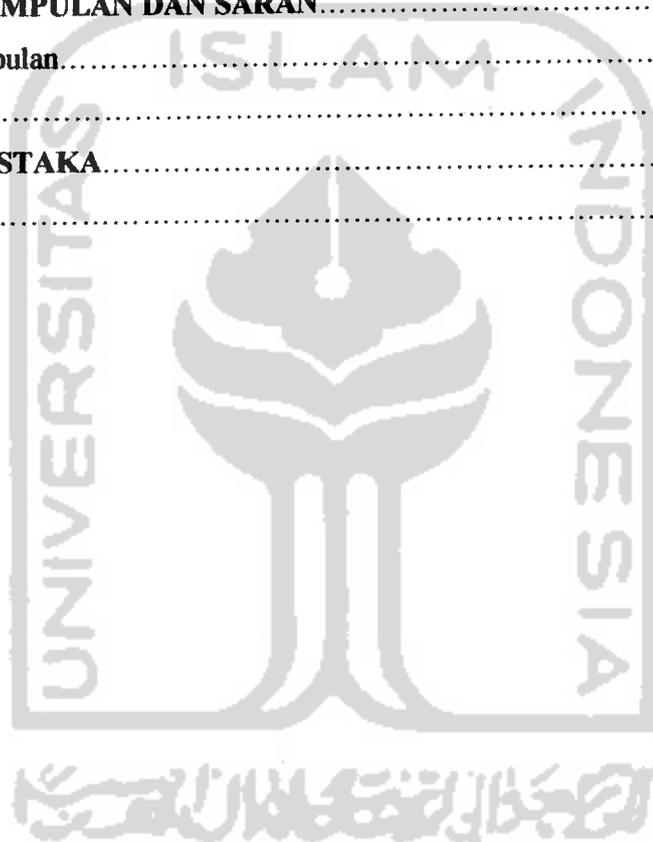
Penulis



DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
INTISARI	viii
ABSTRACT	ix
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan masalah.....	1
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II. STUDI PUSTAKA	4
A. Tinjauan Pustaka.....	4
1. Tanaman Rambutan.....	4
2. Penyarian.....	5
3. KLT.....	8
4. Saponin.....	9
5. Tanin.....	10
6. Sistem Imunitas.....	11
7. Antigen.....	16
8. Antibodi.....	18
9. Sel-sel Sistem Imun.....	21
10. Imunomodulasi.....	23
B. Keterangan empiris.....	25
BAB III. METODE PENELITIAN	26
A. Bahan dan Alat.....	26
B. Cara Penelitian.....	26
C. Analisis Hasil.....	28

BAB IV. PEMBAHASAN.....	29
A. Determinasi Tanaman.....	29
B. Penyiapan Bahan dan Penyarian Bahan.....	29
C. Deteksi Ekstrak Etanol Daun Rambutan.....	30
D. Perlakuan terhadap hewan uji.....	32
E. Pengamatan Nonfarmakologi.....	34
F. Pemeriksaan Titer Hemaglutinasi.....	36
G. Pemeriksaan Respon DTH.....	38
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	41
A. Kesimpulan.....	41
B. Saran.....	41
DAFTAR PUSTAKA.....	42
LAMPIRAN.....	45



DAFTAR TABEL

Tabel I.	Deteksi ekstrak etanol	31
Tabel II.	Penambahan BB rata-rata perhari.....	35
Tabel III	Hasil uji tukey data kenaikan BB.....	35
Tabel IV.	Efek ekstrak etanol terhadap titer hemaglutinasi.....	37
Tabel V.	Hasil uji Mann Whitney data titer hemaglutinasi.....	38
Tabel VI.	Efek ekstrak etanol terhadap respon DTH.....	39
tabel VII	Hasil uji Mann Whitney pada respon DTH.....	40



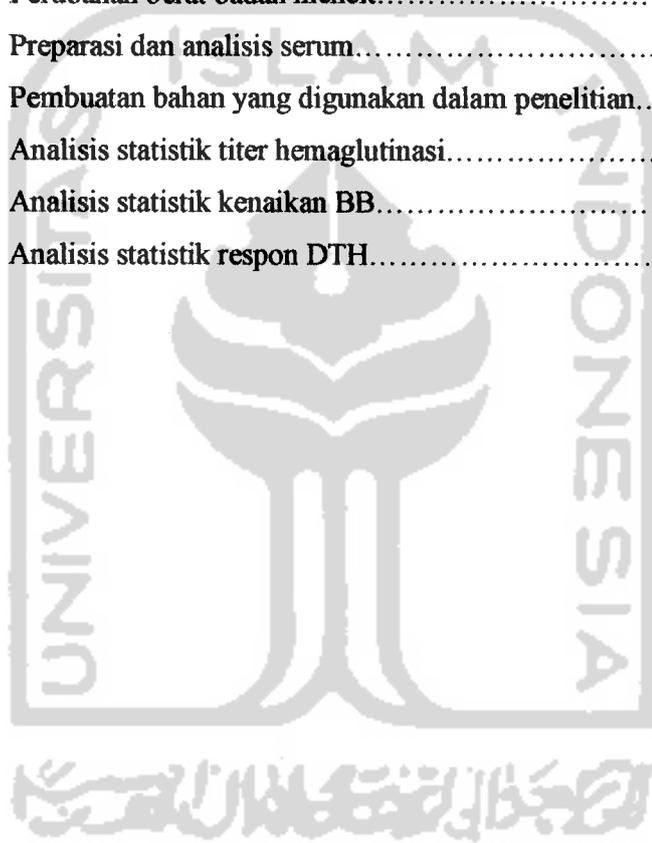
DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Struktur dasar sapogenin.....	10
Gambar 2.	Organ dan jaringan yang melindungi tubuh dari infeksi...	12
Gambar 3.	Aktivasi sel –T helper.....	15
Gambar 4.	Aktivasi sel T sitotoksik.....	16
Gambar 5.	Produksi antibodi oleh sel sistem imun.....	19
Gambar 6.	Aktivasi sel B untuk membuat antibodi.....	19
Gambar 7.	Aktivasi sel T.....	22
Gambar 8.	Sel B menjadi plasma sel.....	23
Gambar 9.	Gambar kromatogram ekstrak etanol.....	32



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Gambar tanaman rambutan.....	45
Lampiran 2.	Gambar titer hemaglutinasi	46
Lampiran 3.	Surat keterangan determinasi tanaman	47
Lampiran 4.	Data Titer Hemaglutinasi.....	48
Lampiran 5.	Data respon DTH.....	49
Lampiran 6.	Perubahan berat badan mencit.....	50
Lampiran 7.	Preparasi dan analisis serum.....	51
Lampiran 8.	Pembuatan bahan yang digunakan dalam penelitian.....	52
Lampiran 9.	Analisis statistik titer hemaglutinasi.....	53
Lampiran 10.	Analisis statistik kenaikan BB.....	58
Lampiran 11.	Analisis statistik respon DTH.....	62



AKTIVITAS IMUNOSTIMULAN EKSTRAK ETANOL DAUN RAMBUTAN (*Nephellium lappaceum*, L) TERHADAP SRBC PADA MENCIT

INTISARI

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek imunostimulan terhadap respon imun spesifik dari ekstrak etanol daun rambutan (*Nephellium lappaceum*, L), dengan seri kadar 100 mg/kg dan 200 mg/kg pada mencit secara peroral parameter yang digunakan pada penelitian ini adalah titer hemaglutinasi untuk respon imun humoral dan respon DTH (*Delayed Type Hypersensitivity*) untuk respon imun seluler dengan SRBC (*Sheep Red Blood Cells*) sebagai antigen, Mencit dibagi dalam 4 grup masing-masing 5 hewan uji, grup 1 tidak diberikan perlakuan, grup 2 sebagai kontrol diberi aquades sebagai pelarut secara peroral. Grup 3 dan 4 masing-masing diberikan ekstrak etanol daun rambutan dengan kadar 100 mg/kg dan 200 mg/kg yang diberikan setiap hari selama 7 hari, dan pada hari ke-0 hewan uji diimunisasi dengan 100 μ l dari 20 % SRBC intraperitoneal. Sampel darah diambil pada hari ke-7 untuk memperoleh serum. Serum diencerkan 2x bertingkat dengan PBS (*Phosphate Buffered Saline*) kemudian ditambah dengan 2 % SRBC untuk dilihat adanya hemaglutinasi. Pada hari ke-6 ketebalan kaki kanan mencit diukur dengan menggunakan plestimometer, lalu mencit diinjeksi dengan 20 μ l 1 % SRBC pada telapak kaki kanan. Ketebalan telapak kaki kanan mencit diukur kembali setelah 24 jam untuk mengetahui respon imun seluler. Pendekatan statistik yang digunakan untuk mengolah data penelitian adalah one way ANOVA dengan acak lengkap pola searah ($p \leq 0,05$) yang diikuti dengan uji Tukey. Dari hasil penelitian dan hasil uji statistika menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun rambutan dapat meningkatkan sistem imun spesifik terutama respon imun humoral pada dosis 100 mg/kg/hari dan 200 mg/kg/hari, akan tetapi tidak ada perbedaan yang signifikan antara kedua dosis tersebut. Ekstrak etanol secara kualitatif meningkatkan respon DTH tetapi pada analisis statistik tidak menunjukkan adanya peningkatan respon DTH yang signifikan.

Kata kunci: *Nephellium lappaceum*, L , respon imun spesifik , humoral , seluler, SRBC, respon DTH

THE IMMUNOSTIMULANT ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT OF *Nephelium lappaceum*, L AGAINST SRBC IN MICE

ABSTRACT

This research is to study the immunostimulant activity of ethanol extract of *Nephelium lappaceum* leaves, was administered orally at dose 100 mg/kg/day and 200 mg/kg/day to healthy mice. To determine the antibody titre was used haemagglutination method and to determine cellular immune responses was used delayed type hypersensitivity against sheep red blood cells. Mice were divided into 4 groups of 5, group 1 is normal group untreated, group 2 is control group received aquades solution only as vehicle, Group three and four were given ethanol extracts at dose 100 mg/kg/day and 200 mg/kg/day for 7 days, On 0 day the mice were immunized by injecting 100 μ l of 20 % of fresh sheep red blood cells suspension, intraperitoneally. Blood sample were collected from mice by retro orbital plexus on 7th day to obtain serum. The titre was determined by titrating serum dilution with PBS and SRBC 2 % and examined for haemagglutination. On sixth day, the thickness of the right hind footpad was measured using plethysmometer then exposed by injection of 20 μ l of 1 % SRBCs in the right hind footpad. Foot thickness was again measured after 24 hrs of the exposure. The difference between pre and post exposure foot thickness expressed in mm was taken as a measure of delayed type hypersensitivity (DTH). Statistical analysis were used to analyse the data using one way of variance (ANOVA) followed by tukey test ($p \leq 0.5$). From the statistical analysis showed that ethanol extract *Nephelium lappaceum* leaves enhance the specific immune response especially humoral immune response at the dose 100 mg/kg/day and 200 mg/kg/day. There is no difference between both the doses of ethanol extract. The ethanol extract of *Nephelium lappaceum* leaves enhance the DTH response but in Statistical analysis did not show significantly enhance the DTH response correlated with cell mediated immunity.

Key words : *Nephelium lappaceum*, L, specific immune response, humoral, cellular, SRBC, DTH response

BAB 1

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Lingkungan disekitar manusia mengandung berbagai jenis unsur patogen, misalnya bakteri, virus, fungus, protozoa dan parasit yang dapat menyebabkan infeksi pada manusia. Infeksi yang terjadi pada orang normal umumnya singkat dan jarang meninggalkan kerusakan permanen, hal ini disebabkan tubuh manusia memiliki sistem yang disebut sistem imun yang memberikan respon dan melindungi tubuh terhadap unsur-unsur patogen tersebut. Respon imun sangat tergantung pada kemampuan sistem imun untuk mengenali molekul asing (antigen) yang terdapat pada patogen potensial dan kemudian membangkitkan reaksi yang tepat untuk menyingkirkan sumber antigen bersangkutan (Kresno, 2001).

Oleh karena itu peranan sistem imun sangat penting sekali untuk menjaga tubuh agar terhindar dari segala macam penyakit yang disebabkan berbagai antigen yang berada disekitar lingkungan yang semakin padat sehingga kontak dengan berbagai antigen sangat mungkin terjadi dan tidak dapat dihindarkan. Aktivitas sistem imun dalam tubuh bekerja sangat baik sekali tetapi pada keadaan tertentu sistem imun dapat terganggu dan mengakibatkan menurunnya respon imunitas tubuh kita, sehingga rentan sekali terjangkit penyakit yang disebabkan berbagai antigen dari luar tubuh .

Respon imun dapat berupa respon imun spesifik dan non spesifik, adapun respon imun spesifik dapat dibedakan menjadi respon imun humoral dan respon imun seluler. Gangguan respon imun humoral dapat juga diuji in vivo dengan mengukur kadar antibodi dalam darah setelah dirangsang dengan antigen tertentu, misalnya dengan menggunakan vaksin (Kresno, 2001).

Ketika individu terpapar antigen untuk yang pertama kali antibodi yang melawan antigen tersebut dideteksi dalam serum dalam waktu beberapa hari atau beberapa minggu tergantung pada asal dan dosis antigen serta cara pemberiannya (misalnya oral atau parenteral). Konsentrasi antibodi serum terus meningkat

selama beberapa minggu dan kemudian menurun, konsentrasi mungkin turun ke tingkat sangat rendah. Antibodi yang pertama kali dibentuk adalah IgM diikuti oleh IgG, IgA atau keduanya. Kadar IgM cenderung turun lebih cepat daripada kadar IgG (Jawetz et al, 2001).

Penggunaan sediaan herbal menjadi sangat populer untuk berbagai jenis penyakit dan kondisi infeksi, terutama yang mempengaruhi mekanisme pertahanan tubuh. Agen imunomodulator yang berasal dari tanaman dapat meningkatkan respon imun terhadap serangan organisme dengan mengaktifkan sistem imun (Fulzele *et al*, 2002). Herbal medicine atau tanaman obat tradisional sedang trend di dunia, karena banyak memiliki kelebihan dari obat modern, begitu pula di Indonesia sedang digalakkan penelitian dan pengembangan tanaman obat.

Rambutan sebagai salah satu tanaman buah yang sangat digemari karena rasanya yang manis juga digunakan digunakan untuk tujuan pengobatan. Buah berfungsi sebagai anticacing (*vermifuge*), *febrifuge*, astringent, sakit perut dan juga digunakan untuk melawan diare dan disentri. Kulit batang berfungsi sebagai astringen dan untuk mengurangi *thrush*. Decocta dari akar dapat digunakan untuk *febrifuge* (Anonim, 2005 ; Morton, 1987).

Ekstrak metanol dari daging buah/perikarp rambutan dapat memperlama perkembangan lesi pada kulit dan menurunkan kematian dari mencit yang diinfeksi HSV-1 (Nawawi, 1999), serta secara empiris daun rambutan sering digunakan untuk mengobati demam, diare, dan menghilangkan sakit kepala (Morton, 1987). Daun rambutan mengandung tanin dan saponin (Dalimartha, 2003), yang diduga memiliki aktivitas sebagai imunostimulan. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui adanya kemungkinan aktivitas imunostimulan ekstrak etanol daun rambutan terhadap respon imun spesifik humoral dan seluler.

B. Perumusan Masalah

- 1) Golongan senyawa apa yang terkandung pada ekstrak etanol daun rambutan?
- 2) Apakah ekstrak etanol daun rambutan memiliki aktivitas imunostimulan terhadap respon imun spesifik humoral dan respon imun spesifik seluler?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek imunostimulan dari ekstrak etanol daun rambutan dengan parameter titer hemaglutinasi (respon imun humoral) dan respon imun seluler dengan parameter respon DTH.

D. Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat baik itu secara umum maupun secara khusus. Secara khusus diharapkan dapat bermanfaat di bidang farmasi untuk pengembangan sediaan terutama khasiat daun rambutan dan pemanfaatan tanaman rambutan, dan secara umum semoga hasil penelitian ini dapat menambah khazanah ilmu pengetahuan dan memberi kontribusi dalam mengembangkan tanaman obat.

BAB II STUDI PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman rambutan (*Nephelium lappaceum*, L)

a. Klasifikasi ilmiahnya sbb:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Order	: Sapindales
Family	: Sapindaceae
Genus	: <i>Nephelium</i>
Species	: <i>N. lappaceum</i> L. (Anonim, 2005)

b. Nama daerah

1. Sumatera : rambutan, rambot, rambut, rambuteun, rambuta, jailan, folui, bairabit, puru biancak, p.biawak, hahujam, kakapas, likes, takujung alu.
2. Jawa : rambutan, corogol, tundun, bunglon, buwa, buluwan.
3. Nusa tenggara : buluan, rambuta.
4. Kalimantan : rambutan, siban, banamon, beriti, sanggalaong, beliti, maliti, kayokan, bengayau, puson.
5. Sulawesi : rambutan, rambuta, rambusa, barangkasa, bolangat, balatu, balatung, walatu, wayatu, wilatu, wulangas, lelamu, lelamun, toleang.
6. Maluku : rambutan, rambuta.

c. Uraian tumbuhan

Rambutan banyak ditanam sebagai pohon buah, kadang-kadang ditemukan liar. Tumbuhan tropis ini memerlukan iklim lembab dengan tanaman dataran rendah, hingga ketinggian 300-600 dpl. Rambutan berbunga pada akhir musim kemarau dan membentuk buah pada musim hujan, sekitar November sampai februari. Ada banyak jenis rambutan seperti ropiah, simacan, sinyonya, lebak

bulus, dan binjai. Perbanyak dengan biji, tempelan tunas, atau dicangkok (Dalimartha, 2003).

d. Kandungan kimia

Daun rambutan mengandung tanin dan saponin. Buah mengandung karbohidrat, protein, lemak, fosfor, besi, kalsium, dan vitamin C. Kulit buah mengandung tanin dan saponin. Biji mengandung lemak dan polifenol. Kulit batang mengandung tanin, saponin, flavonoida, *pectic substances*, dan zat besi (Dalimartha, 2003; Morton, 1987).

e. Indikasi

Daun digunakan untuk mengatasi diare dan demam, tumbukan daun rambutan yang diletakkan dipelipis dapat meringankan sakit kepala serta menghitamkan rambut, akar digunakan untuk demam, biji digunakan untuk mengatasi kencing manis. Kulit buah digunakan untuk mengatasi disentri dan demam. Kulit kayu digunakan untuk sariawan (Dalimartha, 2003 ; Morton, 1987).

2. Penyarian

Proses penyarian dapat dipisahkan menjadi : pembuatan serbuk, pembasahan, penyarian, dan pemekatan. Secara umum penyarian dapat dibedakan menjadi infundasi, maserasi, perkolasi, dan destilasi uap. Dari keempat macam penyarian tersebut sering dimodifikasi, seperti misalnya maserasi dapat disempurnakan dengan digesti (Anonim, 1986).

Metode ekstraksi dapat dikelompokkan sebagai berikut ;

1. Maserasi adalah proses pengekstrakkan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokkan atau pengadukkan pada temperatur ruangan (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukkan yang kontinyu (terus menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Anonim, 2000).
2. Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan

tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/ penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Anonim, 2000).

3. Digesti adalah maserasi kinetik pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50 °C (Anonim, 2000).
4. Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (benjana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98 °C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Anonim, 2000).
5. Destilasi uap adalah ekstraksi senyawa kandungan menguap (minyak atsiri) dari bahan (segar atau simplisia) dengan uap air berdasarkan peristiwa tekanan parsial senyawa kandungan menguap dengan fase uap air dari ketel secara kontinyu sampai sempurna dan diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran (senyawa kandungan menguap ikut terdestilasi) menjadi destilat air bersama kandungan yang memisah sempurna atau memisah sebagian (Anonim, 2000).
6. Soxhletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Anonim, 2000).

Pada metode soxhletasi, serbuk yang akan diekstraksi diletakkan pada selongsong yang terbuat dari kertas saring dan ditempatkan pada bagian dalam alat soxhlet, kemudian dipasang labu alas bulat yang sesuai dengan ukurannya, diisi pelarut pada bagian atas soxhlet, sehingga terjadi 2 kali sirkulasi. Pada bagian atas dipasang pendingin balik, Jika pelarut dididihkan, uap akan keluar keatas melalui pipa menuju ke pendingin balik dan akan dikondensasikan, uap yang telah dikondensasikan akan turun sebagai tetesan pelarut dan kemudian jatuh ke selongsong yang berisi bahan yang diekstraksi dan membawa zat aktif dari bahan yang diekstraksi, Larutan akan terkumpul dan setelah larutan mencapai tinggi maksimal dari soxhlet, secara otomatis larutan akan turun mengalir ke dalam labu alas bulat, dengan demikian bahan dikatakan telah mengalami

satu kali sirkulasi. Proses ini akan terjadi secara terus menerus secara otomatis sampai ekstraksi dapat diambil dari larutan yang terkumpul dalam labu alas bulat (Voight, 1994).

Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat bahan, daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna (Ansel, 1989).

3. Kromatografi Lapis Tipis.

Kromatografi didefinisikan sebagai prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi diferensial dinamis yang terdiri dari dua fasa atau lebih, salah satunya bergerak secara berkesinambungan dalam arah tertentu dan didalamnya zat-zat itu menunjukkan perbedaan mobilitas yang disebabkan adanya perbedaan dalam adsorpsi, partisi, kelarutan, tekanan uap, ukuran molekul atau kerapatan muatan ion. Dengan demikian masing-masing zat dapat diidentifikasi/ditetapkan dengan metode analitik (Anonim, 1995).

Kromatografi Lapis Tipis merupakan sistem kromatografi yang pemakaiannya paling luas pada fitokimia karena dapat diterapkan hampir pada setiap golongan senyawa, kecuali pada kandungan yang sangat atsiri. Cara ini dapat dipakai pada pemeriksaan pendahuluan ekstrak kasar dari kebanyakan senyawa dan juga sebagai cara pemisahan dan deteksi pendahuluan (Harborne, 1987).

Kromatografi sangat populer digunakan karena beberapa alasan :

- 1) Waktu yang dibutuhkan sangat singkat,
- 2) Selain untuk deteksi kualitatif, KLT juga dapat digunakan untuk semi kuantitatif,
- 3) Dengan prosedur pemisahan, KLT dapat digunakan untuk analisis kombinasi obat dan preparasi fitokimia,
- 4) KLT dapat didokumentasikan (Wagner, 1989).

berfluoresensi maka bahan penyerap yang diberi indikator fluoresensi akan menampakkan bercak yang berwarna gelap.

Cara biologi dapat digunakan untuk senyawa yang mempunyai aktivitas biologi seperti antibakteri atau dapat menghidrolisis. Lapisan hasil pemisahan dialiri dengan suspensi bakteri maka pada bercak tersebut tidak tampak adanya pertumbuhan bakteri.

Disamping cara tersebut identifikasi dapat dilakukan dengan membandingkan harga Rf baku senyawa murni. Harga Rf didefinisikan sebagai perbandingan jarak yang ditempuh oleh senyawa dari titik awal terhadap jarak yang ditempuh fasa gerak dari titik awal. Angka Rf berkisar antara 0,00 sampai 1,00 dan hanya dapat ditentukan dengan dua desimal dan hRf adalah angka Rf dikalikan faktor 100 (h) menghasilkan nilai berjarak 1 sampai 100 (Stahl, 1985).

Faktor-faktor yang mempengaruhi gerakan bercak dan harga Rf dalam kromatografi lapis tipis antara lain sebagai berikut :

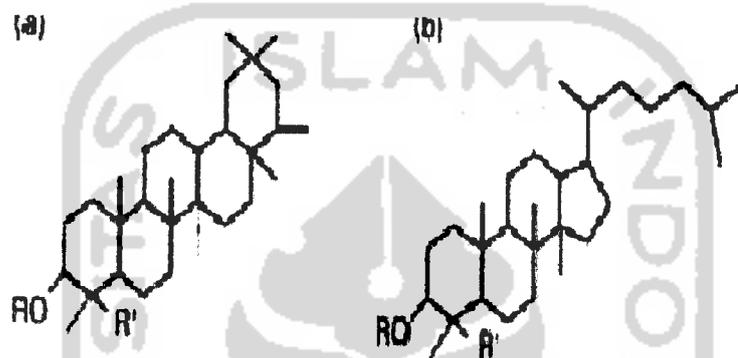
- 1) Struktur kimia dari senyawa yang dipisahkan,
- 2) sifat dari penyerap dan derajat aktivitasnya,
- 3) tebal dan kerataan dari lapisan penyerap,
- 4) derajat kemurnian fasa gerak,
- 5) derajat kejenuhan uap dalam bejana pengembangan yang digunakan,
- 6) jumlah cuplikan yang digunakan,
- 7) suhu.

4. Saponin

Saponin mula-mula diberi nama demikian karena sifatnya yang menyerupai sabun (bahasa latin *sapo* berarti sabun). Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang akan menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Dalam larutan yang sangat encer saponin sangat beracun pada ikan, dan tumbuhan yang

mengandung saponin telah digunakan sebagai racun ikan selama beratus-ratus tahun. Beberapa saponin bekerja sebagai antimikroba juga (Robinson, 1991).

Dikenal dua jenis saponin yaitu glikosida triterpenoid alkohol dan glikosida steroid tertentu yang mempunyai rantai samping spirorektal. Kedua jenis saponin ini larut dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam eter. Aglikonnya, disebut sapogenin, diperoleh dengan hidrolisis dalam suasana asam atau hidrolisis memakai enzim, dan tanpa bagian gula ciri kelarutannya sama dengan ciri sterol lain (Robinson, 1991).



Gambar 1. Struktur dasar sapogenin a) triterpenoid dan b) steroid
(Francis et al, 2002)

Saponin merupakan senyawa aktif permukaan. Senyawa aktif permukaan umumnya menghambat organisme dengan dengan cara merusak, mengganggu keutuhan atau fungsi membran sel. Dengan rusaknya membran sel maka mengakibatkan hilangnya kandungan sitoplasma dan pada kadar tinggi menyebabkan lisisnya sel (Nogrady, 1992).

5. Tanin

Tanin adalah sejenis kandungan tumbuhan yang bersifat fenol mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit, tetapi secara kimia tanin tumbuhan dibagi menjadi dua golongan. Tanin kondensasi atau tanin katekin lebih penting dari segi penyamakan, tanin terhidrolisiskan mengandung ikatan ester yang dapat terhidrolisis jika dididihkan dalam asam klorida encer (Robinson, 1991)

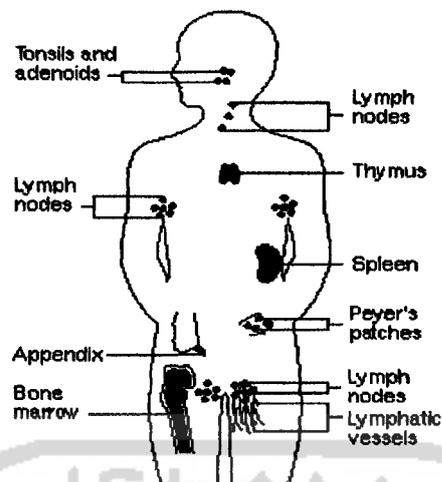
Tanin terhidrolisiskan biasanya berupa senyawa amorf, higroskopis, berwarna coklat kuning yang larut dalam air (terutama air panas) membentuk larutan koloid bukan larutan sebenarnya. Makin murni tanin, makin berkurang kelarutannya dalam air dan makin mudah diperoleh dalam bentuk kristal. Tanin ini larut pula, setidak-tidaknya sampai batas tertentu dalam pelarut organik yang polar tetapi tidak larut dalam pelarut organik nonpolar seperti benzen atau kloroform. Kadar tanin yang tinggi mungkin mempunyai arti pertahanan bagi tumbuhan, membantu mengusir hewan pemangsa tumbuhan, selain itu, kadar tanin yang tinggi dianggap mempunyai pengaruh yang merugikan terhadap nilai gizi tumbuhan makanan ternak. Senyawa aktif dalam tumbuhan obat tertentu mungkin tanin. Beberapa tanin terbukti mempunyai aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor, dan menghambat enzim seperti 'reverse' *transcriptase* dan DNA *topoisomerase*. Tanin lainnya ada yang dapat meracuni hati (Robinson, 1991).

6. Sistem imunitas

Yang dimaksudkan sistem imun ialah semua mekanisme yang digunakan badan untuk mempertahankan keutuhan tubuh sebagai perlindungan terhadap bahaya yang dapat ditimbulkan berbagai bahan dalam lingkungan hidup (Baratawidjaja, 2000).

Lingkungan hidup kita mengandung berbagai mikroorganisme yang potensial masuk kedalam tubuh (misalnya bakteri, virus). Untungnya tubuh yang sehat mampu mempertahankan diri terhadap infeksi mikroorganisme melalui mekanisme non-spesifik (bawaan) dan spesifik (didapat) (Underwood, 1999).

Jaringan dan organ yang merupakan sistem imun berserakan di seluruh tubuh. Pada manusia (dan mamalia lain), organ-organ pusat sistem tersebut ialah sumsum tulang dan timus. Sumsum tulang mengandung sel-sel batang yang menghasilkan seluruh sel darah. Kelima macam sel darah putih itu masing-masing memainkan sedikit peranan penting dalam sistem imunitas. Tetapi peranan utama diambil oleh monosit (yang berkembang dalam jaringan menjadi makrofag) dan khususnya limfosit (Sugiri & Soemarni, 1992).



Gambar 2. Organ dan Jaringan yang melindungi tubuh dari infeksi (Anonim, 2003^a).

Sel imun dan molekul asing memasuki nodus limfa melewati pembuluh darah atau pembuluh limfa, semua sel imun keluar dari sistem limfatik dan kembali keperedaran darah. Dalam peredaran darah limfosit ditransportasikan ke jaringan tubuh ketika melihat adanya antigen asing (Anonim, 2003^a).

6.a. Sistem imun non spesifik

Sistem imun non spesifik merupakan pertahanan tubuh terdepan dalam menghadapi serangan berbagai mikroorganisme oleh karena dapat memberikan respon langsung terhadap antigen terlebih dahulu sebelum memberikan responnya. Sistem tersebut disebut non spesifik karena tidak ditunjukkan terhadap mikroorganisme tertentu, telah ada dan siap berfungsi sejak lahir yang berupa permukaan tubuh dan berbagai komponen dalam tubuh (Baratawidjaja, 2000).

Ciri imunitas non-spesifik adalah: sel-sel efektor sistem imun non spesifik mempunyai keterbatasan dalam membedakan satu mikroba dengan mikroba lain dan sifatnya sterotip, yaitu fungsinya terhadap berbagai jenis mikroorganisme selalu sama (Kresno, 2001).

Berbagai faktor dari dalam maupun luar dari tubuh dapat berpengaruh terhadap sistem imun non spesifik diantaranya adalah perbedaan spesies, individu dan pengaruh suhu, pengaruh hormon, faktor nutrisi serta flora bakteri normal.

Pertahanan dalam respon imun non spesifik dapat berupa :

6.a.1. Pertahanan Fisik atau Mekanik

Dalam sistem pertahanan fisik atau mekanik ini, kulit, selaput lendir, silia saluran nafas, batuk dan bersin, akan mencegah masuknya berbagai kuman patogen kedalam tubuh. Kulit yang rusak misalnya oleh luka bakar dan selaput lendir yang rusak oleh asap rokok akan meningkatkan resiko infeksi (Baratawidjaja, 2000).

6.a.2. Pertahanan biokimia

Kebanyakan mikroorganisme tidak dapat menembus kulit yang sehat. Beberapa mikroorganisme dapat masuk badan melalui kelenjar sebaceous dan folikel rambut. Ph asam dari keringat dan sekresi sebaceous, berbagai asam lemak dan enzim yang mempunyai efek antimalaria akan mengurangi infeksi 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, melindungi tubuh terhadap berbagai kuman gram positif oleh karena dapat menghancurkan dinding selnya. Air susu ibu juga mengandung laktoferin dan asam neurominik yang mempunyai sifat antibakterial terhadap E.Coli dan staphylococcus (Baratawidjaja, 2000).

6.a.3. Pertahanan Humoral

Berbagai bahan dalam sirkulasi berperan pada pertahanan tubuh humoral. Bahan – bahan tersebut ialah; komplemen, interferon, *C-reaktif*, protein (Baratawidjaja, 2000).

6.a.4. Pertahanan seluler

Yang berperan terhadap Pertahanan seluler berupa fagosit, makrofag, sel NK, dan sel K. Leukosit polimorfonuklear dan makrofag memfagosit dan menghancurkan mikroorganisme. Sel mast dan basofil memproduksi mediator yang mudah larut dari respon radang. Subpopulasi limfosit yang disebut sel pembunuh alami (*Natural Killer = NK cell*) membunuh sel jaringan yang terinfeksi dengan cara yang tidak spesifik (Underwood, 1999).

6.b. Sistem imun spesifik

Berbeda dengan sistem imun non spesifik, sistem imun spesifik mempunyai kemampuan untuk mengenal benda yang dianggap asing bagi dirinya. Benda asing yang pertama kali muncul dalam badan segera dikenal oleh sistem imun spesifik sehingga terjadi sensitasi sel-sel sistem imun tersebut. Bila sel sistem imun tersebut berpapasan kembali dengan benda asing yang sama, maka benda asing terakhir ini akan dikenal lebih cepat, kemudian dihancurkan olehnya (Baratawidjaja, 2000).

Oleh karena sistem tersebut hanya dapat menghancurkan benda asing yang sudah dikenal sebelumnya, maka sistem itu disebut spesifik. Sistem imun spesifik dapat bekerja tanpa bantuan sistem imun non - spesifik untuk menghancurkan benda asing yang berbahaya bagi badan, tetapi pada umumnya terjalin kerjasama yang baik antara antibodi-komplemen fagosit dan antara sel T-makrofag (Baratawidjaja, 2000).

6.b.1 Sistem imun spesifik humoral

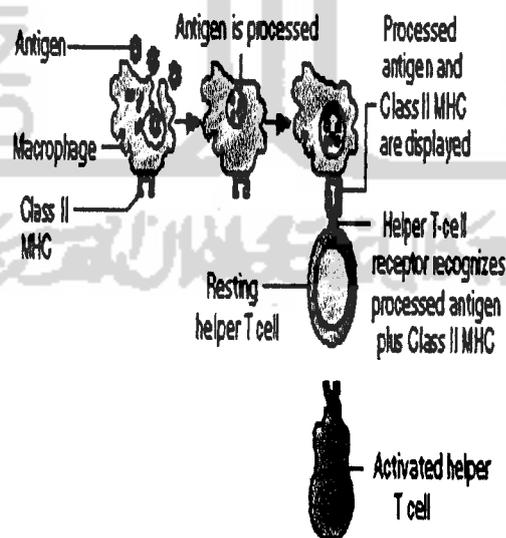
Respon imun humoral dilaksanakan oleh sel B dan produknya yaitu antibodi, dan berfungsi dalam pertahanan terhadap mikroba ekstraseluler. Respon ini diawali dengan diferensiasi limfosit B menjadi satu populasi (klon) sel plasma yang memproduksi dan melepaskan antibodi spesifik ke dalam darah. Pada respon humoral juga berlaku respon primer yang membentuk klon sel B memori. Setiap klon limfosit diprogramkan untuk memproduksi satu jenis antibodi spesifik terhadap antigen tertentu (*clonal selection*). Antibodi ini berikatan dengan antigen membentuk kompleks antigen-antibodi yang dapat mengaktivasi komplemen dan mengakibatkan hancurnya antigen tersebut. Supaya limfosit B berdiferensiasi dan membentuk antibodi diperlukan bantuan limfosit Th yang atas sinyal yang diberikan oleh makrofag, merangsang sel B untuk memproduksi antibodi. Selain oleh sel Th, produksi antibodi juga diatur oleh sel T-supresor, sedemikian rupa sehingga produksi antibodi seimbang dan sesuai dengan yang dibutuhkan (Kresno, 2001).

6.b.2 Sistem imun spesifik seluler

Yang berperan dalam sistem imun spesifik seluler adalah limfosit T atau sel T. Sel tersebut juga berasal dari sel yang sama seperti sel B. Pada orang

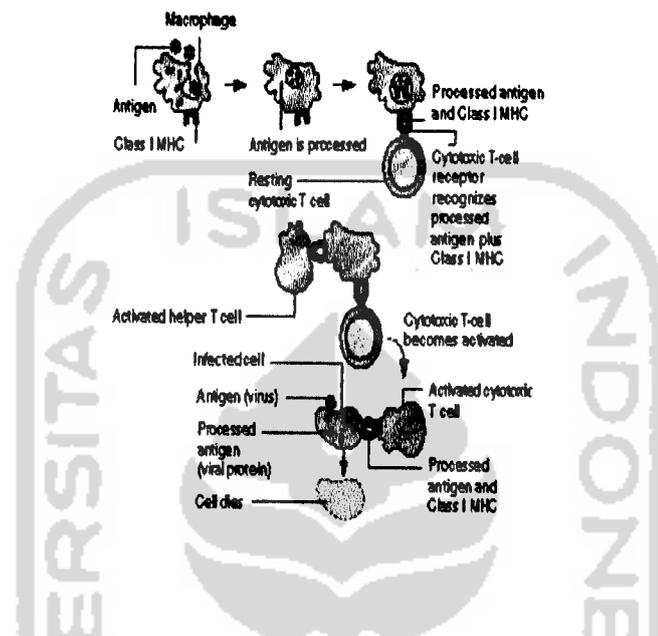
dewasa sel T dibentuk di dalam sumsum tulang tetapi proliferasi dan diferensiasinya terjadi di dalam kelenjar timus atas pengaruh berbagai faktor asal timus. 90-95% dari semua sel timus tersebut mati dan hanya 5-10% yang menjadi matang dan menuju timus masuk ke dalam sirkulasi (Baratawidjaja, 2000).

Banyak mikroorganisme yang hidup dan berkembangbiak intraseluler, antara lain virus, dan mikroba intraseluler seperti *M-tuberculosis* yang hidup dalam makrofag sehingga sulit dijangkau oleh antibodi. Untuk melawan mikroorganisme intraseluler bersangkutan diperlukan respon imun seluler yang merupakan fungsi limfosit T. Ada dua cara untuk menyingkirkan mikroorganisme intraseluler ini. Sel terinfeksi dapat dibunuh melalui sistem efektor ekstraseluler, misalnya oleh sel T sitotoksik, atau sel terinfeksi diaktivasi agar mampu membunuh mikroorganisme yang menginfeksi. Subpopulasi sel T yang disebut sel T-helper (Th) akan mengenali mikroorganisme atau antigen bersangkutan yang terdapat pada sel makrofag atau sel yang terinfeksi melalui reseptor TCR dan molekul MHC kelas II. Sinyal yang diterima dari sel terinfeksi ini menginduksi limfosit untuk memproduksi berbagai jenis limfokin, termasuk diantaranya interferon, yang dapat membantu makrofag menghancurkan mikroorganisme tersebut (Kresno, 2001).



Gambar 3. Aktivasi sel-T Helper (Anonim, 2003^a).

Sel T – helper yang juga dikenal dengan sel T $CD4^+$ juga mengaktivasi sel T lainnya dan makrofag dan mempengaruhi tipe antibodi yang dibentuk. Sel T lainnya yaitu sel T sitotoksik, yang disebut $CD8^+$ bekerja dengan menyerang dan menghancurkan sel yang terinfeksi (Anonim, 2003^a).



Gambar 4. aktivasi Sel-T Sitotoksik (Anonim, 2003^a)

Setelah memproses antigen, makrofag mengekspresikan fragmen antigen yang berikatan dengan MHC kelas I dipermukaan sel makrofag. Sel T sitotoksik akan mengenali kompleks tersebut dan sel T sitotoksik akan teraktivasi dan akan menyerang dan menghancurkan sel yang terinfeksi (Anonim, 2003^a).

Hipersensitivitas yang diperantarai oleh sel adalah hipersensitivitas tipe lambat (*Delayed Type Hypersensitivity*) merupakan fungsi limfosit T tersensitasi secara spesifik, bukan merupakan antibodi. Respon ini lambat, yakni respon ini dimulai beberapa jam (atau beberapa hari) setelah kontak dengan antigen dan sering berlangsung berhari-hari (Jawetz et al, 2001).

7. Antigen

Yang diartikan dengan antigen adalah bahan yang dapat merangsang respon imun atau bahan yang dapat bereaksi dengan antibodi yang sudah ada. Secara fungsional antigen dibagi menjadi imunogen dan haptan. Imunogen adalah bahan yang dapat menimbulkan respon imun. Adapula yang mengartikan imunogen sebagai antigen yang dapat merangsang sistem imun dengan sangat kuat terutama dalam konteks imunitas protektif terhadap organisme patogen. Haptan adalah molekul yang dapat bereaksi dengan antibodi tetapi tidak dapat merangsang pembentukan antibodi secara langsung (Baratawidjaja, 2000).

Pembagian antigen menurut spesifitasnya ;

- 1) Heteroantigen, yang dimiliki oleh banyak spesies,
- 2) Xenoantigen, yang hanya dimiliki oleh spesies tertentu,
- 3) Alloantigen (isoantigen), yang spesifik untuk individu dalam satu spesies,
- 4) Antigen organ spesifik, yang hanya dimiliki organ tertentu,
- 5) Autoantigen, yang dimiliki alat tubuh sendiri (Baratawidjaja, 2000).

Pembagian antigen menurut ketergantungan terhadap sel T ;

- 1) T dependent, yang memerlukan pengenalan oleh sel T dan sel B terlebih dahulu untuk dapat menimbulkan respon antibodi. Kebanyakan antigen protein termasuk golongan ini,
- 2) T independent, yang dapat merangsang sel B tanpa bantuan sel T untuk membentuk antibodi. Kebanyakan antigen golongan ini berupa molekul besar polimerik yang dipecah di dalam badan secara perlahan-lahan, misalnya lipopolisakarida, ficoll, dekstran, levan, flagelin polimerik bakteri (Baratawidjaja, 2000).

Karakteristik antigen yang sangat menentukan imunogenisitas respon imun adalah sebagai berikut :

- 1) Asing (berbeda dari *self*),
- 2) Ukuran molekul,
- 3) Kompleksitas kimiawi dan struktural,
- 4) Determinan antigenik (epitop),
- 5) Dosis, cara dan waktu pemberian antigen (Jawetz et al, 2001).

8. Antibodi/imunoglobulin

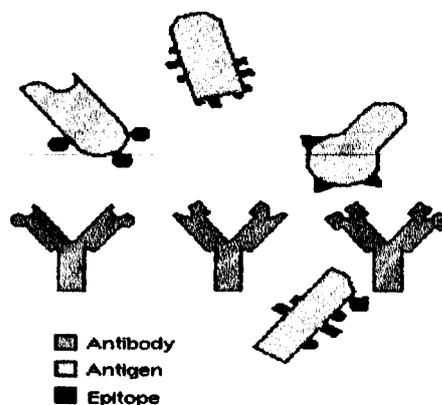
Produksi antibodi adalah mekanisme yang hampir pasti dalam membunuh protein asing dan bahan-bahan lain dengan molekul besar yang dari waktu ke waktu dapat mencapai jaringan tubuh. Banyak dari bahan-bahan ini yang berbahaya tetapi antibodi mampu bereaksi dengan bahan-bahan tersebut, yang membentuk dan membantu tubuh untuk membersihkan dirinya dari bahan asing (Hare, 1967).

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. Dua cirinya yang penting ialah spesifitas dan aktivitas biologi (Baratawidjaja, 2000).

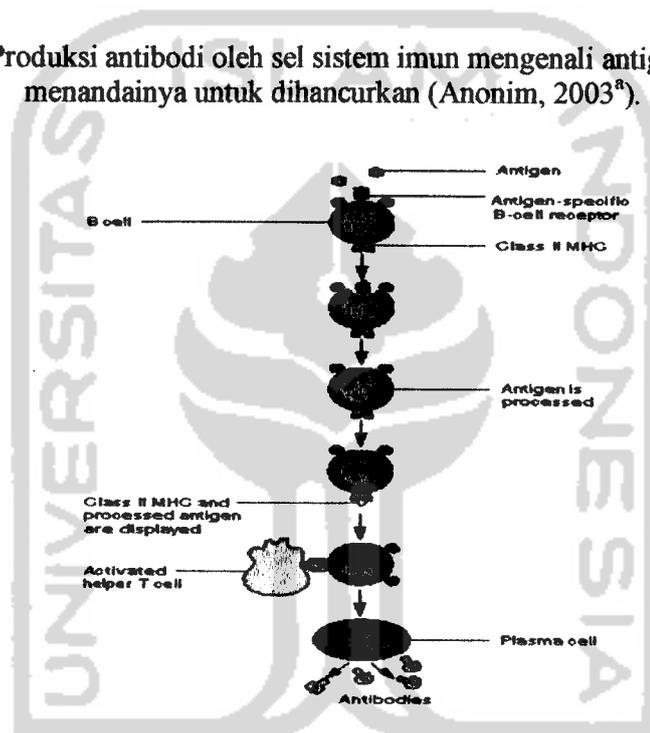
Antibodi dibentuk dengan cara seleksi klonal. Setiap individu mempunyai banyak kumpulan limfosit B yang berbeda, yang mempunyai rentang hidup dalam hari atau minggu dan dibentuk dalam sumsum tulang, nodus limfatikus, dan jaringan limfoid yang berhubungan dengan usus (misalnya tonsil atau apendiks) (Jawetz et al, 2001).

Antibodi merupakan imunoglobulin (Ig) protein plasma (kadang-kadang disebut gama globulin karena mobilitasnya pada strip elektroforesis plasma). Efek biologis yang utama, dengan pengikatan pada antigen plasma ialah :

- 1) Lisisnya bakteri,
- 2) Penetralkan toksin,
- 3) Opsonisasi material asing untuk mendukung penelanan oleh sel fagositik,
- 4) *Antibodi dependent cell mediated cytotoxicity* (ADCC) (Underwood, 1999).



Gambar 5. Produksi antibodi oleh sel sistem imun mengenali antigen asing dan menandainya untuk dihancurkan (Anonim, 2003^a).



Gambar 6. Aktivasi sel-B untuk membuat antibodi (Anonim, 2003^a).

Imunoglobulin (Ig) dibentuk oleh sel plasma yang berasal dari proliferasi sel B akibat kontak dengan antigen. Antibodi yang terbentuk secara spesifik ini akan mengikat antigen baru lainnya yang sejenis. Bila serum protein tersebut dipisahkan dengan cara elektroforesis, maka imunoglobulin ditemukan terbanyak dalam fraksi globulin gama, meskipun ada beberapa imunoglobulin yang juga ditemukan dalam fraksi globulin alfa dan beta (Baratawidjaja, 2000).

8.a. Imunoglobulin G (IgG)

IgG merupakan komponen utama imunoglobulin serum, dengan berat molekul 160.000 dalton. Kadarnya dalam serum sekitar 13 mg/ml, merupakan 75% dari semua imunoglobulin. IgG ditemukan dalam berbagai cairan, antara lain cairan cerebrospinal (CSF) dan juga urin. IgG dapat menembus plasenta masuk ke fetus dan berperan pada imunitas bayi sampai umur 6-9 bulan (Baratawidjaja, 2000).

IgG juga berperan pada imunitas seluler karena dapat merusak antigen seluler melalui interaksi dengan sistem komplemen atau melalui efek sitolitik *Killer cell* (sel K), eosinofil, neutrofil, yang semuanya mengandung reseptor untuk Fc dari IgG (Baratawidjaja, 2000). Jadi ikatan IgG terhadap antigen tertentu membantu adesi sel-sel ini dan berikutnya memfagositnya (Underwood, 1999).

8.b. Imunoglobulin A(IgA)

IgA ditemukan dalam jumlah sedikit dalam serum, tetapi kadarnya dalam cairan sekresi saluran nafas, saluran cerna, saluran kemih, air mata, keringat, ludah dan air susu kadarnya lebih tinggi dalam bentuk IgA sekretori (sIgA). Baik IgA dalam serum maupun dalam sekresi dapat menetralkan toksin atau virus dan mencegah terjadinya kontak antara toksin atau virus dengan sel alat sasaran. Berat molekulnya adalah 165.000 dalton (Baratawidjaja, 2000). IgA mempunyai fungsi untuk pertahanan lokal. IgA dapat mengaktifkan komplemen melalui jalur alternatif (Underwood, 1999).

8.c. Imunoglobulin M (IgM)

IgM adalah imunoglobulin pertama yang dibentuk dalam respon imun. Nama M berasal dari makroglobulin dengan berat molekul 900.000 dalton. Kebanyakan sel B mengandung IgM pada permukaannya sebagai reseptor antigen. IgM dibentuk paling dahulu pada respon imun primer dibanding dengan IgG, karena itu kadar IgM yang tinggi merupakan petunjuk adanya infeksi dini (Baratawidjaja, 2000).

Ukuran molekulnya yang besar mencegah IgM keluar dari plasma, baru apabila terjadi kenaikan permeabilitas vaskular pada proses radang, molekul ini dapat keluar. Karena IgM mempunyai sifat aglutinasi dan fiksasi komplemen yang baik. (Underwood, 1999).

8.d. Immunoglobulin D (IgD)

IgD ditemukan dengan kadar yang sangat rendah dalam sirkulasi. Mungkin hal tersebut disebabkan oleh karena IgD tidak dilepas sel plasma dan sangat rentan terhadap degradasi oleh proses proteolitik. IgD merupakan komponen permukaan utama dari sel B dan petanda dari diferensiasi sel B yang lebih matang (Baratawidjaja, 2000). Fungsi IgD sudah luas diketahui, IgD mungkin bekerja sebagai reseptor antigen pada permukaan limfosit (Underwood, 1999).

8.e. Immunoglobulin E (IgE)

IgE mempunyai berat molekul 200.000 dalton. Sampai sekarang tidak ditemukan subkelas IgE. IgE disebut pula antibodi reagenik dan merupakan Ig dengan jumlah paling sedikit dalam serum, tetapi efeknya sangat efisien (Baratawidjaja, 2000).

IgE mengikat secara selektif sel mast dan basofil dengan fragmen Fc yang dimilikinya. Ikatan antigen ke fragmen F-abnya mempunyai pemicu untuk melepaskan histamin dan substansi penting lainnya pada hipersensitif jenis anafilaktik (Underwood, 1999).

9. Sel-sel sistem imun spesifik/limfosit

Limfosit merupakan 20% dari semua leukosit dalam sirkulasi darah orang dewasa terdiri atas sel T dan sel B, merupakan kunci pengontrol sistem imun. Sel-sel tersebut dapat mengenal benda asing dan dapat membedakannya dari sel jaringan sendiri. Biasanya sel limfosit hanya memberikan reaksi terhadap benda asing, tetapi tidak terhadap sel sendiri. Kemampuan mengenal limfosit tersebut disebabkan oleh adanya reseptor pada permukaan sel (TCR) (Baratawidjaja, 2000).

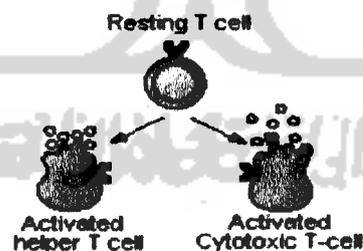
Sel-sel imunokompeten yang utama adalah limfosit T (sel T) dengan berbagai subsetnya (T-helper, T-supresor, T-sitotoksik) dan limfosit B (sel B), masing-masing dapat dibedakan satu dari yang lain karena mempunyai fungsi yang berbeda dan mengekspresikan antigen permukaan (imunofenotif) yang karakteristik untuk masing-masing jenis sel. Antigen permukaan menunjukkan korelasi dengan stadium diferensiasi, karena itu disebut juga sebagai antigen diferensiasi (*Cluster of Diferensiasi Antigen atau Cluster Designation = CD*) (Kresno, 2001).

9.a. Sel T

Sebelum ditemukannya antibodi monoklonal, cara yang digunakan untuk membedakan populasi limfosit T dari limfosit B adalah mereaksikan suspensi limfosit dengan eritrosit domba secara spontan, karena sel T dapat membentuk roset dengan eritrosit domba secara spontan. Sifat ini tidak dimiliki oleh sel B. (Kresno, 2001)

Fungsi sel T umumnya ialah :

- 1) membantu sel B dalam produksi antibodi,
- 2) mengenal dan menghancurkan sel yang terinfeksi virus,
- 3) mengaktifkan makrofag dalam fagositosis,
- 4) mengontrol ambang dan kualitas sistem imun (Baratawidjaja, 2000).



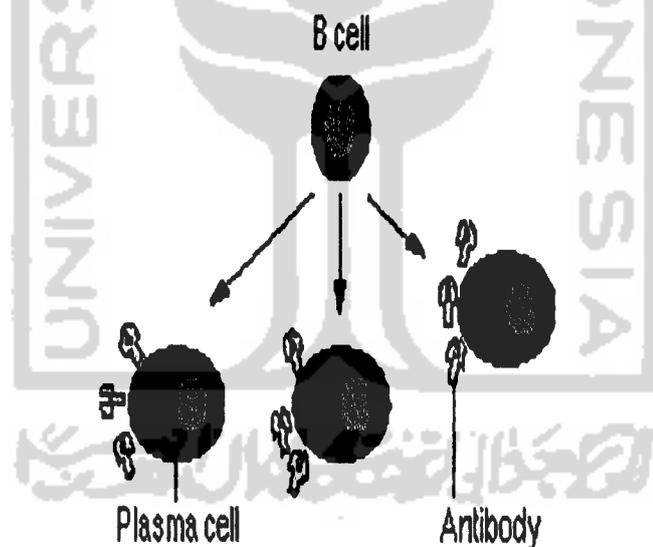
Gambar 7. Aktivasi sel-T (Anonim, 2003^a)

Limfosit T timbul dari sel induk didalam sumsum tulang yang bermigrasi ke timus. Kemudian sel induk berdiferensiasi menjadi sel T dewasa dan meninggalkan timus. Sel T matur ikut aliran darah dan aliran limfe torakal dan

juga berada di jaringan limfoid perifer seperti misalnya pada daerah parakortikal kelenjar limfe dan pada selubung periarteriolar limpa. Sel T berumur panjang dan membentuk gudang resirkulasi sel yang besar (Robins & Kumar, 1995).

9.b. Sel B/limfosit B

Limfosit B terdiri atas sekelompok sel-sel yang khusus menghasilkan produksi antibodi. Progenitornya juga berasal dari sel-sel induk sumsum tulang (Robins & Kumar, 1995). Sel B merupakan 5-15% dari jumlah seluruh limfosit dalam sirkulasi. Fungsi utamanya ialah memproduksi antibodi. Sel B ditandai dengan adanya imunoglobulin yang dibentuk di dalam sel dan kemudian dilepas, tetapi sebagian menempel pada permukaan sel yang selanjutnya berfungsi sebagai reseptor antigen. Kebanyakan sel B perifer mengandung IgM dan IgD dan beberapa sel yang mengandung IgG, IgA dan IgE pada permukaan tersebut yang ditemukan pada imunofluoresen (Baratawidjaja, 2000).



Gambar 8. Sel B menjadi plasma sel yang memproduksi antibodi ketika antigen asing mencetuskan respon imun (Anonim, 2003^a).

Sel B adalah bagian dari yang dikenal sebagai *antibody – mediated* atau imunitas humoral karena sirkulasi antibodi dalam darah dan limpa dimana orang Yunani kuno menyebutnya *body's "humors"* (Anonim, 2003^a)

10. Imunomodulasi

Imunomodulasi yaitu cara untuk mengembalikan dan memperbaiki sistem imun yang fungsinya terganggu atau untuk menekan yang fungsinya berlebihan, obat-obat yang dapat mengembalikan ketidakseimbangan sistem imun disebut modulator, bekerja menurut 3 cara, yaitu melalui; imunorestorasi, imunostimulasi dan imunorestorasi (Baratawidjaja, 2000).

10.a. Imunostimulasi

Imunostimulasi atau disebut juga imunopotensiasi adalah cara untuk memperbaiki sistem imun dengan menggunakan bahan yang merangsang sistem imun tersebut. *Biological Respons modifiers* (BRMs) adalah bahan-bahan yang dapat merubah repon imun, biasanya meningkatkan. Bahan yang disebut imunostimulator itu dapat dibagi sebagai berikut :

- 1) Biologik
 - a) Hormon timus,
 - b) Limfokin interferon,
 - c) *Antibody monoclonal*,
 - d) Transfer faktor/ekstrak leukosit,
 - e) *Lymfhokine Activated Killer (LAK) cells*,
 - f) Bahan asal bakteri,
 - g) Bahan asal jamur.
- 2) Sintetik
 - a) Levamisol,
 - b) Isoprinosin,
 - c) Muramil dipeptida (MDP),
 - d) Bahan-bahan lain yang masih dalam percobaan klinik (azimexon, ciamexon, bestatin, tuftsin dll) (Baratawidjaja, 2000).

10.b. Imunorestorasi

Imunorestorasi ialah suatu cara untuk mengembalikan fungsi sistem imun yang terganggu dengan memberikan berbagai komponen sistem imun seperti imunoglobulin dalam bentuk *Immune Serum Globulin* (ISG), *Hyperimmune Serum Globulin* (HSG), plasma dan trasplantasi sumsum tulang, jaringan hati, timus, plasmapheresis dan leukapheresis (Baratawidjaja, 2000).

10.c. Imunosupresi

Imunosupresi merupakan suatu tindakan untuk menekan respon imun. Kegunaannya di klinik terutama pada trasplantasi alat tubuh dalam untuk mencegah reaksi penolakan dan pada penyakit autoimun untuk menghambat pembentukan antibodi. Imunosupresan pada umumnya tidak ditunjukkan terhadap antigen spesifik. Yang banyak digunakan dewasa ini ialah steroid, azatiopurin, cyclosporine-A, dan globulin antilimfosit (Baratawidjaja, 2000).

C. Keterangan Empiris

Perasan daun rambutan sering digunakan untuk mengobati demam, selain itu juga dapat digunakan untuk mengobati diare, dan tumbukan daun rambutan yang diletakkan di pelipis dapat digunakan untuk menghilangkan sakit kepala (Dalimartha, 2003 ; Morton, 1987).

Daun rambutan mengandung tanin dan saponin (Dalimartha, 2003). Saponin dapat menstimulasi sistem imun yang diperantarai oleh sel (respon imun seluler) sebagaimana dapat meningkatkan produksi antibodi (respon imun humoral) dan memiliki keuntungan hanya dibutuhkan dosis yang kecil untuk memiliki aktivitas (Oda et al, 2000 cit Francis, 2002). Saponin dari kacang kedelai dapat meningkatkan antibodi yang menunjukkan respon imun spesifik (Penn, 2005), sedangkan tanin dari ekstrak *Myrtilli fructus* signifikan mempengaruhi kelangsungan hidup timosit (Drozd & Anuszevska, 2003)

BAB. III

METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan untuk uji aktivitas imunostimulan ini adalah daun rambutan, hewan uji mencit jantan galur swiss dengan berat badan 20-40 g, *Sheep Red Blood Cell* (SRBC), *Phosphate Buffer Saline* (PBS), etanol 70 % (teknis), asam asetat (pa), *n-butanol* (pa), silika gel GF 254 dan aquades, FeCl₃, Lieberman Burchard.

2. Alat

Adapun alat-alat yang digunakan di laboratorium, meliputi : tabung sentrifus, sentrifus (Hitachi), stop watch, autoklaf (Memmert), inkubator (Memmert), alat soxhlet, rotary evaporator (Heidolph), penangas air, mortir, stamper steril, grinder, mikroplat, mikro pipet (Brand), timbangan (Mettler), plestimometer, spuit injeksi, tip kuning, tip biru, alat-alat gelas.

B. Cara Penelitian

1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di laboratorium Biologi Farmasi Universitas Islam Indonesia untuk memastikan kebenaran tanaman yang akan diteliti dengan panduan buku *Flora of Java* (Backer & Van den Brink, 1965)

2. Pengumpulan bahan tanaman dan ekstraksi

Daun rambutan diambil dari daerah Godean, Sleman. Daun diekstraksi dengan Soxhlet menggunakan penyari etanol 70%. Sari yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dan dikeringkan untuk didapatkan ekstrak etanol.

3. Sterilisasi alat

Alat-alat gelas, tip kuning, tip biru yang akan digunakan dicuci terlebih dulu dan kemudian dikeringkan. Alat-alat yang sudah kering kemudian dibungkus dengan kertas atau plastik kemudian disterilisasi dengan autoklaf selama 30 menit pada suhu 121°C dan dikeringkan kembali dalam oven.

4. Preparasi SRBC (Hay & Hudson, 1998)

Semua alat yang digunakan disterilkan. Darah ditampung dalam tabung sentrifus (10 ml) kemudian disentrifus selama 10 menit, 2000 rpm. Plasma/ cairan dari pellet sel diambil dengan pipet pada dasar tabung. PBS ditambahkan pada pellet. Sel dicuci dengan PBS sebanyak 3 kali.

SRBC berikutnya dibuat pada pengenceran 1%, 2%, dan 20% caranya adalah sebagai berikut:

- 0,1 ml SRBC yang telah dicuci diambil kemudian ditambah 9,9 ml PBS sehingga didapat 10 ml larutan yang mengandung 1% SRBC.
- 0,1 ml SRBC yang telah dicuci diambil kemudian ditambah 4,9 ml PBS sehingga didapat 5 ml larutan yang mengandung 2% SRBC.
- 1 ml SRBC yang telah dicuci kemudian ditambah 4 ml PBS sehingga didapat 5 ml larutan yang mengandung SRBC 20%

5. Pengukuran titer antibodi hemaglutinasi

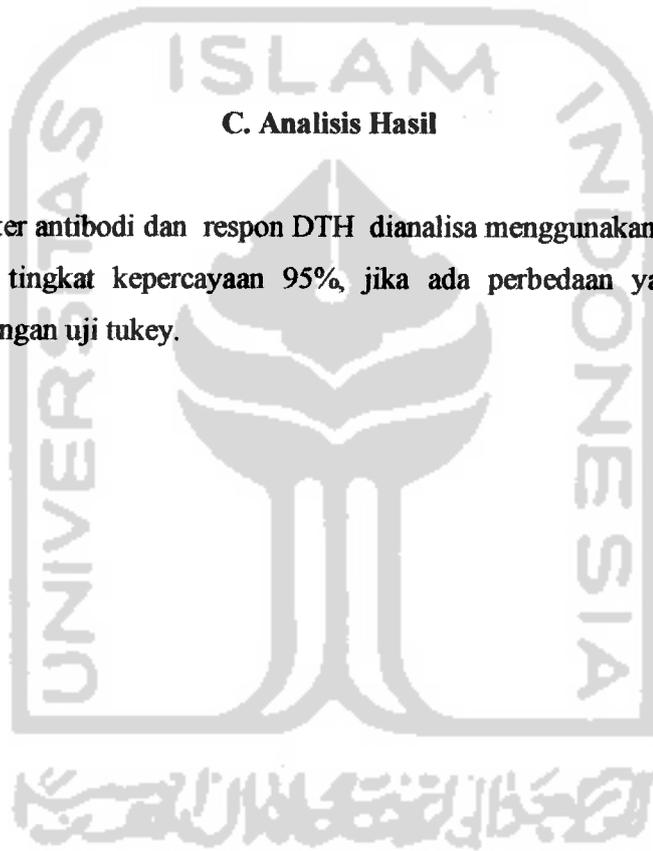
Metode yang digunakan berdasarkan Puri *et al.* (1993). Hewan uji dibagi dalam 4 grup menggunakan masing-masing 5 hewan uji. Grup normal tidak diberikan perlakuan apapun. Grup kontrol menerima aquades sebagai pelarut. Grup perlakuan menerima ekstrak etanol daun rambutan yang diuji (100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB, peroral) yang dilarutkan dalam aquades diberikan setiap hari selama 7 hari. Hewan uji diimunisasi dengan menginjeksikan 100 µl dari 20% SBRC intraperitoneal pada hari ke 0. Sampel darah dikumpulkan pada hari ke-7 untuk memperoleh serum melalui retro-orbital plexus. Level antibodi ditentukan dengan menggunakan teknik hemaglutinasi (Lampiran 7).

6. Pengamatan respon sel DTH

Pada hari ke 6, ketebalan dari telapak kaki kanan mencit diukur dengan menggunakan plestimometer. Mencit diinjeksi subkutan dengan 20 μ l 1% SRBC pada telapak kaki kanan. Ketebalan dari kaki kanan diukur setelah 24 jam dari penyuntikan. Perbedaan antara ketebalan telapak kaki sebelum dan sesudah penyuntikan dinyatakan dalam mm dan diukur digunakan sebagai ukuran respon DTH.

C. Analisis Hasil

Data titer antibodi dan respon DTH dianalisa menggunakan ANOVA satu jalan dengan tingkat kepercayaan 95%, jika ada perbedaan yang signifikan dilanjutkan dengan uji tukey.



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas imunostimulan dari ekstrak etanol daun rambutan terhadap respon imun spesifik yang dilakukan secara *in vivo* pada mencit. Aktivitas imunostimulan ekstrak etanol daun rambutan pada penelitian ini dilihat melalui adanya pembengkakan pada telapak kaki mencit setelah 24 jam penyuntikan antigen pada telapak kaki sebagai respon DTH (*Delayed Type Hipersensitivity*) dan dilihat adanya peningkatan titer hemaglutinasi pada serum yang direaksikan dengan antigen.

A. Determinasi Tanaman

Untuk menjamin kebenaran tanaman yang akan digunakan maka dilakukan determinasi tanaman rambutan sehingga terhindar dari kesalahan penggunaan tanaman. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Islam Indonesia dengan berpedoman pada buku flora of Java (Backer & Van den brink, 1965)

Determinasi tanaman rambutan dilakukan dengan mencocokkan morfologi tanaman dengan kunci-kunci determinasi sehingga dapat diketahui kebenaran tanaman yang akan digunakan dalam penelitian.

Hasil determinasi tanaman menunjukkan hasil sebagai berikut:

1b- 2b- 3b- 4b- 6b- 7b- 9b- 10b- 11b- 12b- 13b- 14a- 15b- (Golongan 9 daun-daun majemuk tersebar)- 197b- 208b- 219b- 220a-221b- 222a- (Sapindaceae)- 1b- 5a- 1b- (*Nephelium lappaceum*).

B. Pengumpulan Bahan dan Penyarian Bahan

Daun rambutan diperoleh dari daerah Godean, Sleman. Daun rambutan dipisahkan dari tangkainya dan dicuci bersih menggunakan air mengalir kemudian dikeringkan dalam almari pengering. Almari pengering tergolong alat pengering sederhana dan cara pemindahan panasnya termasuk cara konveksi yang dilengkapi dengan kipas angin penghisap yang membantu pemindahan panas agar

tidak terpusat pada satu tempat, tetapi akan tersebar. Alat pengering ini sangat menguntungkan karena rak-raknya dapat diatur sesuai dengan jumlah bahan yang akan dikeringkan (Anonim, 1986).

Pengeringan ini bertujuan agar daun rambutan dapat disimpan dalam waktu lama serta mencegah kerusakan atau perubahan kimia akibat reaksi enzimatis atau hidrolisis. Kemudian daun yang telah kering diserbuk karena penyarian akan bertambah baik bila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari makin luas (Anonim, 1986).

Serbuk daun rambutan disari dengan menggunakan metode soxhletasi, keuntungan dari metode ini adalah cairan penyari yang diperlukan lebih sedikit dan secara langsung diperoleh hasil yang lebih pekat. Disamping itu serbuk disari oleh cairan penyari yang murni sehingga dapat menyari zat aktif lebih banyak dan penyarian dapat diteruskan sesuai dengan keperluan tanpa menambah volume cairan penyari (Anonim, 1986).

Cairan penyari yang digunakan adalah etanol 70 %. Etanol 70 % dipilih sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% keatas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Anonim, 1986) disamping itu etanol diharapkan dapat menyari zat aktif yang diduga dapat meningkatkan sistem imunitas yaitu tanin dan saponin.

Sari yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* tujuannya untuk menguapkan bahan pelarut sehingga didapat ekstrak kental, disamping itu untuk menghindari kemungkinan rusaknya zat aktif karena oksidasi oleh udara. Dari ekstrak etanol yang diperoleh didapat rendeman sebesar 23,7 %.

C. Deteksi Ekstrak Etanol Daun Rambutan

Deteksi terhadap ekstrak etanol yang digunakan dalam penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan yang terdapat dalam ekstrak tersebut. Ekstrak etanol daun rambutan dideteksi dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Metode KLT dipilih karena KLT merupakan sistem kromatografi yang paling luas pada fitokimia karena dapat diterapkan hampir pada setiap golongan senyawa kecuali pada kandungan yang sangat atsiri. Cara ini dapat

dipakai pada pemeriksaan ekstrak kasar dari kebanyakan senyawa dan juga sebagai cara pemisahan dan deteksi pendahuluan (Harborne, 1987).

Fase gerak yang digunakan adalah campuran beberapa pelarut, yaitu BAW (*n-butanol* : asam asetat : *water*) dengan perbandingan 9 : 2 : 6, sebelum digunakan untuk fase gerak campuran pelarut ini dipisahkan selama 24 jam untuk memisahkan fase minyak dan air, yang digunakan sebagai fase gerak adalah fase minyak. Sedangkan fase diam yang digunakan adalah silika gel GF 254. Pereaksi semprot yang digunakan adalah FeCl_3 untuk melihat adanya tanin, dan pereaksi Liebermann Burchard (LB) untuk mendeteksi adanya saponin.

Jika saponin dilihat pada sinar UV 366 nm akan memperlihatkan bercak berwarna merah, violet, biru dan hijau (Wagner, 1984). Sedangkan jika disemprot dengan pereaksi Liebermann Burchard timbul warna merah/ungu, kemudian perlahan-lahan menjadi biru menunjukkan adanya saponin. Untuk deteksi tanin (fenol), hasil kromatogram yang disemprot dengan FeCl_3 akan menghasilkan warna ungu, biru atau hitam yang kuat (Harborne, 1987).

Dari hasil penelitian dapat dilihat bahwa plat KLT yang telah ditotoli dengan ekstrak etanol dan dielusi kemudian dilihat pada sinar UV 366 nm memperlihatkan bercak berwarna hijau dan merah, setelah disemprot dengan pereaksi LB bercaknya berwarna violet menunjukkan positif mengandung saponin dengan nilai RF sebesar 0,21; 0,75 dan 1,00. Sedangkan ketika disemprot dengan FeCl_3 bercaknya berwarna hitam berarti positif mengandung tanin dengan nilai RF sebesar 0,25 dan 0,89.

Tabel I. Deteksi tanin dan ekstrak etanol daun rambutan

Nilai Rf	Deteksi				Golongan senyawa
	UV 254 nm	UV 366 nm	FeCl_3	Liebermann Burchard	
0,21	Padam	Hijau	-	Violet	Saponin
0,25	Padam	Hijau	Hitam	-	Tanin
0,75	Padam	Hijau	-	Violet	saponin
0,89	Padam	Hijau	Hitam	-	Tanin
1,00	padam	Merah	-	violet	Saponin

Mencit yang digunakan adalah mencit jantan saja, tidak dicampur antara jantan dan betina karena dapat menyebabkan kebuntingan, sedangkan mencit betina dapat dipengaruhi oleh faktor hormonal sehingga dapat menyebabkan besarnya variasi biologis.

Mencit-mencit tersebut ditempatkan didalam kandang sesuai dengan kelompok perlakuannya masing-masing. Kandang diberikan sekam padi sebagai alas tidur dan sekam harus dibersihkan karena sekam yang kotor akibat bercampur dengan kotoran mencit dapat menjadi sumber penyakit bagi mencit itu sendiri (Tuffery, 1990), dan kemungkinan dapat menyebabkan terbentuknya antibodi alami tanpa disebabkan antigen yang diberikan pada penelitian ini, sehingga pengukuran antibodi tidak murni disebabkan dari antigen imunisasi.

Hewan uji dibagi menjadi 4 kelompok, setiap kelompok terdiri dari 5 ekor hewan uji. Kelompok pertama adalah kelompok normal, pada kelompok ini hewan uji tidak diberikan perlakuan apapun tujuannya yaitu untuk mengetahui produksi antibodi alami mencit karena adanya kontak dengan antigen dan membandingkannya dengan kelompok perlakuan lainnya. Kelompok kedua adalah kelompok kontrol negatif dengan pemberian aquades sebagai pelarut disamping itu aquades tidak memiliki aktivitas dalam meningkatkan sistem imun. Kelompok ketiga dan keempat masing-masing adalah dengan ekstrak etanol daun rambutan 100 mg/kg/hari dan 200 mg/kg/hari yang diharapkan dapat meningkatkan sistem imun.

Sebelum diberikan perlakuan, semua hewan uji kecuali kelompok normal diimunisasi dengan SRBC (*Sheep Red Blood Cell*) 20 % sebagai antigen secara intraperitoneal. SRBC dibuat dari darah domba yang masih segar dan preparasinya dilakukan dalam kondisi steril baik bahan maupun alat yang digunakan karena darah mudah rusak disamping itu sediaan ini akan diinjeksikan secara intraperitoneal dan subkutan yang harus dalam sediaan steril. Darah domba disentrifus kemudian serumnya dipisahkan dari selnya, kemudian sel yang berada pada dasar tabung tersebut dicuci dengan PBS (*Phosphate Buffered Saline*) untuk mencuci sel karena kemungkinan adanya serum yang belum terpisahkan sebanyak 3x dengan cara disentrifus. SRBC ini dapat disimpan selama 30 hari dalam kulkas atau es (4°C) dan jangan disimpan dibawah titik beku karena akan merusak sel.

Keuntungan menggunakan SRBC sebagai antigen adalah tidak patogen sehingga tidak berbahaya menimbulkan penyakit dan aman digunakan selama penelitian. SRBC dapat digolongkan kedalam antigen endogen heterolog yaitu antigen yang terdapat didalam tubuh dalam spesies yang berlainan (Kresno, 2001).

Kemudian selama 7 hari mencit diberikan perlakuan sesuai dengan kelompoknya secara peroral, selain itu pada hari ke-6 ketebalan telapak kaki mencit diukur dengan menggunakan plestimometer kemudian diinjeksikan dengan SRBC 1 % pada semua mencit kecuali kelompok normal, secara subkutan. Cara ini dipilih karena cara subkutan lebih imunogenik dibandingkan dengan cara intravena (Kresno, 2001), disamping itu untuk melihat reaksi yang terjadi pada telapak kaki mencit setelah terpapar antigen.

Pada hari ke-7 ketebalan telapak kaki mencit diukur kembali untuk mengetahui ada tidaknya pembengkakan/edema setelah diinjeksikan dengan antigen. Kemudian dilakukan sampling darah mencit secara retro orbital plexus, cara ini dipilih karena memberikan beberapa keuntungan diantaranya pengumpulan darah relatif cepat sehingga waktu yang diperlukan lebih sedikit, volume darah yang diperoleh cukup besar dan kualitas darah yang diperoleh baik (Anonim, 2003^b). Darah yang diperoleh ini kemudian disentrifus sehingga serum dan selnya terpisah, yang akan digunakan untuk analisis adalah serumnya.

E. Pengamatan Non Farmakologi

Berat badan mencit ditimbang setiap hari untuk mengetahui perubahan berat badan mencit selama perlakuan dan berat badan ini digunakan untuk mengetahui volume pemejanan yang akan diberikan tiap harinya pada setiap mencit kecuali kelompok normal yang tidak diberikan perlakuan.

Dari perubahan berat badan ini dapat diketahui keadaan mencit yang diberikan perlakuan dan membandingkannya pada setiap kelompok perlakuan dan kelompok normal. Data perubahan berat badan selama perlakuan dapat dilihat pada tabel II. Diuji normalitas dan homogenitasnya. Dari hasil uji normalitas dan uji homogenitas data tersebut diperoleh nilai signifikansi $0,084 > 0,05$ yang menunjukkan bahwa data tersebut terdistribusi normal dan homogen. Analisis

dilanjutkan dengan analisis parametrik yaitu ANOVA satu jalan dengan taraf kepercayaan 95 %.

Pada analisis ANOVA diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,004 ($P < 0,5$), hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan pertambahan berat badan perhari antara kelima kelompok perlakuan hewan uji. Kemudian analisis dilanjutkan dengan menggunakan uji tukey untuk mengetahui perbedaan kenaikan berat badan antara kelompok perlakuan. Hasil uji tukey menunjukkan bahwa terjadi perbedaan kenaikan berat badan mencit tetapi perbedaan tersebut tidak signifikan. Perbedaan kenaikan berat badan yang signifikan terjadi pada kelompok negatif dengan ekstrak etanol 100 mg/kg/hari dan ekstrak etanol 200 mg/kg/hari dapat dilihat pada tabel III.

Berat badan mencit pada setiap perlakuan dapat dikatakan normal, hal ini dapat dilihat dengan membandingkannya dengan kelompok normal, tidak ada penurunan berat badan yang signifikan berarti mencit dalam keadaan sehat dan tidak mengalami stress selama perlakuan, disamping itu kenaikan berat badan tidak signifikan berarti ekstrak etanol tidak meningkatkan nafsu makan sehingga tidak meningkatkan berat badan secara signifikan.

Tabel II. Penambahan berat badan rata-rata perhari pada saat perlakuan

Kelompok perlakuan	Dosis (mg/kg/hari)	Mean \pm SD
Normal	-	0,542 \pm 0,119
Kontrol negatif	-	0,771 \pm 0,137
Ekstrak etanol	100	0,357 \pm 0,242
	200	0,399 \pm 0,108

Tabel III. Hasil uji tukey kenaikan BB

Kelompok perlakuan	Signifikansi	Keterangan
Normal dan kontrol negatif	0,153	Tidak signifikan
Normal dan ekstrak etanol 100 mg/kg	0,298	Tidak signifikan
Normal dan ekstrak etanol 200 mg/kg	0,357	Tidak signifikan
Kontrol negatif dan ekstrak etanol 100 mg/kg	0,004	signifikan
Kontrol negatif dan ekstrak etanol 200 mg/kg	0,010	signifikan
Ekstrak etanol 100 mg/kg dan ekstrak etanol 200 mg/kg	0,974	Tidak signifikan

Selain berat badan kondisi feses setiap mencit dilihat untuk mengetahui keadaan mencit terhadap kemungkinan menderita diare. Dari hasil pengamatan tersebut diketahui konsistensi feses setiap mencit padat (normal) berarti bahwa mencit selama perlakuan dalam keadaan yang baik dan tidak mengalami diare.

F. Pemeriksaan titer hemaglutinasi

Dari pemeriksaan titer hemaglutinasi dapat diketahui ada tidaknya antibodi yang terbentuk yang menunjukkan respon imun spesifik berupa respon imun humoral yang diperantarai oleh limfosit B. Respon imun humoral dilaksanakan oleh sel B dan produknya, yaitu antibodi dan berfungsi dalam pertahanan mikroba ekstraseluler. Respon ini diawali dengan diferensiasi limfosit B menjadi satu populasi (klon) sel plasma yang memproduksi dan melepaskan antibodi spesifik ke dalam darah (Kresno, 2001).

Pemeriksaan laboratorium dapat menyatakan berbagai aktivitas imunologis, dengan spesifitas dan sensitifitas tertentu. Antibodi lebih mudah diperiksa daripada sel atau produk sel yang berkaitan dengan imunitas seluler (Widmann, 1995). Pada umumnya yang banyak dilakukan untuk menguji respon imun humoral adalah penetapan kadar imunoglobulin dalam serum (Kresno, 2001).

Pada penelitian ini yang digunakan untuk mengetahui titer hemaglutinasi adalah serum dari hewan uji. Setelah darah mencit disampling kemudian disentrifus untuk memisahkan serum dari lapisan selnya, serum dapat disimpan pada freezer jika analisis dilakukan pada hari berikutnya, hal ini untuk menjaga agar serum tidak rusak. Sebelum digunakan untuk analisis serum terlebih dahulu harus diinkubasi dalam waterbath pada suhu 56°C selama 30 menit tujuannya yaitu untuk menghilangkan protein komplemen yang dapat menyebabkan lisis sel.

Analisis dilakukan dengan melakukan pengenceran terhadap serum yang diencerkan dengan PBS sebagai pelarut SRBC direaksikan dengan SRBC 2 % pada mikroplat dengan 96 sumuran yang steril, kemudian mikroplat tersebut diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1 jam. Resiprok dari pengenceran tertinggi serum yang memberikan hemaglutinasi adalah titer antibodi (titer hemaglutinasi).

Reaksi antibodi-antigen dapat terjadi baik pada makhluk hidup (*in vivo*) maupun diluar makhluk hidup (*in vitro*), pengamatan terjadinya hemaglutinasi dapat diamati secara visual, bila terdapat antibodi terutama antibodi IgM di dalam serum maka akan terjadi reaksi antigen dan antibodi (hemaglutinasi) membentuk suspensi atau membentuk presipitat di dasar sumuran, dan bila tidak terdapat antibodi maka akan menjendal dibawah. Bila antibodi yang terbentuk jumlahnya besar maka pengencerannya akan besar pula karena jumlah antibodi sebanding dengan titer hemaglutinasi.

Jika dilihat secara kualitatif data titer hemaglutinasi pada tabel IV maka dapat dilihat adanya peningkatan titer hemaglutinasi pada kelompok ekstrak etanol 100 mg/kg/hari dan ekstrak etanol 200 mg/kg/hari dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif maupun kelompok normal, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun rambutan dapat meningkatkan produksi antibodi.

Dari data titer hemaglutinasi yang diperoleh dilakukan analisis statistik, pada uji normalitas data tersebut menunjukkan terdistribusi normal akan tetapi pada uji homogenitas terlihat signifikansi sebesar $0,000 < 0,05$, ini menunjukkan bahwa data tersebut tidak homogen sehingga analisis dilanjutkan dengan uji Kruskal Wallis, signifikansi yang diperoleh adalah $0,001 < 0,05$ menunjukkan hasil yang signifikan oleh karena itu dilanjutkan dengan uji Mann Whitney untuk membandingkan titer hemaglutinasi antar dua kelompok perlakuan, hasil dapat dilihat pada tabel V.

Tabel IV. Efek ekstrak etanol terhadap titer hemaglutinasi

Kelompok perlakuan	Dosis (mg/kg/hari)	Mean \pm SD
Normal	-	0,000 \pm 0,000
Kontrol negatif	-	32,400 \pm 14,310
Ekstrak etanol	100	89,600 \pm 35,054
	200	89,600 \pm 35,054

Tabel V. Hasil uji Mann Whitney data titer hemaglutinasi

Perbandingan antar dua kelompok perlakuan	signifikansi	Keterangan
Normal dan kontrol negatif	0,008	Signifikan
Normal dan ekstrak etanol 100 mg/kg	0,008	Signifikan
Normal dan ekstrak etanol 200 mg/kg	0,008	Signifikan
Kontrol negatif dan ekstrak etanol 100 mg/kg	0,016	Signifikan
Kontrol negatif dan ekstrak etanol 200 mg/kg	0,016	Signifikan
Ekstrak etanol 100 mg/kg dan ekstrak etanol 200 mg/kg	1,000	Tidak signifikan

Jika dilihat pada tabel IV, maka dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok ekstrak etanol 100 mg/kg/hari dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok normal, Pada kelompok ekstrak etanol 200 mg/kg/hari menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok normal, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun rambutan memiliki efek meningkatkan respon imun spesifik humoral. Jika dibandingkan antara kelompok ekstrak etanol 100 mg/kg/hari dengan ekstrak etanol 200 mg/kg/hari dapat dilihat perbedaan yang tidak signifikan, hal ini menunjukkan bahwa pada pemberian ekstrak etanol daun rambutan dengan dosis dan 200 mg/kg/hari menunjukkan aktivitas yang sama dalam meningkatkan respon imun humoral, berarti bahwa dosis 100 mg/kg/hari merupakan dosis optimal yang dapat meningkatkan respon imun humoral.

Pada penelitian sebelumnya saponin yang dikandung kacang kedelai dapat meningkatkan respon spesifik antibodi (Penn, 2005), pada penelitian ini ekstrak etanol daun rambutan yang memiliki kandungan saponin menunjukkan dapat meningkatkan titer hemaglutinasi antibodi yang menunjukkan respon imun spesifik humoral. Mekanisme imunostimulan saponin belum diketahui dengan jelas, tetapi saponin dilaporkan dapat menginduksi produksi sitokin seperti interleukin, dan interferon sebagai perantara efek imunostimulan (Jie et al, 1984; Kensil, 1996 cit Francis, 2002).

G. Pemeriksaan Respon DTH

Pada respon DTH ini didasarkan pada reaksi hipersensitivitas tipe 4 yaitu reaksi tipe hipersensitivitas tipe lambat karena memiliki respon imun yang lambat yakni dimulai beberapa jam (atau beberapa hari) setelah kontak dengan antigen dan sering berlangsung selama beberapa hari (Jawetz et al, 2001). Pada respon ini diperantarai oleh sel dan mensensitasi limfosit T bukan oleh antibodi.

Pada reaksi seluler, limfosit dan makrofag akan berkumpul pada tempat masuknya antigen dan mengakibatkan perubahan-perubahan pada jaringan, pembuluh darah dan sering juga merusak sel, mikroorganisme dan partikel-partikel yang merangsang terjadinya respon imunologis itu (Widmann, 1995). Pada penelitian ini 3 kelompok perlakuan yaitu kontrol negatif, ekstrak etanol 100 mg/kg/hari dan ekstrak etanol 200 mg/kg/hari pada hari ke-6 perlakuan diukur ketebalan kakinya dengan menggunakan plestimometer kemudian diinjeksikan dengan SRBC 1 % pada telapak kaki kanannya secara subkutan, hal ini bertujuan untuk merangsang respon imun terutama yang bersifat lokal ditempat diinjeksikan tersebut, lalu pada hari ke-7 perlakuan telapak kaki kanan mencit diukur kembali ketebalannya untuk diketahui perubahan yang terjadi dan dicatat sebagai respon DTH yang dapat dilihat pada tabel VI.

Tabel VI. Efek ekstrak etanol daun rambutan terhadap respon DTH

Perlakuan	Dosis (mg/kg/hari)	respon DTH % perubahan ketebalan telapak kaki
Kontrol negatif	-	1,79 ± 0,177
Ekstrak etanol	100	5,70 ± 2,761
	200	3,12 ± 0,739

Dari tabel diatas dapat dilihat terdapat perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok ekstrak etanol 100 mg/kg/hari dan ekstrak etanol 200 mg/kg/hari, ekstrak etanol dengan dosis 100 mg/kg/hari menunjukkan peningkatan respon DTH yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol maupun ekstrak etanol dengan dosis 200 mg/kg/hari, kemungkinan hal ini terjadi karena dosis optimal yang dapat meningkatkan respon DTH adalah 100 mg/kg/hari dan pada dosis 200 mg/kg/hari dapat meningkatkan respon DTH tetapi

tidak optimal dan memiliki aktivitas yang hampir sama dengan dosis 100 mg/kg /hari.

Data hasil respon DTH dianalisis homogenitas, normalitas, dan simpangan bakunya. Hasil analisis uji normalitas menunjukkan bahwa data tersebut terdistribusi normal dan pada uji homogenitas diperoleh signifikansi $0,044 < 0,05$ yang menunjukkan bahwa data tersebut tidak homogen. Analisis dilanjutkan dengan uji Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney.

Hasil uji Kruskal Wallis memiliki nilai signifikansi $0,069 < 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan respon DTH antara ketiga kelompok perlakuan. Pada uji Mann Whitney dapat dilihat perbedaan antar kelompok perlakuan dan dapat dilihat pada tabel VII.

Tabel VII. Hasil uji Mann Whitney pada respon DTH

Perbandingan antar kelompok perlakuan	signifikansi	keterangan
Kontrol negatif dan ekstrak etanol 100 mg/kg	0,083	Tidak signifikan
Kontrol negatif dan ekstrak etanol 200 mg/kg	0,083	Tidak signifikan
Ekstrak etanol 100mg/kg dan ekstrak etanol 200 mg/kg	0,127	Tidak signifikan

Dari hasil analisis statistik diatas dapat diketahui bahwa ekstrak etanol daun rambutan dengan dosis 100 mg/kg/hari maupun dosis 200 mg/kg/hari tidak signifikan meningkatkan respon DTH, jadi ekstrak etanol menunjukkan tidak dapat meningkatkan produksi limfosit T maupun makrofag secara signifikan dibandingkan dengan kelompok aquades yang mengeluarkan limfosit T maupun makrofag secara alami karena pemaparan SRBC sebagai antigen.

Pada beberapa tanaman yang digunakan untuk pengobatan tradisional memiliki aktivitas imunostimulan, beberapa diantaranya dapat menstimulasi respon imun humoral dan respon imun yang diperantarai oleh sel, tetapi yang lainnya hanya mengaktivasi sistem imun seluler atau humoral saja (Bafna & Mishra, 2004). Pada ekstrak etanol daun rambutan ini menunjukkan adanya peningkatan pada titer hemaglutinasi dan peningkatan respon DTH secara kualitatif. Pada analisis statistik menunjukkan signifikan meningkatkan respon imun humoral tetapi tidak signifikan meningkatkan respon imun seluler.

BAB. V KESIMPULAN DAN SARAN



A. Kesimpulan

- 1) Pemeriksaan titer hemaglutinasi menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun rambutan dengan dosis 100 mg/kg/hari dan 200 mg/kg/hari memiliki aktivitas sebagai imunostimulan terhadap respon imun humoral pada mencit.
- 2) Pada pemeriksaan respon DTH ekstrak etanol 100 mg/kg/hari dan 200 mg/kg/hari secara kualitatif menunjukkan adanya peningkatan respon DTH (respon imun seluler) tetapi pada analisis statistik tidak menunjukkan adanya peningkatan yang signifikan.
- 3) Hasil identifikasi kandungan ekstrak etanol daun rambutan dengan menggunakan KLT menunjukkan bahwa ekstrak etanol tersebut mengandung tanin dan saponin yang diduga memiliki kemampuan untuk meningkatkan sistem imun.

B. SARAN

Untuk menambah khazanah ilmu pengetahuan terutama pemanfaatan tanaman rambutan (*Nephelium lappaceum*, L), maka perlu adanya penelitian lebih lanjut yang berkaitan dengan uji aktivitas imunostimulan ini diantaranya adalah sebagai berikut :

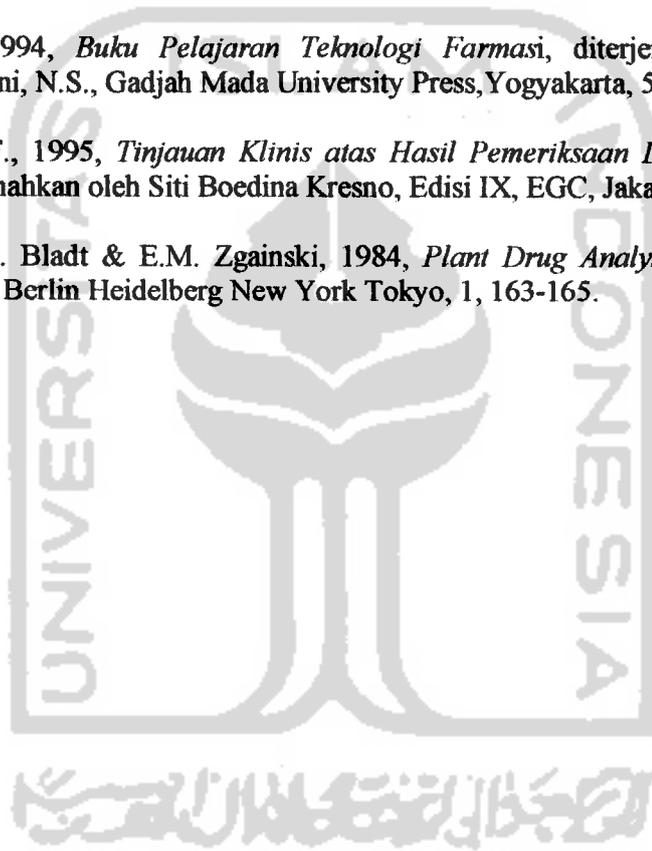
1. Perlu dilakukan fraksinasi terhadap daun rambutan untuk mengetahui fraksi mana yang lebih besar meningkatkan aktivitas imunostimulan.
2. Uji aktivitas imunostimulan dapat diuji pada bagian lain dari tanaman rambutan selain daun.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1986, *Sediaan Galenik*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 1-2.
- Anonim, 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 1002-1005, 1210.
- Anonim, 2000, *Parameter Standar Ekstrak*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 9-11.
- Anonim, 2003^a, *The Immune System*, <http://www.google.com> (diakses 19 oktober 2005)
- Anonim, 2003^b, *Blood Sampling in Mice and Rats*, <http://www.google.com> (diakses 19 oktober 2005)
- Anonim, 2005, Rambutan, *Wikipedia The Free Encyclopedia*, <http://www.google.com>
- Ansel, H.C., 1989, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, Diterjemahkan oleh Farida Ibrahim, Edisi IV, Cetakan pertama, Penerbit UI press, Jakarta, 605
- Backer, C.A., & Van den brink, R.C., 1965, *Flora of Java*, Noordhoff Groningen, The Natherland, (2) 138, (3) 138.
- Bafna, AR., Mishra, SH., 2004, Immunomodulatory Activity of Methanol Extract of Flowers-heads of *Spaerantus indicus* Linn, *Ars pharmaceutica*, 45:3, 281-291.
- Baratawidjaja, K.G., 2000, *Imunologi Dasar*, Edisi IV, Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 3-8, 14, 15, 22-25, 80, 83, 106, 139, 246-248, 254.
- Case, C.L., Funke, B.R., & Tortora, G.J., 2001, *Microbiology An Introduction*, 7th Ed., addison Wesley Longman, Inc., San Fransisco, 337, 476-482, 484, 513-516.
- Dalimartha, Setiawan, 2003, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, jilid 3, cetakan 1, Trubus Agriwidya, Jakarta, hal 115-117.
- Fike, D.J., 1997, Cells and Tissues of the Imun Sistem dalam Sheehan, C., *Immunology Principles and Laboratory Diagnosis*, 2nd Ed., Lippincott Company, Philadelphia, 9-11, 16.
- Francis, G., Kerem Z., Makkar Harinder P.S., Becker K., 2002, The Biological of Saponin in Animal Systems: A Review, *British J of Nutrition.*, 88, 587-605 (diakses 14 april 2006).

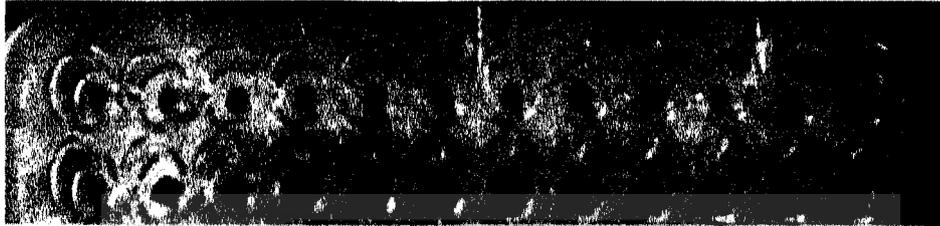
- Fulzele, S.V., P.M. Bhurchandi, V.M. Kanoje, S.B. Joshi, A.K. Dorle, 2002, Immunostimulant Activity of Ashtamangal ghrita in Rats, *Ind J of Pharm* 34: 194-197.
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinara dan Iwang Sudiro, Edisi 2, Penerbit ITB, Bandung, hal 6-9, 24-27, 47-49, 337.
- Hare, Ronald, 1967, *Bacteriology and Immunity*, third edition, Longmans green and co LTD, London, hal 196-197.
- Hay L., Hudson FC., 1989, *Practical immunology*, Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Jawetz, Melnick & Adelberg, 2001, *Mikrobiologi Kedokteran*, Penerjemah Bagian Kedokteran UNAIR, Penerbit Salemba Medica, Jakarta, hal 177-178,191.
- Kresno, Siti Boedina, 2001, *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*, Edisi keempat, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, hal 4, 11, 10, 16, 342.
- Mangkoewidjojo, S., 2003, *Workshop Teknologi Dasar Antibody Monoclonal*, Laboratorium Hayati Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Morton, J., 1987, Rambutan, In : *Fruit of Warm Climates*, Miami, FL, 262-265.
- Nawawi, A., Nakamura, N., Hattori, M., Kurokawa, M., Shiraki, K., 1999, Inhibitory effects of Indonesian medicinal plants on the infection of herpes simplex virus type 1, *Phytother Res.* 1999 Feb;13(1):37-41.
- Nogrady, T., 1992, *Kimia Medisinal 1: Pendekatan Secara Biokimia*, Diterjemahkan oleh Raslim Rasyid dan Amir Mursyadad, Terbitan kedua, Penerbit ITB, Bandung, 21.
- Penn, Michael, H., 2005, Effect of Dietary Soybean Saponins On Growth and Performance, Intestinal Histology and Immune Response of First feeding Rainbow Trout *Oncorhynchus Mykiss*, *OhioLINK ETD*, 121.
- Puri A., Saxene R., Saxena RP., Saxena KC., 1993, Immunostimulant agents from *Andrographis paniculata*, *J. Nat., Prod.* 56:995-9.
- Robbins & Kumar, 1995, *Buku Ajar Patologi I*, Edisi IV, EGC, Jakarta , hal 142-144.
- Robinson, T., 1991, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung, 71, 72, 157, 191, 281.
- Sardjoko, 1991, *Bioteknologi Latar Belakang dan Beberapa Penerapannya*, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, 147, 148, 152.

- Stahl, E., 1985, *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Sudiro, Penerbit ITB, Bandung, 3-18, 68, 135.
- Sugiri, Soemarni, 1996, *Biologi*, Edisi 6, Cetakan kedua, Penerbit Erlangga, Surabaya, 342-343.
- Tuffery, A., 1990, *Laboratory Animals an Introduction for New Experimenters*, Departement of Biological Sciences, N. E. Surrey College of Tecnology, Great Britain, page 101,102, 226, 248.
- Underwood, J.C.E, 1999, *Patologi Umum Dan Sistematika*, editor bahasa Indonesia Sarjadi, edisi 2, EGC, Jakarta, 190-194.
- Voight, R., 1994, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, diterjemahkan oleh Soendani, N.S., Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, 570.
- Widmann, K.F., 1995, *Tinjauan Klinis atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium*, diterjemahkan oleh Siti Boedina Kresno, Edisi IX, EGC, Jakarta, hal 173.
- Wagner, H., S. Bladt & E.M. Zgainski, 1984, *Plant Drug Analysis*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York Tokyo, 1, 163-165.



Lampiran 1
Gambar daun rambutan

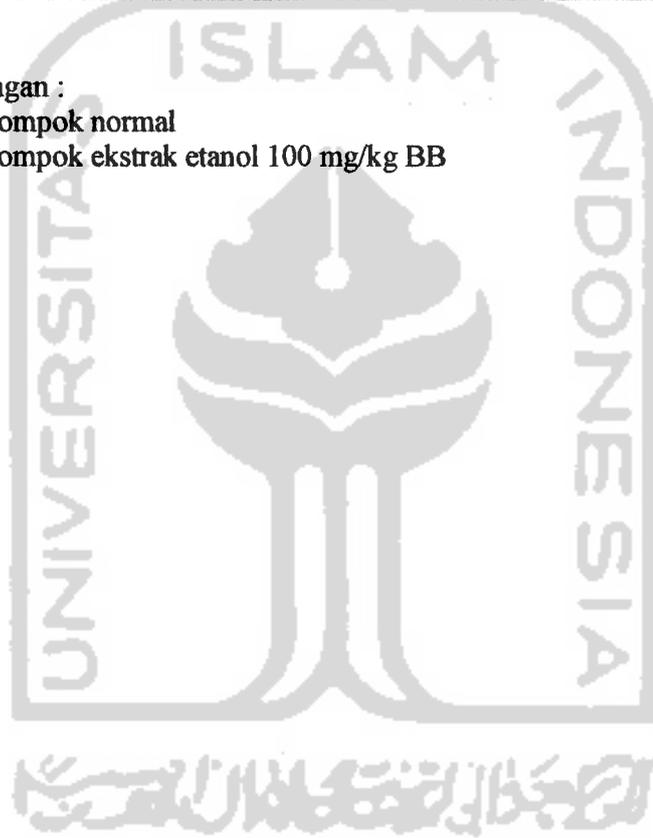


Lampiran 2**Gambar titer hemaglutinasi**

Keterangan :

A. Kelompok normal

B. Kelompok ekstrak etanol 100 mg/kg BB



**UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JURUSAN FARMASI FMIPA UII
BAGIAN BIOLOGI FARMASI**

Alamat : Jl.Kaliurang Km 14,4 Yogyakarta
Telpon : (0274) 895920 Ext. 3033

SURAT KETERANGAN
Nomor:74/ UII/Jur Far/ det/IV/2006

Yang bertanda tangan di bawah ini, Kepala Laboratorium Biologi Farmasi Jurusan Farmasi FMIPA UII menerangkan bahwa:

Nama : Eka Noviatun
NIM : 02613093
Pada Tanggal : 23 Januari 2006

Telah mendeterminasi 1 (satu) species tanaman dengan bimbingan Dra. Iyok Budiarti, di Laboratorium Biologi Farmasi FMIPA UII.

Tanaman tersebut: *Nephelium lappaceum*,L (rambutan)

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan semestinya.

Yogyakarta, 4 April 2006
Bagian Biologi Farmasi
Kepala



Asih Triastuti, S.F., Apt
NIP. 03.469/MP

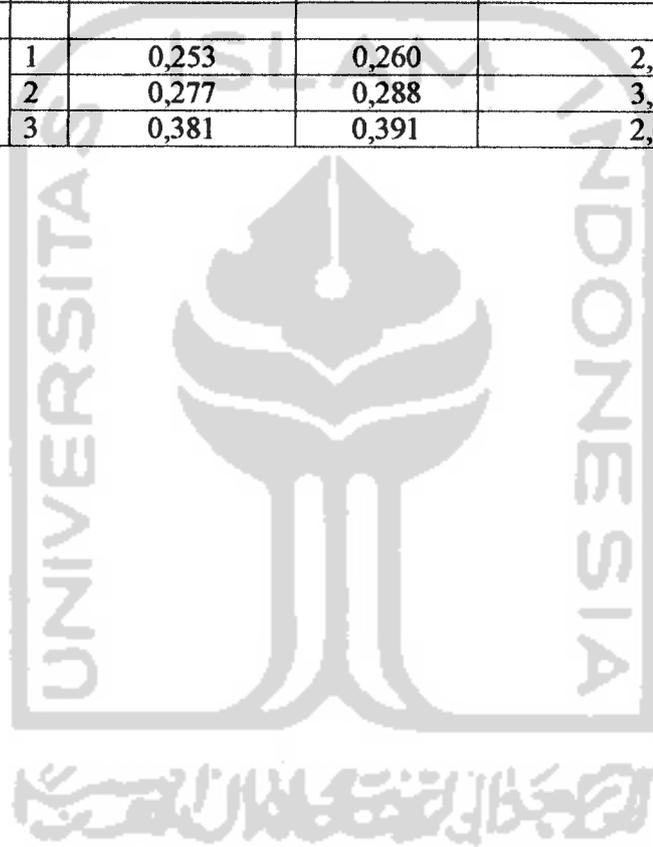
Lampiran 4**Data titer hemaglutinasi**

Mencit	Kelompok perlakuan			
	Normal	Kontrol negatif	Ekstrak etanol 100 mg/kg/hari	Ekstrak etanol 200 mg/kg/hari
1	0	32	128	64
2	0	32	64	64
3	0	32	64	64
4	0	64	64	128
5	0	32	128	128



Lampiran 5**Data respon DTH (ketebalan telapak kaki mencit)**

Kelompok perlakuan		Sebelum (mm)	Sesudah (mm)	% perubahan ketebalan kaki mencit
Kontrol negatif	1	0,240	0,244	1,67
	2	0,365	0,372	1,92
Ekstrak etanol 100 mg/kg/hari	1	0,367	0,384	4,63
	2	0,220	0,228	3,64
	3	0,181	0,197	8,84
Ekstrak etanol 200 mg/kg/hari	1	0,253	0,260	2,77
	2	0,277	0,288	3,97
	3	0,381	0,391	2,63



Lampiran 6

Data perubahan berat badan mencit selama perlakuan (gram)

Kelompok perlakuan		Hari ke-								Perubahan BB perhari
		0	1	2	3	4	5	6	7	
normal	1	21	21,5	23,5	22,5	23,5	23,5	23,5	24,5	0,500
	2	17	16	17	19,5	19	20	19,5	21	0,571
	3	25,5	27	27	27,5	28	27,5	28	28	0,357
	4	24	26	26,5	26,5	27,5	27,5	27,5	28,5	0,642
	5	28,5	29	31,5	31,5	32	33	34	33	0,642
BB rata-rata		23,5	23,9	25,1	25,5	26	26,3	26,5	27	
Kontrol negatif	1	23	25	26,5	27,5	28	29	27,5	28,5	0,785
	2	26,5	28,5	30,5	30,5	30,5	31,5	32,5	31,5	0,714
	3	30	30,5	33	33,5	35	36	37	37	1,000
	4	24,5	25,5	27	26,5	27,5	28	29,5	29,5	0,714
	5	25	26	28,5	27,5	28,5	29	30	29,5	0,642
BB rata-rata		25,8	27,1	28,9	29,1	29,9	30,7	31,3	31,2	
Ekstrak etanol 100 mg/kg/hari	1	24	25,5	26,5	25,5	25,5	25,5	25	25,5	0,214
	2	30,5	30	32	32	33	32,5	33,5	34,5	0,571
	3	26	24	24,5	26,5	26,5	27	27,5	26,5	0,071
	4	28,5	28,5	29,5	30	30,5	31	31	30,5	0,285
	5	23,5	25,5	27	26,5	27	27,5	27,5	28	0,642
BB rata-rata		26,5	26,7	27,9	28,1	28,5	28,7	28,9	29	
Ekstrak etanol 200 mg/kg/hari	1	23,5	23,5	25,5	24	24	24	25,5	25,5	0,285
	2	23,5	24,5	26	25,5	25,5	26,5	26,5	26	0,357
	3	26,5	27	28,5	28,5	27,5	29,5	29	29	0,357
	4	22	22,5	24	24,5	24,5	24,5	25	25	0,428
	5	23,5	24	26	26,5	26,5	27,5	28	27,5	0,571
BB rata-rata		23,8	24,3	26	25,8	25,6	26,4	26,7	26,6	

Lampiran 7

Preparasi dan analisis sampel serum

1. Preparasi sampel serum

- a. 100 ul darah ditampung dari hewan uji dan letakkan pada tabung
- b. Sampel darah disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 3500 rpm
- c. Seluruh serum ditransfer kedalam wadah yang sudah ditandai. Gunakan pipet
- d. Disimpan pada suhu -20°C sampai analisis berikutnya.
- e. Perhatian : yang dipindah hanya serum, bukan sel. Tidak ada lapisan putih (protein)

2. Analisis sampel serum

- a. Serum diambil dari freezer dan diletakkan pada tabung.
- b. Serum diletakan dalam waterbath 56°C selama 30 menit (untuk menghilangkan protein yang dapat melisisikan sel).
- c. Mikroplat dengan 96 sumuran disiapkan. Isi 96 sumuran dengan 20 ul PBS. Lajur pada plat untuk membuat seri pengenceran $1:12^{12}$.
- d. Sampel serum diencerkan sebagai berikut : tambah 20 ul serum pada tiap sumuran lajur pertama, berarti sampel terencerkan dua kali. Kemudian campur dengan menggunakan pipet, pindahkan 20 ul dari tiap sumuran ini ke dalam sumuran berikutnya sesuai lajur dalam seri pengenceran. Campur dan ambil 20 ul ke sumuran berikutnya diulang sampai semua sumuran sampel selesai.
- e. 20 ul SRBC 2 % ditambahkan pada semua 96 sumuran. Inkubasikan mikroplat pada suhu 37°C selama 1 jam.
- f. Dicek terjadinya hemaglutinasi : dalam sumuran dengan konsentrasi yang tinggi dari SRBC-antibodi, kompleks antibodi-sel akan berpresipitasi pada dasar sumuran. Dalam sumuran dengan konsentrasi yang rendah dari SRBC-antibodi akan menjaga SRBC dalam suspensi. Jika tidak ada antibodi, SRBC akan menjendal dibawah.
- g. Sumuran yang menunjukkan pengenceran terbesar dicatat, ini menunjukkan titer hemaglutinasi antibodi.

Lampiran 8

Pembuatan bahan yang digunakan dalam penelitian

1. Pembuatan PBS dengan PH 7,4

NaCl	: 8 g
KCl	: 0,2 g
KH ₂ PO ₄	: 0,2 g
Na ₂ HPO ₄	: 1,15 g

Semua bahan dilarutkan dalam 1 liter aquades

2. Penyiapan stok ekstrak etanol 100 mg/kg BB

100 mg/kg BB

2 mg/20 g BB mencit (20 g adalah berat standar mencit)

2 mg/0,5 ml aquades (0,5 adalah ½ volume max pemberian peroral)

4 mg/ml aquades

jika dibuat stok sebanyak 50 ml = 200 mg ekstrak kental/50 ml aquades

3. Pembuatan stok ekstrak etanol 200 mg/kg BB

200 mg/kg BB

4 mg/20 g BB mencit

4 mg/0,5 ml

8 mg/ml

jika dibuat stok sebanyak 50 ml = 400 mg ekstrak kental/50 ml aquades

Lampiran 9

Analisis statistika titer hemaglutinasi

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
perlakuan	20	3,00000	1,622214	1,000	5,000
titer_haemaglutinasi	20	54,40000	45,373769	,000	128,000

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		perlakuan	titer_haemaglutinasi
N		20	20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3,00000	54,40000
	Std. Deviation	1,622214	45,373769
Most Extreme Differences	Absolute	,231	,216
	Positive	,231	,216
	Negative	-,231	-,148
Kolmogorov-Smirnov Z		1,034	,967
Asymp. Sig. (2-tailed)		,235	,307

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

titer_haemaglutinasi

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
normal	5	,00000	,000000	,000000	,00000	,00000	,000	,000
kontrol negatif	5	38,40000	14,310835	6,400000	20,63075	56,16925	32,000	64,000
ekstrak etanol 100 mg/kg BB	5	89,60000	35,054244	15,676734	46,07441	133,12559	64,000	128,000
ekstrak etanol 200 mg/kg BB	5	89,60000	35,054244	15,676734	46,07441	133,12559	64,000	128,000
Total	20	54,40000	45,373769	10,145883	33,16442	75,63558	,000	128,000

Test of Homogeneity of Variances

titer_haemaglutinasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
27,429	3	16	,000

Lampiran (lanjutan)

ANOVA

titer_haemaglutinasi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	28467,200	3	9489,067	14,256	,000
Within Groups	10649,600	16	665,600		
Total	39116,800	19			

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
titer_haemaglutinasi	20	54,40000	45,373769	,000	128,000
perlakuan	20	3,00000	1,622214	1,000	5,000

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank
titer_haemaglutinasi	normal	5	3,00
	kontrol negatif	5	8,60
	ekstrak etanol 100 mg/kg BB	5	15,20
	ekstrak etanol 200 mg/kg BB	5	15,20
	Total	20	

Test Statistics^{a,b}

	titer_haemaglutinasi
Chi-Square	16,019
df	3
Asymp. Sig.	,001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: perlakuan

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
titer_haemaglutinasi	normal	5	3,00	15,00
	kontrol negatif	5	8,00	40,00
	Total	10		

Lampiran (lanjutan)

Test Statistics^b

	titer_ haemagl utinas
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,887
Asymp. Sig. (2-tailed)	,004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
titer_haemaglutinasi	normal	5	3,00	15,00
	ekstrak etanol 100 mg/kg BB	5	8,00	40,00
	Total	10		

Test Statistics^b

	titer_ haemagl utinas
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,835
Asymp. Sig. (2-tailed)	,005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
titer_haemaglutinasi	normal	5	3,00	15,00
	ekstrak etanol 200 mg/kg BB	5	8,00	40,00
	Total	10		

Lampiran (lanjutan)

Test Statistics^b

	titer_ haemagl utinas
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,835
Asymp. Sig. (2-tailed)	,005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
titer_haemaglutinasi	kontrol negatif	5	3,30	16,50
	ekstrak etanol 100 mg/kg BB	5	7,70	38,50
	Total	10		

Test Statistics^b

	titer_ haemagl utinas
Mann-Whitney U	1,500
Wilcoxon W	16,500
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,016 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Lampiran (lanjutan)

NPar Tests Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
titer_haemaglutinasi	kontrol negatif	5	3,30	16,50
	ekstrak etanol 200 mg/kg BB	5	7,70	38,50
	Total	10		

Test Statistics^b

	titer_ haemagl utinasi
Mann-Whitney U	1,500
Wilcoxon W	16,500
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,016 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

NPar Tests Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
titer_haemaglutinasi	ekstrak etanol 100 mg/kg BB	5	5,50	27,50
	ekstrak etanol 200 mg/kg BB	5	5,50	27,50
	Total	10		

Lampiran (lanjutan)

Test Statistics^b

	titer_ haemagl utisasi
Mann-Whitney U	12,500
Wilcoxon W	27,500
Z	,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan



Lampiran 10

Analisis statistik kenaikan berat badan mencit

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
perlakuan	20	3,00000	1,622214	1,000	5,000
kenaikan_BB	20	,51740	,222114	,071	1,000

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		perlakuan	kenaikan BB
N		20	20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3,00000	,51740
	Std. Deviation	1,622214	,222114
Most Extreme Differences	Absolute	,231	,145
	Positive	,231	,115
	Negative	-,231	-,145
Kolmogorov-Smirnov Z		1,034	,650
Asymp. Sig. (2-tailed)		,235	,792

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

kenaikan_BB

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	5% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
normal	5	,54240	,119194	,053305	,39440	,69040	,357	,642
kontrol negatif	5	,77100	,137637	,061553	,60010	,94190	,642	1,000
ekstrak etanol 100 mg/kg BB	5	,35660	,242100	,108270	,05599	,65721	,071	,642
ekstrak etanol 200 mg/kg BB	5	,39960	,108337	,048450	,26508	,53412	,285	,571
Total	20	,51740	,222114	,049666	,41345	,62135	,071	1,000

Test of Homogeneity of Variances

kenaikan_BB

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,657	3	16	,084

Lampiran (lanjutan)

ANOVA

kenaikan_BB

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,523	3	,174	6,742	,004
Within Groups	,414	16	,026		
Total	,937	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: kenaikan_BB

Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
normal	kontrol negatif	-,228600	,101735	,153	-,51967	,06247
	ekstrak etanol 100 mg/kg BB	,185800	,101735	,298	-,10527	,47687
	ekstrak etanol 200 mg/kg BB	,142800	,101735	,515	-,14827	,43387
kontrol negatif	normal	,228600	,101735	,153	-,06247	,51967
	ekstrak etanol 100 mg/kg BB	,414400*	,101735	,004	,12333	,70547
	ekstrak etanol 200 mg/kg BB	,371400*	,101735	,010	,08033	,66247
ekstrak etanol 100 mg/kg BB	normal	-,185800	,101735	,298	-,47687	,10527
	kontrol negatif	-,414400*	,101735	,004	-,70547	-,12333
	ekstrak etanol 200 mg/kg BB	-,043000	,101735	,974	-,33407	,24807
ekstrak etanol 200 mg/kg BB	normal	-,142800	,101735	,515	-,43387	,14827
	kontrol negatif	-,371400*	,101735	,010	-,66247	-,08033
	ekstrak etanol 100 mg/kg BB	,043000	,101735	,974	-,24807	,33407

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran (lanjutan)

Homogeneous Subsets

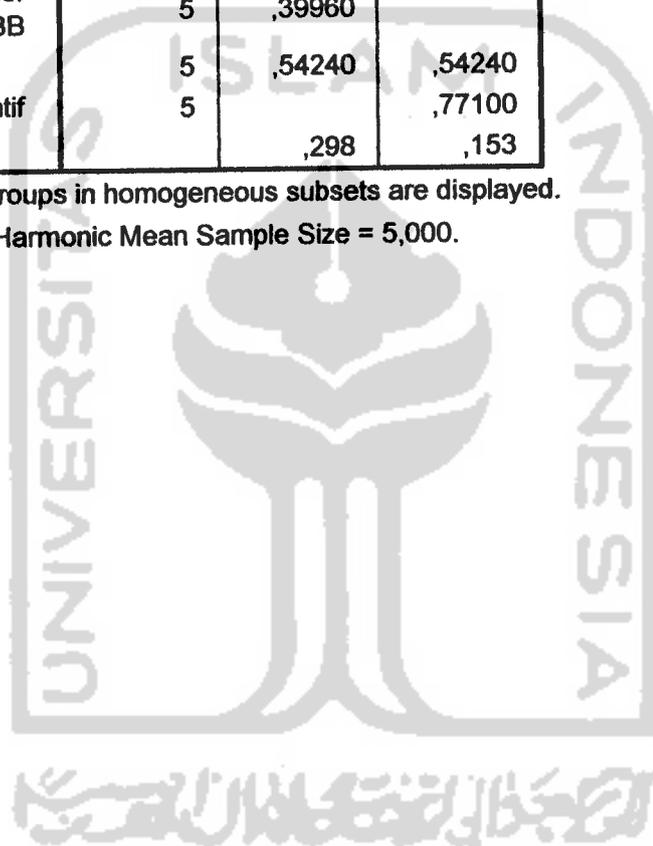
kenaikan_BB

Tukey HSD^a

perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
ekstrak etanol 100 mg/kg BB	5	,35660	
ekstrak etanol 200 mg/kg BB	5	,39960	
normal	5	,54240	,54240
kontrol negatif	5		,77100
Sig.		,298	,153

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.



Lampiran

Analisis statistik respon DTH

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
perlakuan	8	2,1250	,83452	1,00	3,00
respon_DTH	8	3,7569	2,28862	1,67	8,84

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		perlakuan	respon DTH
N		8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	2,1250	3,7569
	Std. Deviation	,83452	2,28862
Most Extreme Differences	Absolute	,228	,226
	Positive	,185	,226
	Negative	-,228	-,181
Kolmogorov-Smirnov Z		,644	,639
Asymp. Sig. (2-tailed)		,801	,808

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

respon_DTH	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol negatif	2	1,7925	,17748	,12550	,1979	3,3871	1,67	1,92
ekstrak etanol 100 mg/kg/hari	3	5,7023	2,76170	1,59447	-1,1581	12,5628	3,64	8,84
ekstrak etanol 200 mg/kg/hari	3	3,1210	,73954	,42697	1,2839	4,9581	2,63	3,97
Total	8	3,7569	2,28862	,80915	1,8435	5,6702	1,67	8,84

Test of Homogeneity of Variances

respon_DTH

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6,242	2	5	,044

ANOVA

respon_DTH					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20,285	2	10,142	3,096	,133
Within Groups	16,379	5	3,276		
Total	36,664	7			

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
respon_DTH	8	3,7569	2,28862	1,67	8,84
perlakuan	8	2,1250	,83452	1,00	3,00

Kruskal-Wallis Test

Ranks

		perlakuan	N	Mean Rank
respon_DTH	kontrol negatif		2	1,50
	ekstrak etanol 100 mg/kg/hari		3	6,67
	ekstrak etanol 200 mg/kg/hari		3	4,33
	Total		8	

Test Statistics^{a,b}

		respon_DTH
Chi-Square		5,361
df		2
Asymp. Sig.		,069

- a. Kruskal Wallis Test
b. Grouping Variable: perlakuan

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
respon_DTH	8	3,7569	2,28862	1,67	8,84
perlakuan	8	2,1250	,83452	1,00	3,00

Mann-Whitney Test

Ranks

		perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
respon_DTH	kontrol negatif		2	1,50	3,00
	ekstrak etanol 100 mg/kg/hari		3	4,00	12,00
	Total		5		

Test Statistics^b

	respon_DTH
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	3,000
Z	-1,732
Asymp. Sig. (2-tailed)	,083
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,200 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

NPar Tests**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
respon_DTH	8	3,7569	2,28862	1,67	8,84
perlakuan	8	2,1250	,83452	1,00	3,00

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
respon_DTH	kontrol negatif	2	1,50	3,00
	ekstrak etanol 200 mg/kg/hari	3	4,00	12,00
	Total	5		

Test Statistics^b

	respon_DTH
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	3,000
Z	-1,732
Asymp. Sig. (2-tailed)	,083
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,200 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

NPar Tests**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
respon_DTH	8	3,7569	2,28862	1,67	8,84
perlakuan	8	2,1250	,83452	1,00	3,00

Mann-Whitney Test

Ranks

respon_DTH	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	ekstrak etanol 100 mg/kg/hari	3	4,67	14,00
	ekstrak etanol 200 mg/kg/hari	3	2,33	7,00
	Total	6		

Test Statistics^b

	respon_DTH
Mann-Whitney U	1,000
Wilcoxon W	7,000
Z	-1,528
Asymp. Sig. (2-tailed)	,127
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,200 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

