

UJI EFEK IMMUNOMODULATOR DARI EKSTRAK DAUN MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.) DENGAN METODE CARBON CLEARENCE DAN MENGHITUNG JUMLAH SEL LEUKOSIT PADA MENCIT PUTIH JANTAN

Yufri Aldi¹⁾, Sri Oktavia²⁾, Sirda Yenni.B²⁾

¹⁾ Universitas Andalas (UNAND) Padang

²⁾ Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang

ABSTRACT

The research of immunomodulatory effect from the mangosteen (*Garcinia mangostana*) leaves ethanol extract with a *carbon clearance* method and the counting of leukocytes cell amount in male white mice. Has been done the ethanol extract of mangosteen (*Garcinia mangostana*) leaves is given to every mouse during six days with a 100 mg/kg BW, 300 mg/kg BW, and 900 mg/kg BW dose. In the seventh day, it has been decided a phagocyte index and the percentage amount of neutrophils, eosinophil, basophile, monocytes and lymphocytes. The result of the research is showing a given ethanol extract of mangosteen (*Garcinia mangostana*) leaves at the 100 mg/kg BW, 300 mg/kg BW, and 900 mg/kg BW dose, it can increase a phagocytes index that is >1 and increase the amount of leukocytes cell that the extract has a characteristic of immunostimulatory.

Keywords : Mangosteen, *Garcinia mangostana* L, Imunomodulator, Carbon Clearance

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian uji efek imunomodulator dari ekstrak etanol daun manggis dengan metoda *carbon clearance* dan menghitung jumlah sel leukosit pada mencit putih jantan. Ekstrak etanol daun manggis diberikan peroral selama 6 hari dengan dosis 100 mg/kg BB, 300 mg/kg BB dan 900 mg/kg BB, pada hari ke 7 ditentukan indeks fagositosis dan jumlah persentase sel neutrofil, eosinofil, basofil, monosit dan limfosit. Hasil penelitian ini menunjukkan pemberian ekstrak etanol daun manggis pada dosis 100 mg/kg BB, 300 mg/kg BB dan 900 mg/kg BB, dapat meningkatkan nilai indeks fagositosis >1 dan juga meningkatkan jumlah sel leukosit sehingga ekstrak ini bersifat immunostimulansia.

Kata Kunci: Manggis, *Garcinia mangostana* L., Imunomodulator, *Carbon Clearance*

PENDAHULUAN

Lingkungan sekitar kita mengandung berbagai jenis organisme patogen misalnya bakteri, virus, jamur, protozoa, dan parasit yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia. Manusia memiliki sistem pertahanan tubuh yang lengkap untuk menghadapi serangan organisme patogen. Akan tetapi, munculnya manifestasi penyakit pada seorang individu tidak hanya dipengaruhi oleh organisme patogen tersebut (Kresno, 2001).

Dewasa ini penelitian dan pengembangan tumbuhan obat baik di dalam maupun diluar negeri berkembang pesat.

Penelitian yang berkembang terutama pada segi farmakologi maupun fitokimia, berdasarkan indikasi tumbuhan obat yang telah digunakan oleh sebagian masyarakat dengan khasiat yang teruji secara empiris. Hasil penelitian tersebut tentunya lebih memantapkan para pengguna tumbuhan obat akan khasiat maupun kegunaannya (Dalimartha, 2009; Miksusanti *et al*, 2011).

Sistem imunitas yang sehat adalah jika dalam tubuh bisa membedakan antara diri sendiri dengan benda asing yang masuk kedalam tubuh. Biasanya ketika ada benda asing yang memicu respon imun masuk kedalam tubuh dikenal sebagai antigen, molekul pengenalan antigen dan fungsi

pertahanan tubuh yang diperentrai sel, terutama yang berkaitan dengan imunitas terhadap penyakit (Jawetz *et al*, 2008).

Upaya untuk meningkatkan sistem pertahanan tubuh menjadi penting dilakukan dalam rangka mempertahankan sistem pertahanan tubuh agar tetap maksimal. Saat keadaan fungsi dan jumlah sel imun kurang memadai upaya peningkatan melalui pemberian imunostimulan menjadi sangat penting.

Imunostimulan digunakan sebagai terapi tambahan untuk penyakit yang disebabkan oleh organisme patogen, membantu meringankan gejala penyakit infeksi serta mempercepat proses penyembuhannya, jika belum terkena penyakit imunostimulan bisa dipakai sebagai tindakan preventif untuk mencegah penyakit, serta untuk meningkatkan daya tahan tubuh (Bellanti, 1993).

Xanthone dapat diisolasi dari kulit buah, buah, kulit batang, dan daun manggis. *Xanthone* berkhasiat sebagai antioksidan, antitumor, anti radang, antialergi, anti bakteri, anti jamur dan anti virus (Palakawong *et al*, 2010). Senyawa *xanthone* pertamayang sudah diisolasi dinamakan *alpha mangostin* kemudian ditemukan *beta mangostin*. 50 senyawa *xanthone* di dapat dari kulit buah manggis, 17 senyawa *xanthone* di dapat dari buah manggis, 18 senyawa *xanthone* dari kulit batang manggis, dan 3 senyawa *xanthone* dari daun manggis (Chaverri *et al*, 2008).

Xanthone berperan sebagai antioksidan yang bertugas mengimbangi peningkatan radikal bebas akibat proses respirasi dikulit buah selama masa penyimpanan buah. Selain dikulit buah, *xanthone* juga terdapat pada biji, kulit batang, daun, dan sebagian kecil di daging buah manggis. Seorang peneliti di Departemen Kimia, *National University of Singapore*, berhasil mengisolasi senyawa mangoxanthone, *xanthone* dulxanthone D;

1,3,7-trihidroksi-2-meth-oksixanthone; 1,3,5- trihidroksi-13; 13-dimetil-H-pyran (7,6-b) dan *xanthone*-9-one pada inti batang pohon manggis (Mardiana, 2011). *Xanthone* bersifat sebagai immunomodulator karena menghasilkan antibody, immunoglobulin G, interleukin 1, interleukin 6, interleukin 10, dan interferon. (Sousa & Nascimento, 2005).

Dari uraian diatas berbagai penelitian telah dilakukan untuk membuktikan efek dari daun manggis, sementara itu peneliti belum menemukan adanya penelitian yang menguji efek immunomodulator dari ekstrak daun manggis. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk menguji efek immunomodulator dari ekstrak daun manggis dengan menggunakan metode *carbon clearence* pada mencit.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah jarum suntik (Widatra), botol maserasi, gunting, timbangan hewan, kandang hewan, stop watch, mikropipet, rak tabung reaksi, gelas ukur, kaca objek, plat tetes, lumpang dan stamfer, tabung reaksi, vial, spatel, timbangan analitik (precisa xb 2204), spuit (Onemed), sonde, mikroskop (optilab), spektrofotometer UV-Visibel (Shimadzu), *rotary evaporator* (Ika®).

Bahan

Daun manggis, etanol 70% (Novaparin®), aquadest, NaCl Fisiologis 0,9 % (Widata bakti), Natrium Carboxy Metil Cellulose 0,5 % (Brataco), heparin (Fahrenheit), metanol (Brataco), minyak emersi, asam asetat 1 %, pewarna Giemsa (D6 100- Darstadt), tinta cina, kloroform, serbuk Mg, Asam Klorida (Merck), Asam Sulfat (Merck).

Pengambilan sampel

Sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah daun manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebanyak 2 Kg yang diambil di daerah Kota Pariaman, Sumatera Barat.

Identifikasi tumbuhan

Identifikasi tumbuhan dilakukan di Herbarium ANDA, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas Padang.

Karakterisasi ekstrak

Parameter non spesifik (Departemen Kesehatan RI, 2000)

A. Susut pengeringan

Botol timbang dangkal dipanaskan pada suhu 105° C selama 30 menit dan ditara. Ekstrak ditimbang sebanyak 1 g dan dimasukkan kedalam botol timbang dangkal tersebut. Kemudian dipanaskan dalam oven, dalam keadaan tutup terbuka pada suhu 105° C selama 30 menit, dan diulangi hingga bobot tetap. Sebelum setiap penimbangan hasil pengeringan, biarkan botol timbang dangkal dalam keadaan tertutup mendingin dalam desikator hingga suhu kamar. Timbang hingga bobot tetap.

B. Penetapan Kadar Abu Total

Sebanyak 2 gram ekstrak dimasukkan ke dalam krus yang telah dipijarkan dan ditara, ratakan. Pijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, didinginkan, dan ditimbang. Jika arang tidak dapat hilang, maka tambahkan air panas, saring melalui kertas saring bebas abu. Pijarkan sisa kertas saring dalam krus yang sama. Masukkan filtrat ke dalam krus, uapkan, pijarkan hingga bobot tetap, lalu ditimbang.

C. Penetapan kadar abu tidak larut asam

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu total, dididihkan dengan 25 mL asam sulfat encer P selama 5 menit, kumpulkan bagian yang tidak larut dalam asam, saring melalui krus kaca masir atau kertas saring bebas abu, cuci dengan air panas, pijarkan hingga bobot tetap, timbang. Hitung kadar abu yang tidak larut dalam asam terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

Parameter spesifik

A. Identitas

Ekstrak yang diperoleh memiliki identitas yang mendeskripsikan tata nama dan senyawa identitas ekstrak. Deskripsi tata nama tanaman meliputi nama ekstrak, nama latin tanaman (sistematika botani), bagian tanaman yang digunakan dan nama tanaman Indonesia (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

B. Uji Organoleptik.

Ekstrak yang diperoleh diuji secara organoleptik menggunakan pengamatan panca indera yang menyatakan bentuk, warna, rasa dan bau dari ekstrak.

C. Kadar senyawa yang larut dalam air.

Maserasi sejumlah 5,0 gram ekstrak selama 24 jam dengan 100 ml air kloroform LP menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Saring, uapkan 20 ml filtrat hingga kering dalam cawan dangkal berdasarkan rata yang telah ditara, panaskan residu pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Hitung kadar dalam persen senyawa yang larut dalam air, dihitung terhadap ekstrak awal (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

D. Kadar senyawa yang larut dalam etanol.

Maserasi sejumlah 5,0 gram ekstrak selama 24 jam dengan menggunakan 100 ml etanol (95%), menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Saring cepat agar menghindarkan penguapan etanol uapkan 20 ml filtrat hingga kering dalam cawan dangkal berdasarkan rata yang telah ditara, panaskan residu pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Hitung kadar dalam persen senyawa yang larut dalam etanol, dihitung terhadap ekstrak awal (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

Uji Kandungan Kimia Ekstrak

Kromatografi lapis tipis

Pola Kromatografi (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000)

1. Alat

Alat yang digunakan untuk kromatografi lapis tipis yaitu lempeng kromatografi, rak penyimpanan, zat penyerap, bejana kromatografi, pipet mikro dan lampu ultraviolet.

2. Penjenuhan Bejana

Kertas saring ditempatkan dalam bejana kromatografi. Tinggi kertas saring 18 cm dan lebarnya sama dengan lebar bejana. Sejumlah larutan pengembang yang terdiri dari kloroform - etil asetat P (9:1) dimasukkan ke dalam bejana. Tutup kedap dan biarkan hingga kertas saring basah seluruhnya. Kertas saring harus selalu tercelup ke dalam larutan pengembang pada dasar bejana.

3. Larutan uji KLT

Sejumlah 500 mg ekstrak daun manggis, direndam di dalam labu ukur sambil dikocok dengan 10 mL metanol

selama 6 jam dan didiamkan selama 18 jam, kemudian disaring.

4. Prosedur KLT

Totolkan larutan uji dan larutan pembanding, menurut cara yang tertera pada masing-masing monografi dengan jarak 1,5 sampai 2 cm dari tepi bawah lempeng dan biarkan mengering. Tempatkan lempeng pada rak penyangga, hingga tempat penotolan terletak di sebelah bawah, dan masukkan rak ke dalam bejana kromatografi. Larutan pengembang dalam bejana harus mencapai tepi bawah lapisan penyerap, totolan jangan sampai terendam. Letakkan tutup bejana pada tempatnya dan biarkan sistem hingga fase gerak merambat sampai batas jarak rambat. Keluarkan lempeng dan keringkan di udara, dan amati bercak dengan sinar tampak ultraviolet gelombang pendek (254 nm). Ukur dan catat jarak tiap bercak dari titik penotolan serta catat panjang gelombang untuk tiap bercak yang diamati dan tentukan harga R_f.

Pembuatan Karbon Koloid

Serbuk karbon ditimbang sebanyak 1,6 gram, kemudian serbuk karbon disuspensikan dengan Natrium Carboxy Metil Cellulose 0,5 % dalam 25 mL Natrium Clorida fisiologis 0,9 %, sehingga diperoleh konsentrasi 64 mg/mL (6,4 %) (Hidayana, 2008; Aldi dan Ben, 1998).

Metode Carbon clearance (Dashputre & Naikwade, 2010)

Selama 6 hari hewan percobaan diberi ekstrak daun manggis secara per oral satu kali sehari sedangkan kontrol hanya diberi suspensi Natrium Carboxy Metil Cellulose 0,5 %. Pada hari ke-7, ekor mencit di basahi etanol dengan menggunakan kapas agar pembuluh darah vena ekor berdilatasi

kemudian ujung ekor mencit dipotong dan darah ditampung pada plat tetes yang telah diberi sedikit heparin, homogenkan. Darah diambil sebanyak 75 µL dan dilisis dengan 4 ml asam asetat 1 %. Darah ini digunakan sebagai contoh blanko (menit ke-0). kemudian disuntikkan karbon koloid sebanyak 0,1 mL / 10 g BB secara intravena, darah mencit diambil 75 µL pada menit ke-3,6,9,12 dan 15 setelah penyuntikan karbon. Masing-masing darah tadi dilisis dengan 4 mL asam asetat 1 % kemudian diukur absorbansi dengan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang 650 nm.

Menghitung Jumlah Sel Leukosit

Darah yang digunakan adalah darah segar pada prosedur metode carbon clearance. Darah segar ditetesi pada kaca objek satu tetes dan diratakan dengan kaca objek lain sehingga diperoleh lapisan darah yang homogen (hapusan darah), lalu dikeringkan, setelah kering lalu ditetesi dengan metanol, sehingga melapisi seluruh hapusan darah, dibiarkan selama 5 menit. Lalu tambahkan satu tetes larutan giemsa yang telah diencerkan dengan air suling dan dibiarkan selama 20 menit, cuci dengan air suling , dikeringkan dan dilihat dibawah mikroskop. Dihitung jumlah sel eusinofil, neutrofil batang, neutrofil segmen, limfosit dan monosit pada perbesaran 1000 x dengan menggunakan minyak emersi.

Perhitungan Konstanta Fagositosis

Perhitungan Konstanta fagositosis dengan rumus sebagai berikut :

$$K = \frac{\log A(n) - \log A(n-1)}{t(n-1) - t(n)}$$

Keterangan :

K = Konstanta fagositosis
 A (n) = Absorban pada Waktu ke n
 A (n-1) = Absorban pada waktu ke n-1
 t = Waktu (3,6,9,12,15 menit)

n = Pengamatan ke
 (n=1,2,3,4,5)

Perhitungan Harga Indeks Fagositosis

Perhitungan harga indeks fagositosis dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{IF mencit} \times = \frac{\text{K indeks Fagositosis} \times}{\text{K Fagositosis kontrol}}$$

Keterangan :

IF = Indeks fagositosis
 Mencit X = Mencit Yang sudah diperlakukan dan ditentukan harga constant fagositosisnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

:

Hasil identifikasi sampel menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah daun manggis (*Garcinia mangostana L.*)Pohon manggis dapat dilihat pada Gambar 1.

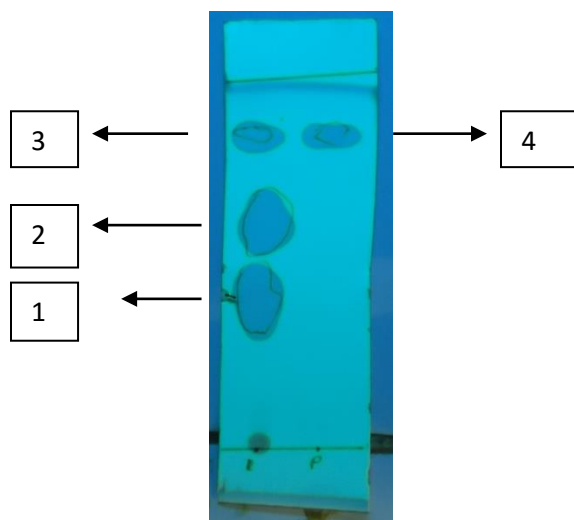


Gambar 1. Tanaman manggis

Dari 2 kg sampel segar daun manggis diperoleh ekstrak kental sebanyak 28,3742 g dan rendemennya adalah 9,46 %. Hasil pengukuran susut pengeringan dari ekstrak tersebut adalah 9,29 % , kadar abu dari ekstrak kental daun manggis itu adalah 4,41 %, kadar abu tidak larut asam dari ekstrak daun manggis adalah 1,6577, kadar senyawa

larut air dari ekstrak etanol daun manggis adalah 24,8618 dan kadar senyawa larut etanol adalah 16,7053.

Pola kromatografi ekstrak etanol daun manggis hasil KLT



Gambar 2. Hasil KLT

Ekstrak daun manggis. Pelarut metanol dan eluen : Kloroform P- etil asetat P (9:1) penampak noda sinar UV 254 nm. 1,2 dan 3: nodadari ekstrak daun manggis 4 : noda pembandingan α -Mangostin.

Kemudian dilanjutkan dengan penetapan kadar abu yang tidak larut dalam asam dari ekstrak daun manggis.

Tabel I. Penetapan kadar abu yang tidak larut asam

NO	W_0	W_1	W_2	A
1	35,2967 g	57,1399 g	35,3322 g	0,1625 %
2	35,4215 g	59,0212 g	35,5525 g	0,1310 %
3	38,4673 g	61,0184 g	38,4984 g	0,1374 %
Jumlah				0,4309 %
Rata-rata				0,1034

W_0 = Berat krus porselen kosong (g)

W_1 = Berat ekstrak daun manggis (g)

W_2 = Berat krus porselen kosong + hasil pemijaran (g)

A = Kadar abu tidak larut asam ekstrak daun manggis (%)

Setelah dilakukan pengukuran kadar abu tidak larut asam maka kita dapat mencari harga konstanta fagositosis dari

darah mencit setelah pemberian ekstrak daun manggis

Tabel II. Kostanta Fagositosis

Waktu (menit)	Indeks Fagositosis		
	D1	D2	D3
3	2,117	2	1,941
6	8,167	0,333	1,833
9	2,181	0,909	3,455
12	0,481	0,192	0,554
15	1,687	0,625	0,218
Rata-rata	2,923	0,812	1,600
SD	0,403	0,412	0,59

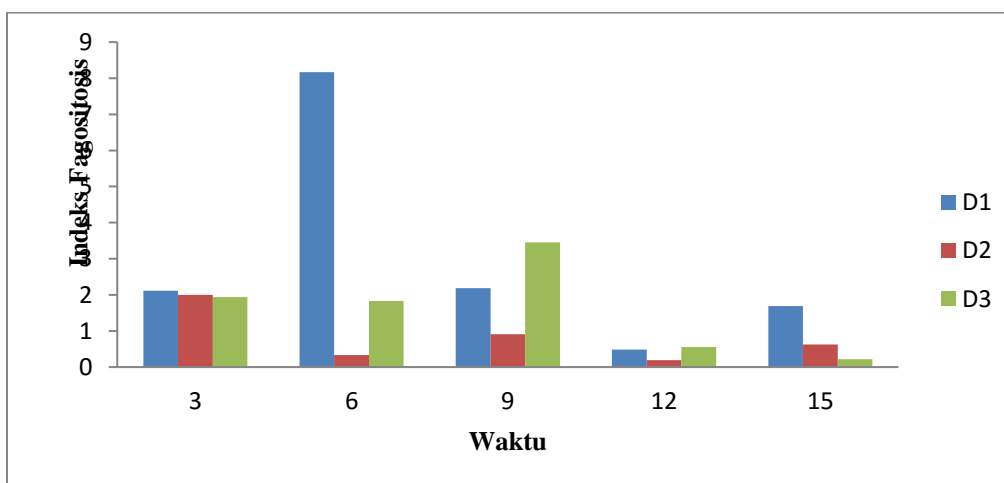
Keterangan :

D1 :Dosis 100 mg / Kg BB

D2 : Dosis 300 mg / Kg BB

D3 : Dosis 900 mg / Kg BB

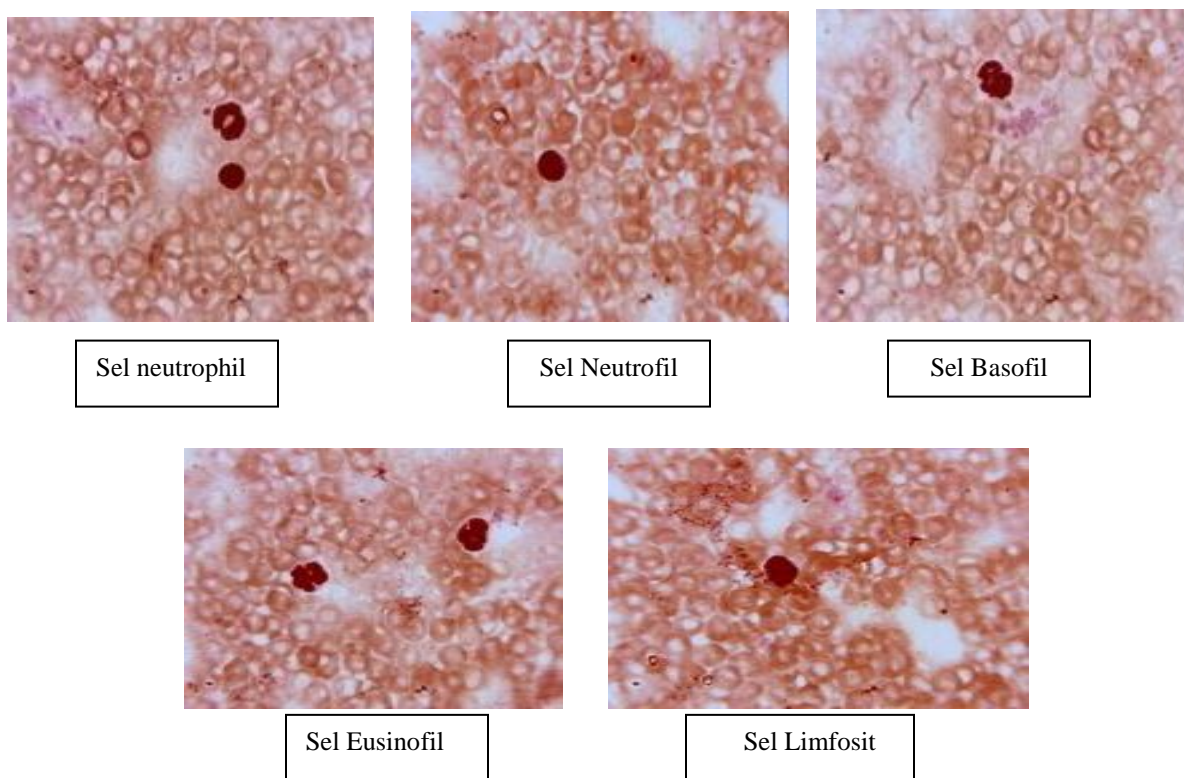
Setelah menentukan harga konstanta fagositosis kita dapat menentukan nilai dari harga indeks fagositosis dari darah mencit setelah pemberian ekstrak daun manggis.



Gambar 3. Grafik indeks fagositosis

Setelah dilakukan pengujian konstanta fagositosis dan indeks fagositosis maka dilakukan pengujian terhadap jumlah sel leukosit dari darah mencit setelah pemberian

ekstrak daun manggis hasil dari gambar sel leukosit dapat dilihat pada Gambar 4, dan hasil perhitungan jumlah sel leukosit dapat dilihat pada tabel di bawah ini



Gambar 4. Gambar Sel Leukosit dari darah mencit setelah pemberian ekstrak daun manggis

Tabel III. Jumlah sel leukosit rata-rata mencit putih jantan yang diberikan karbon koloid secara intravena setelah pemberian ekstrak etanol daun manggis selama 6 hari.

Kelompok	Sel Leukosit				
	Neutrofil Segmen	Neutrofil Batang	Limfosit	Monosit	Eusinofil
Kontrol	14,8	4	28	13	10,8
Dosis 100 mg/kg BB	24,6	3,4	11,6	19,6	16,4
Dosis 300 mg/kg BB	19	2,6	20,2	5,4	18
Dosis 900mg/kg BB	22,4	2,8	16	40	24,4

Xanthone dapat diisolasi dari kulit buah, buah, kulit batang, dan daun manggis. *Xanthone* berkhasiat sebagai antioksidan, antitumor, anti radang, antialergi, anti bakteri, anti jamur dan anti virus (Palakawong *et al*, 2010). Senyawa *xanthone* pertamayang sudah diisolasi dinamakan *alpha mangostin* kemudian

ditemukan *beta mangostin*. 50 senyawa *xanthone* di dapat dari kulit buah manggis, 17 senyawa *xanthone* di dapat dari buah manggis, 18 senyawa *xanthone* dari kulit batang manggis, dan 3 senyawa *xanthone* dari daun manggis (Chaverri *et al*, 2008).

Xanthone berperan sebagai antioksidan yang bertugas mengimbangi peningkatan radikal bebas akibat proses

respirasi dikulit buah selama masa penyimpanan buah. Selain dikulit buah, *xanthone* juga terdapat pada biji, kulit batang, daun, dan sebagian kecil di daging buah manggis. Seorang peneliti di Departemen Kimia, *National University of Singapore*, berhasil mengisolasi senyawa *mangoxanthone*, *xanthone dulxanthone D*; 1,3,7-trihidroksi-2-meth-oksixanthone; 1,3,5- trihidroksi-13; 13-dimetil-H-pyran (7,6-b) dan *xanthone-9-one* pada inti batang pohon manggis (Mardiana, 2011). Xanthone bersifat sebagai immunomodulator karena menghasilkan antibody, immunoglobulin G, inteleukin 1, interleukin 6, interleukin 10, dan interferon. (Sousa & Nascimento, 2005).

Proses penyarian sampel dilakukan secara maserasi, sebab disamping pelaksanaannya sederhana, mudah juga bisa menghindari kemungkinan terjadinya penguraian zat aktif yang terkandung dalam sampel oleh pengaruh suhu karena tidak ada proses pemanasan. Maserasi dilakukan dengan menggunakan etanol sebagai pelarut, karena dapat melarutkan hampir semua zat, baik yang bersifat polar, semi polar atau non polar. Dalam proses maserasi dipakai etanol 70%. Sebelum sampel dimaserasi, terlebih dahulu dilakukan perajangan sehingga menyebabkan lebih banyak senyawa yang akan tertarik keluar bersama pelarut, sehingga proses ekstraksi berjalan sempurna, proses penguapan pelarut menggunakan *Rotary evaporator* (Bellanti, 1993).

Setelah proses maserasi selesai dilakukan maka hasil maserasi disaring. Sisa pelarut kemudian diuapkan dengan rotary evaporator. Ekstrak kental yang diperoleh adalah 28,3742 g, ekstrak yang didapat ditentukan kadar abu dan susut pengeringan dan KLT nya. Kadar abu ekstrak etanol daun manggis ini adalah 4,41 %, kadar abu ini memenuhi syarat karena hasil pengukurannya dibawah 6% , contoh kadar

abu dapat dilihat pada lampiran 4 gambar 12. Hasil pengukuran susut pengeringan ekstrak adalah 9,29 % susut pengeringan ini memenuhi syarat karena dibawah 10 % (Departemen Kesehatan RI, 1989). Ekstrak dibuat menjadi tiga variasi dosis berdasarkan kelipatan yaitu ; 100 mg/kg BB, 300 mg/kg BB, dan 900 mg/kg BB dalam bentuk suspensi Carboxy Metil Cellulose 0,5%.

Ekstrak daun manggis di karakterisasi berdasarkan pada buku Farmakope Herbal Indonesia, yaitu karakterisasi berdasarkan parameter non spesifik, parameter spesifik dan uji kandungan kimia. Karakterisasi parameter non spesifik yaitu meliputi susut pengeringan dan kadar abu, sedangkan parameter spesifik meliputi uji organoleptis dari ekstrak daun manggis dan uji kandungan kimia ekstrak daun manggis hanya dilakukan uji KLT

Imunomodulasi adalah proses yang dapat mempengaruhi sistem imun dari sebuah organisme yang mengganggu fungsi imun dan akan menghasilkan peningkatan sistem imun spesifik dan non spesifik. Tujuan fagositosis adalah menghilangkan mikroorganisme dan benda asing, membunuh dan menelan sel benda asing tersebut. Peningkatan indeks bersihan karbon (*carbon clearance*) mencerminkan peningkatan fungsi fagositosis dari makrofag mononuclear dan sistem imun non spesifik (Sonkar & Mishara, 2011).

Sebelum digunakan sebagai hewan percobaan, mencit diaklimatisasi dalam ruangan penelitian selama satu minggu. Hal ini bertujuan untuk mengetahui hewan tersebut sakit atau tidak sebelum digunakan untuk penelitian, yang tidak menunjukkan perubahan berat badan lebih dari 10%,. Perubahan terbesar pada persentase 9.2% dan terkecil pada 1,72%, itu menunjukkan perubahan berat badan hewan tidak lebih atau tidak kurang dari 10%, hewan tersebut

sehat dan bisa digunakan dalam penelitian (Vogel, 2002)..

Pada penelitian ini dilakukan pengujian untuk melihat efek imunomodulasi ekstrak etanol daun manggis terhadap respon imun non spesifik dengan menggunakan metoda *carbon clearance* dan partikel karbon sebagai *marker* yang diinjeksikan secara intravena pada hewan percobaan, kecepatan bersihan karbon dihitung tiap selang waktu tertentu, karbon sebagai benda asing akan difagosit oleh sel-sel fagosit khususnya sel neutrofil dan monosit. Karbon yang digunakan adalah tinta cina dimana mempunyai ukuran partikel yang kecil sehingga tidak terjadi penyumbatan pada pembuluh darah. Tinta cina dikeringkan dulu sebelum digunakan untuk mendapatkan karbon untuk pembuatan larutan koloid terukur secara kuantitatif. Karbon sebagai benda asing akan segera difagosit oleh sel leukosit khususnya sel neutrofil dan monosit.

Ekstrak kental daun manggis dibuat dengan sediaan uji dalam bentuk suspensi karena tidak larut secara sempurna didalam air. Pensuspensi yang digunakan adalah Natrium Carboxy Metil Cellulose 0,5 %, karena bersifat inert sehingga tidak mempengaruhi khasiat zat aktif, menghasilkan suspensi yang stabil, resistensi yang baik terhadap mikroba, kejernihan tinggi dan pada konsentrasi ini telah terbentuk suspensi yang baik. Ekstrak yang telah dilarutkan dengan Natrium Carboxy Metil Cellulose 0,5 % diberikan secara oral, karena bentuk pemberian oral merupakan bentuk pemberian obat secara umum yang dilakukan, pemberian mudah, aman dan tidak menyakitkan (Loomis, 1987).

Ekstrak etanol daun manggis diberikan selama 6 hari berturut-turut, tujuannya untuk memberikan kesempatan bagi zat uji untuk membantu meningkatkan jumlah sel fagosit. Keberadaan karbon

sebagai *marker* dalam darah mencit adalah sebagai parameter yang diamati. Semakin banyak karbon yang difagosit maka akan sedikit karbon yang tinggal di dalam darah.

Untuk melihat efek fagositosis uji bersihan karbon dapat dibuatkan suatu kurva baku antara karbon dalam darah dengan absorban, dari kurva tersebut maka diperoleh persamaan $Y = a + bx$. Pembuatan kurva baku ini gunanya untuk melihat hubungan linier antara kadar karbon dalam darah mencit dengan absorbannya,

Pada pengukuran nilai absorban darah mencit yang mengandung karbon dengan panjang gelombang maksimum 650 nm memperlihatkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun manggis mempengaruhi jumlah atau kadar karbon. Perubahan kadar karbon tersebut mengindikasikan bahwa adanya respon imun dari tubuh terhadap masuknya zat asing kedalam tubuh. Perubahan kadar karbon ini dapat dilihat dari adanya penurunan nilai absorban. Dari nilai absorban ini dapat ditentukan nilai konstanta fagositosis, dimana nilai konstanta fagositosis merupakan parameter yang menunjukkan kecepatan fagositosis oleh sel-sel fagositik.

Dari hasil penelitian konstanta fagositosis Dari nilai konstanta fagositosis dapat diperoleh nilai indeks fagositosis, seiring dengan meningkatnya konstanta fagositosis maka nilai indeks fagositosis juga akan meningkat, hasil. Hasil penelitian menunjukkan konstanta dan indeks fagositosis kelompok yang diberi ekstrak etanol daun manggis lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Dari nilai indeks fagositosis dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun manggis dapat meningkatkan fagositosis terhadap karbon, artinya ekstrak etanol daun manggis ini memiliki kemampuan sebagai imunostimulan.

Hasil uji homogenitas variansi dengan levene statistik dari eusinofil,

neutrofil batang, neutrofil segmen, limfosit dan monosit sama ($P>0,05$) sehingga uji Anova dengan menggunakan uji F dapat dilanjutkan. Uji anova terhadap neutrofil segmen menunjukkan pemberian ekstrak etanol daun manggis pada mencit mempengaruhi rata-rata neutrofil segmen dengan signifikan ($P<0,05$). Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan kelompok rata-rata jumlah neutrofil segmen terdapat dua subset yang artinya terdapat perbedaan yang nyata

Uji anova terhadap neutrofil batang menunjukkan pemberian ekstrak etanol daun manggis pada mencit mempengaruhi rata-rata neutrofil batang dengan signifikan ($P<0,05$). Uji lanjut Duncan menunjukkan kelompok perlakuan mempunyai rata-rata neutrofil batang terdapat satu subset yang artinya tidak ada perbedaan yang nyata antara kelompok dengan meningkatnya dosis. Uji anova terhadap monosit menunjukkan pemberian ekstrak etanol daun manggis pada mencit mempengaruhi rata-rata monosit dengan signifikan ($P<0,05$). Uji lanjut Duncan menunjukkan kelompok perlakuan mempunyai rata-rata monosit terdapat empat subset yang artinya terdapat perbedaan yang nyata berdasarkan peningkatan dosisnya. Ekstrak etanol daun manggis dapat meningkatkan jumlah monosit pada mencit putih jantan.

KESIMPULAN

Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan tentang uji efek immunomodulator ekstrak daun manggis terhadap mencit putih jantan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Ekstrak etanol daun manggis dosis 100 mg/kg BB, 300 mg/kg BB dan 900 mg/kg BB yang diberikan terhadap mencit putih jantan bersifat imunostimulansia.

2. Efek yang paling tinggi sebagai imunostimulansia dari ekstrak daun manggis adalah pada dosis 100 mg/kg BB.
3. Pemberian ekstrak etanol daun manggis dosis 100 mg/kg BB, dosis 300 mg/kg BB dan 900 mg/kg BB pada mencit putih jantan dapat meningkatkan persentase dari neutrofil segmen, eosinofil, monosit dan limfosit.

DAFTAR PUSTAKA

- Aldi, Y., & Elfi, S. B. (1998). Aktivitas fraksi asam tumbuhan *Andrographis paniculata* Ness terhadap kemampuan fagositosis dengan metode *carbon clearance*. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. 3(1), 43-51.
- Bellanti, J.A (1993), *Imunologi III*. Diterjemahkan oleh A.S Wahab, dan N. Soerapto: Yogyakarta: Gajah Mada Press.
- Chaverri, J. P, Cardenas-Rodriguez, N, Orozco, I. M, & Perez, R.J.M. (2008). Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Foodchemtox*, 46, 3227-3239.
- Dalimartha, S. (2009). *Atlas tumbuhan obat Indonesia*. (Edisi 6). Jakarta: Pustaka Bunda.
- Dashputre, N.L., & Naikwade, N.S. (2010). Immunomodulatory activity of *Abutilon indicum* L on albino mice, *International Journal of Pharma Sciences and Research*, No 1, 3
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2010) *Farmakope*

- Herbal Indonesia* (Edisi I). Jakarta: Depkes RI.
- Departemen Kesehatan RI.(2000). *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Jakarta: Depkes RI.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1989). *Materia Medika Indonesia*, (Jilid V). Jakarta: Depkes RI.
- Departemen Kesehatan RI. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia*.(Edisi I). Jakarta: Depkes RI.
- Hidayana, V. (2008). *Pengaruh ekstrak etanol rimpang temu putih (curcuma zedoaria [Berg] Rosch) terhadap kemampuan fagositosis dan jumlah sel leukosit pada mencit putih jantan*.(Skripsi).STIFI-YP Padang.
- Jawetz., Melnick. & Adelberg.(2008). *Mikrobiologi Kedokteran*.alih bahasa: Huriawati hartanto. (Edisi 23). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran ECG.
- Kresno, S.B. (2001). *Imunologi diagnosis dan prosedur laboratorium*. (Edisi IV). Jakarta: UI Press.
- Loomis, T.A. (1987). *Toksikologi Dasar*. Penerjemah: Limono, A. D. Yogyakarta: Gajah Mada University.
- Mardiana, L. (2011). *Ramuan dan khasiat kulit manggis*.Jakarta: Penebar Swadaya.
- Miksusanti, at al(2011). Aktivitas campuran ekstrak kulit manggis (*Garcinia Mangostana* L) dan kayu secang (*Caesalpina sappan* L) terhadap *Bacillus cereus*. Volume 14 nomor 3(C).*Jurnal Penelitian Sains*: Universitas Sriwijaya , Sumatera Selatan, Indonesia
- Palakawong, Sophanodora, P, Picuschpen, S, & Phongpaicit, S. (2010). Antioxidant and antimicrobial activities of crude extracts from mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) parts and some essential oils.*Int. F. Researc. J*, 17, 583-589.
- Sonkar, R., & Mishara, R. N. (2011).Imunomodulatory activity of triphala magaeext.*International journal of research in pharmaceutical and biomedical sciene*. 2.
- Vogel, H.G. (2002). *Drug discovery and evaluations pharmacological assays*.(2th Edition). Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.