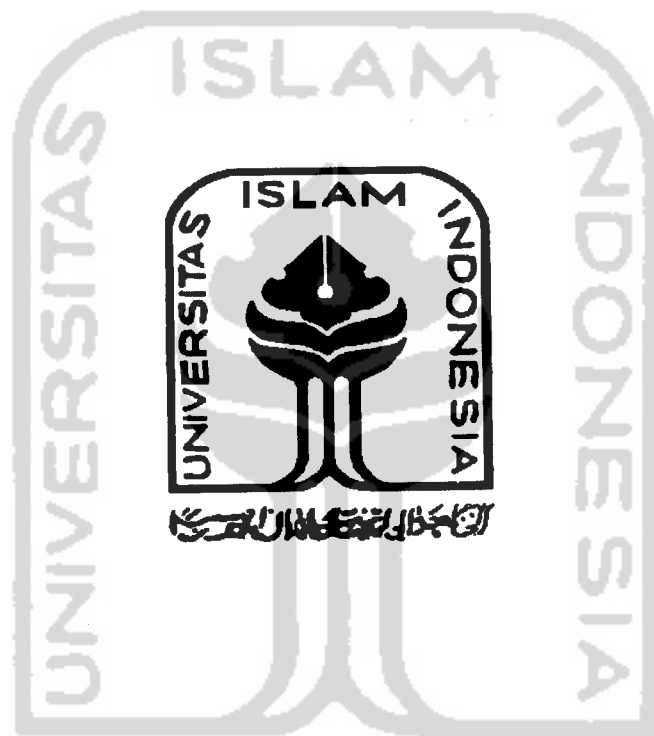


**UJI IMUNOMODULATOR
PERASAN KUNYIT (*Curcuma domestica*, Val.)
TERHADAP VAKSIN *Haemophilus influenzae* SECARA INVITRO**

SKRIPSI



Oleh :

TANTI WIDYANINGSIH

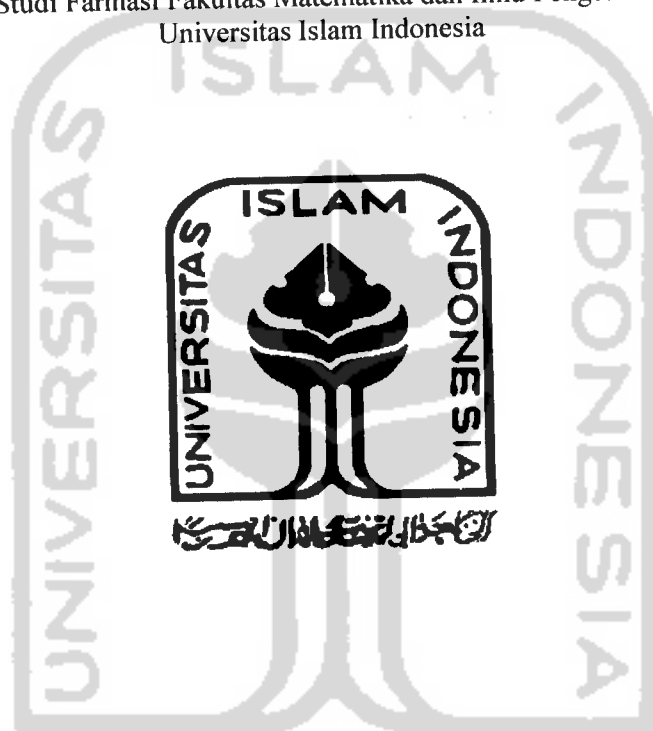
02613063

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

**UJI IMUNOMODULATOR
PERASAN KUNYIT (*Curcuma domestica*, Val.)
TERHADAP VAKSIN *Haemophilus influenzae* SECARA INVITRO**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.)
Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia



Oleh :

TANTI WIDYANINGSIH

02613063

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

**UJI IMUNOMODULATOR
PERASAN KUNYIT (*Curcuma domestica* Val)
TERHADAP VAKSIN *Haemophilus influenzae* SECARA IN VITRO**

Yang diajukan Oleh

**TANTI WIDYANINGSIH
02613063**

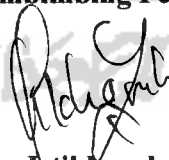
Telah disetujui oleh :

Pembimbing Utama,



Dr. Ediati Sasmito, Apt

Pembimbing Pendamping,



Rochmy Istikharah, S Farm, Apt

SKRIPSI

**UJI IMUNOMODULATOR
PERASAN KUNYIT (*Curcuma domestica*, Val.)
TERHADAP VAKSIN *Haemophilus influenzae* SECARA IN
VITRO**

Oleh:

**TANTI WIDYANINGSIH
02613063**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal: 21 September 2006
Ketua Penguji,


Dr. Ediati Sasmito, Apt

Anggota penguji,


Rochmy Istikharah, S. Farm., Apt

Anggota penguji,


Endang Darmawan, M. Si., Apt

Mengetahui
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia


Endang Darmawan, M. Si., Apt

PERNYATAAN

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

Yogyakarta, September 2006

Penulis,

Tanti Widyaningsih



"Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat".

(Q.S. al Mujadalah: 11)

Rasulullah SAW bersabda:

"Barang siapa yang menempuh satu jalan dengan tujuan mencari ilmu maka Allah akan memberikan jalan dari jalan-jalan surga".

(Syair Wahab bin Munabbah)

Ilmu akan mengantarkan suatu kaum pada puncak kemuliaan

Orang yang berilmu akan selalu dijaga dari kerusakan

Hai orang-orang yang mempunyai ilmu, bersahajalah

Janganslah kau mengotorinya dengan perbuatan yang merusak

karena tidak ada orang yang mampu menggantikan

kedudukan suatu ilmu

Ilmu mengangkat rumah tak bertiang

Kebodohan merobohkan rumah luhur & mulia

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbilalamin Saya ucapkan kepada Allah SWT yang selalu memberikan kekuatan, kesabaran dan kelancaran sehingga skripsi ini dapat selesai.

Skripsi ini Tanti persembahkan persembahkan kepada:

- Ayahanda dan Ibumba terimakasih atas doa dan dukungannya.
- Kakakku Irwan H, yang telah memotivasiku tiada henti.
- Buat teman seperjuanganku Linda Irawati atas kerjasamanya selama ini, akhirnya kita lulus Lin!! Semoga kesuksesan selalu menyertai kita..
- Thanks to teman-teman uii dita, mada, nita, vian, atas bantuan kalian semua..
- Buat pren-prenku hang out dari jaman dulu sampai sekarang niken, lili, she as, didot in bantul city..
- To my eks kostmate mba lia, mba elisa, mba aan, n mba banung atas doanya hingga akhirnya aku bisa mengikuti jejak kalian..thanks bgt..
- Dan semua pihak yang tidak dapat disebut satu persatu..terimakash banyak.

Yogyakarta, 21 September 2006

Tanti Widyaningih

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahiim

Assalamualaikum Wr. Wb

Syukur alhamdulillah kami panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan berkah, rahmat, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul **Uji Imunomodulator Perasan Kunyit (*Curcuma domestica* Val) Terhadap Vaksin *Haemophilus influenzae* Secara In Vitro** dengan baik.

Laporan skripsi ini diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai derajat Sarjana Farmasi Program Studi Farmasi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

Dalam penyusunan Skripsi ini, penyusun telah banyak mendapat bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penyusun menyampaikan terima kasih kepada:

1. Ibu Dr. Ediati Sasmito, Apt, selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberi bimbingan dan arahan selama penyusunan skripsi ini.
2. Ibu Rochmy Istikharah, S Farm., Apt selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberi bimbingan dan arahan selama penyusunan skripsi ini.
3. Bapak Endang Darmawan, M.Si., Apt selaku penguji yang telah memberikan masukan dan saran dalam penyusunan skripsi ini dan juga selaku Dekan Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia.
4. Bapak Yandi Syukri, M.Si, Apt selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia.
5. Ayahanda, ibunda dan kakakku yang tercinta yang telah memberikan do'a, motivasi, kasih sayang dan pengertian yang tidak ada habisnya.

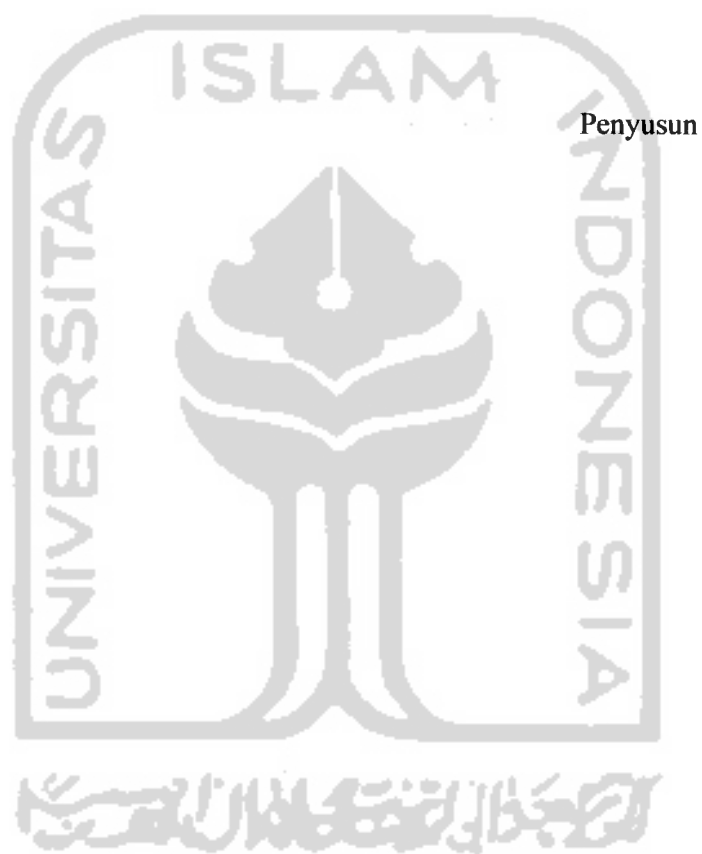
Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan karena keterbatasan-keterbatasan penulis. Oleh karena itu, penyusun

mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun demi perbaikan Skripsi ini.

Dan akhirnya penyusun berharap semoga Skripsi ini bermanfaat bagi kita semuanya.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

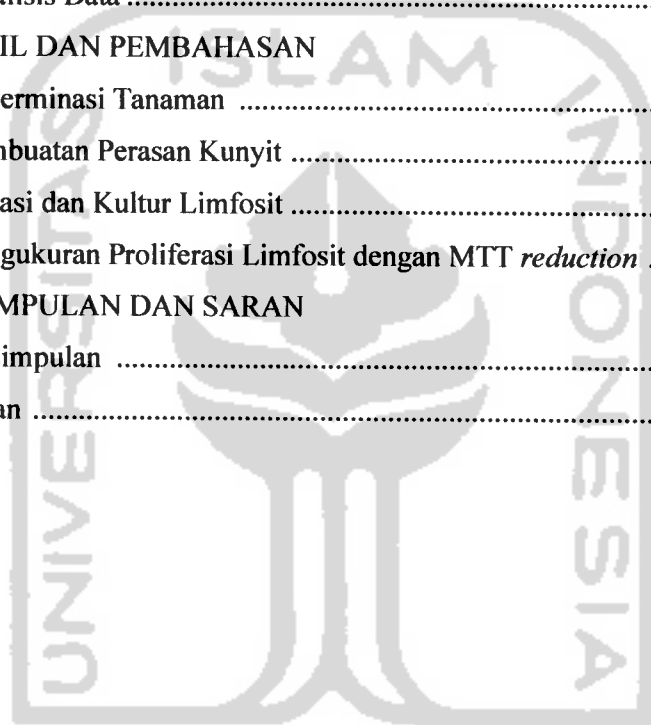
Yogyakarta, 21 September 2006



DAFTAR ISI

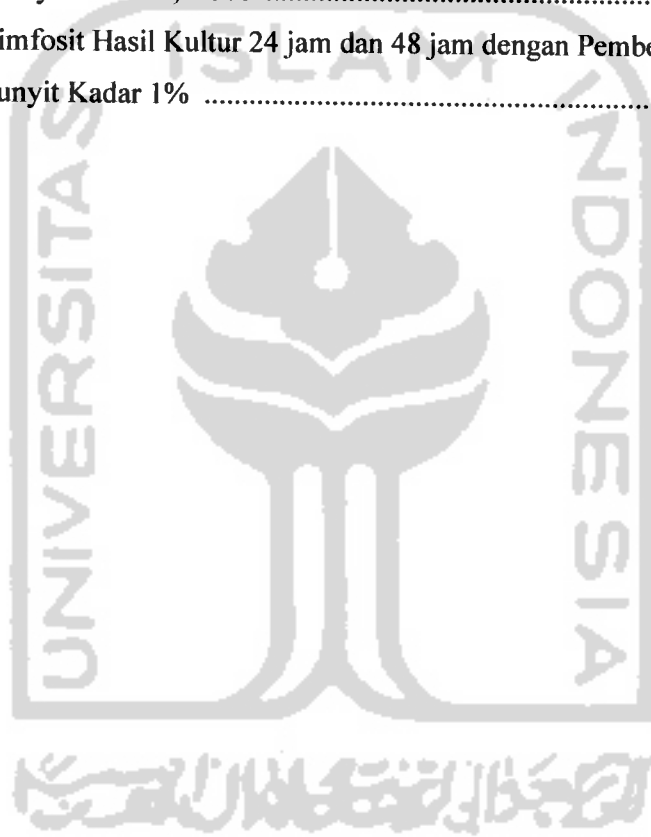
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	2
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II. STUDI PUSTAKA	
A. Tinjauan Pustaka	
1. Kunyit	4
2. Sistem Imunitas Tubuh	5
3. Organ Limfoid.....	6
4. Antigen dan Antibodi	7
5. Imunomodulasi	10
B. Landasan Teori	11
C. Hipotesis	11
BAB III METODE PENELITIAN	
A. Bahan dan Alat	
1. Bahan	12
2. Alat	12

B. Cara Penelitian	
1. Pengumpulan Bahan	13
2. Determinasi Tanaman	13
3. Sterilisasi Alat	13
4. Pembuatan Larutan Stok Perasan Kunyit.....	13
5. Isolasi Limfosit	13
6. Uji MTT <i>reduction</i>	14
C. Analisis Data	17
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Determinasi Tanaman	18
B. Pembuatan Perasan Kunyit	19
C. Isolasi dan Kultur Limfosit	19
D. Pengukuran Proliferasi Limfosit dengan MTT <i>reduction</i>	22
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	26
B. Saran	26



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Skema Kerja Isolasi Limfosit	15
Gambar 2. Skema Kerja Uji MTT <i>reduction</i>	16
Gambar 3. Limfosit Hasil Kultur (kontrol negatif)	20
Gambar 4. Limfosit Hasil Kultur 24 jam dan 48 jam dengan Pemberian Perasan Kunyit Kadar 0,0625%	20
Gambar 5. Limfosit Hasil Kultur 24 jam dan 48 jam dengan Pemberian Perasan Kunyit Kadar 0,025%	21
Gambar 6. Limfosit Hasil Kultur 24 jam dan 48 jam dengan Pemberian Perasan Kunyit Kadar 1%	21



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil OD \pm SD Pengukuran Proliferasi Limfosit Menggunakan
MTT *reduction* 23



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Pembuatan Seri Kadar Perasan Kunyit	30
Lampiran 2. Perhitungan Limfosit	31
Lampiran 4. Komposisi Bahan	32
Lampiran 3. Perhitungan % penurunan proliferasi limfosit dibanding kontrol Negatif	33
Lampiran 5. Anava satu Jalan Absorbansi Proliferasi Limfosit	34
Lampiran 6. Plate 96 Sumuran	40
Lampiran 7. ELISA Reader	41
Lampiran 8. Foto Mikroskop	42
Lampiran 9. Surat Keterangan Determinasi	43



**UJI IMUNOMODULATOR
PERASAN KUNYIT (*Curcuma domestica*, Val.)
TERHADAP VAKSIN *Haemophilus influenzae* SECARA IN VITRO**

INTISARI

Sistem imun melindungi tubuh terhadap invasi zat atau benda asing. Infeksi pada manusia dapat berasal dari berbagai unsur patogen yang terdapat pada lingkungan sekitar seperti bakteri, virus, jamur, dan protozoa. Kunyit yang merupakan tanaman tradisional mempunyai kandungan kurkumin yang dapat berfungsi sebagai antiinflamasi, antitoksik dan antikanker. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas kunyit sebagai imunomodulator. Penelitian ini dilakukan dengan menguji proliferasi sel limfosit yang diinduksi dengan vaksin *Haemophilus influenzae* terhadap perasan kunyit kadar 0,0625%, 0,125%, 0,25%, 1% dan 2% dibandingkan dengan kontrol negatif, yang dapat menurunkan proliferasi limfosit dengan persen penurunan proliferasi limfosit terhadap kontrol negatif terbesar pada perasan kunyit kadar 0,5% inkubasi 48 jam sebesar – 36,19%, sehingga kemungkinan mempunyai aktivitas immunosupresor karena pada umumnya kunyit digunakan sebagai antiinflamasi sedangkan antiinflamasi termasuk immunosupresor. Hasil proliferasi limfosit ditetapkan dengan metode *MTT reduction*.

Kata kunci: Perasan kunyit, Antigen, Imunomodulator, *MTT reduction*.

**IMUNOMODULATOR ASSAY
ON EXTORTION KUNYIT (*Curcuma domestica* Val.)
TO *Haemophilus influenzae* VACCINE IN VITRO**

ABSTRACT

Immune system can be protect the body from invasion or foreign object. Infection in human could come from various of patogen type on around environment, for examples bacterium, virus, mushroom, and protozoa. Kunyit representing traditionally crop content curcumin able to function as antiinflamatory, antitoxicity and anticancer. The aimed of this study at knowing the activity of kunyit as imunomodulator. The study was done with testing the lymphocyte proliferation by induction of *Haemophilus influenzae* vaccine to kunyit extortion with respective rate series 0,0625%, 0,125%, 0,25%, 1% and 2% is compare with negative control, that can decreased lymphocyte proliferation with the biggest percent decreation of lymphocite proliferation to negative control at series 0,5% incubation 48 hours equal to -36,19%, maybe has activity as imunosupresor because generally kunyit has use to antiinflamatory and antiinflamatory include imunosupresor. The result of lymphocite proliferation make by using MTT *reduction* method.

Keyword: Kunyit extortion, Antigen, Imunomodulator, MTT *reduction*.



BAB 1

PENDAHULUAN

A. Latar belakang Masalah

Berbagai bahan organik dan anorganik, baik yang hidup maupun yang mati, asal hewan, tumbuhan, jamur, bakteri, virus, parasit, debu rumah, uap, asap, berbagai iritan dalam polusi, ditemukan dalam lingkungan hidup kerja kita. Bahan-bahan tersebut setiap saat dapat masuk kedalam tubuh kita dan menimbulkan berbagai penyakit bahkan kerusakan jaringan. Selain itu, sel badan yang menjadi tua dan sel yang bermutasi menjadi ganas, merupakan bahan yang tidak diinginkan dan perlu disingkirkan (Baratawidjaja, 2002).

Lingkungan sekitar 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 (Kresno, 1996).

Konsep-konsep imunologi sudah lama diketahui bersifat pragmatis, dan terutama berasal dari pemikiran adanya perlawanan terhadap infeksi. Telah dikenal berabad-abad sebelumnya ditemukannya teori kuman pada penyakit infeksi, bahwa penyembuhan dari suatu penyakit infeksi diikuti oleh kemampuan si penderita tersebut untuk melawan infeksi ulang (Bellanti, 1993).

Dalam pandangan sekarang, respon imun diperlukan untuk tiga hal, yaitu : pertahanan, homeostasis, dan pengawasan. Pertahanan ditujukan terhadap infeksi mikroorganisme, homeostasis terhadap eliminasi komponen-komponen tubuh yang sudah tua, dan pengawasan dibutuhkan untuk menghancurkan sel-sel yang bermutasi terutama yang menjadi ganas (Baratawidjaja, 2002).

Bersamaan dengan krisis moneter, obat-obatan yang dulu lebih populer, kini mulai tergeser oleh obat-obatan tradisional sebagai alternatif pilihan, karena biayanya lebih terjangkau. Penggunaan obat hasil olahan pabrik juga tidak selamanya menguntungkan, kini mulai timbul kekhawatiran akan dampak yang disebabkan pada kemudian hari (Wirakusumah, 2003).

Kunyit merupakan salah satu tumbuhan yang banyak digunakan masyarakat. Rimpang kunyit terutama digunakan untuk keperluan dapur (bumbu, zat warna makanan). Beberapa penelitian secara *in vitro* dan *in vivo* menunjukkan, kunyit mempunyai aktivitas sebagai antiinflamasi (antiperadangan), aktivitas terhadap *peptic ulcer*, antitoksik, *antihiperlipidemia*, dan aktivitas antikanker (Sumiati, 2002).

Beberapa kandungan kimia dari rimpang kunyit yang telah diketahui yaitu minyak atsiri sebanyak 6% yang terdiri dari golongan senyawa *monoterpen* dan *sesquiterpen* (meliputi *zingiberen*, *alfa* dan *beta-tumerone*), zat warna kuning yang disebut *kurkuminoid* sebanyak 5% (meliputi *kurkumin* 50-60%, *monodesmetoksikurkumin* dan *bidesmetoksikurkumin*), protein, fosfor, kalium, besi dan vitamin C (Sumiati, 2002).

Untuk itu dilakukan penelitian ini yaitu untuk mengetahui apakah perasan kunyit dapat berfungsi sebagai imunostimulator atau immunosupresor. Penelitian ini dilakukan dengan menguji proliferasi sel limfosit yang diinduksi dengan vaksin *Haemophilus influenzae* terhadap perasan kunyit dengan kadar 0,0625%, 0,125%, 0,25%, 1% dan 2% dibandingkan dengan kontrol negatif. Hasil proliferasi limfosit ditetapkan dengan metode *MTT reduction*. Dari hasil yang didapat diharapkan dapat sebagai salah satu dasar penelitian selanjutnya dan pemanfaatan kunyit dalam bidang kesehatan.

B. Perumusan Masalah

Apakah perasan kunyit mempunyai aktivitas sebagai imunomodulator terhadap proliferasi limfosit dengan menggunakan metode *MTT reduction*?

C. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui aktivitas perasan kunyit (*Curcuma domestica* Val.) sebagai imunomodulator yang dilakukan secara *in vitro* dengan metode *MTT reduction* terhadap vaksin *Haemophilus influenzae* sebagai antigen.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini dapat dimanfaatkan untuk penemuan obat baru yang berguna bagi masyarakat dalam hubungannya dengan sistem imunitas tubuh.



BAB II STUDI PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Uraian tentang kunyit

a. Jenis Tanaman

Berdasarkan Klasifikasinya, kunyit termasuk :

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: Curcuma
Jenis	: <i>Curcuma domestica</i> Val.

(Syamsuhidayat, 1991)

b. Pengenalan Spesifikasi Tumbuhan

Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) adalah tanaman ternu tahunan. Hampir diseluruh Pulau Jawa, kunyit tumbuh dan berkembang secara liar di semak-semak hutan jati. Kunyit merupakan tumbuhan daerah subtropis sampai tropis dan tumbuh subur di dataran rendah lebih kurang 90 meter sampai ketinggian 2000 meter di atas permukaan laut. Kunyit mempunyai batang pohon semu dan basah. Daunnya mirip dengan tumbuh-tumbuhan jenis pisang-pisangan. Pelepah-pelepah daun kunyit yang dominan berwarna hijau membentuk batang dengan helaian daun berbentuk bulat talur. Rimpangnya memiliki banyak cabang dengan kulit luarnya berwarna jingga kecoklatan. Buah daging rimpang kunyit berwarna merah jingga kekuning-kuningan. Di Indonesia rimpang kunyit dipergunakan untuk bumbu masak. Di Eropa, kunyit dipakai sebagai bahan baku kosmetika atau pewarna makanan. Tinggi tumbuhan kunyit mampu mencapai 1 meter dan bunganya muncul dari pucuk batang semu dengan panjang sekitar 10-15 cm dan berwarna putih (Ansel, 1989).



c. Kandungan Kimia

Kunyit mengandung senyawa yang berkhasiat obat, yang disebut kurkuminoid yang terdiri dari kurkumin, desmetoksikumin dan bisdesmetoksikurkumin dan zat-zat manfaat lainnya. Kandungan Zat: Kurkumin : R1 = R2 = OCH₃ 10 % Demetoksikurkumin : R1 = OCH₃, R2 = H 1 - 5 % Bisdesmetoksikurkumin: R1 = R2 = H sisanya Minyak asiri / Volatil oil (Keton sesquiterpen, turmeron, tumeon 60%, Zingiberen 25%, felandren, sabinen, borneol dan sineil) Lemak 1 -3 %, Karbohidrat 3 %, Protein 30%, Pati 8%, Vitamin C 45-55%, Garam-garam Mineral (Zat besi, fosfor, dan kalsium) sisanya (Anonim, 2006).

2. Sistem imunitas tubuh

Sistem imun adalah semua mekanisme yang digunakan tubuh untuk mempertahankan keutuhannya terhadap bahaya yang dapat ditimbulkan berbagai bahan dalam lingkungan hidup (Baratawidjaja, 2002).

Pertahanan imun terdiri dari system imun alamiah atau non-spesifik (*natural/innate*) dan didapat atau spesifik (*adaptive/acquired*).

a. Sistem imun non-spesifik

Sistem imun non-spesifik merupakan pertahanan tubuh terdepan dalam menghadapi serangan berbagai mikroorganisme secara langsung, sedang sistem imun spesifik membutuhkan waktu untuk mengenal antigen terlebih dahulu sebelum dapat memberikan responnya. Disebut sistem non-spesifik karena tidak ditujukan terhadap mikroorganisme tertentu, telah ada pada tubuh kita dan siap berfungsi sejak lahir yang dapat berupa permukaan tubuh dan berbagai komponennya (Baratawidjaja, 2002).

b. Sistem imun spesifik

Berbeda dengan sistem 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. Apabila sel sistem yang sudah tersensitasi tersebut terpejan kembali dengan benda asing yang sama, maka benda asing yang terakhir ini akan dikenal cepat, kemudian dihancurkan

(Baratawidjaja, 2002). Respon imun spesifik menurut Kresno, 1996 terbagi dalam 3 golongan, yaitu :

(1) Respon imun humoral

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

(2) Respon imun seluler

Banyak mikroorganisme yang hidup dan berkembang biak intraseluler, antara lain dalam makrofag sehingga sulit dijangkau antibodi. Untuk melawan mikroorganisme intraseluler itu, diperlukan respon imun seluler yang merupakan fungsi limfosit T.

(3) Interaksi antara respon imun spesifik seluler dengan humoral

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

3. Organ limfoid

Organ limfoid menurut Kresno, 1996 terdiri dari 2 macam, yaitu :

a. Organ limfoid primer

Leukosit dan sel-sel yang berperan dalam respon imun dibentuk dari sistem sel dalam sumsum tulang. Sel B mengalami maturasi dan diferensiasi dalam sumsum tulang sedangkan sel T mengalami maturasi dan diferensiasi dalam kelenjar timus, karena itu kedua organ itu disebut sebagai organ limfoid primer.

b. Organ limfoid sekunder

Pembentukan limfosit dalam organ limfoid primer diikuti dengan migrasi sel-sel tersebut ke dalam organ-organ limfoid perifer atau sekunder, dan migrasi ini merupakan salah satu proses sirkulasi limfosit dalam tubuh. Contoh organ limfoid sekunder yaitu kelenjar limfe, limpa, serta jaringan limfoid lain yang tersebar dalam jaringan submukosa saluran nafas, saluran cerna dan saluran urogenital.

4. Antigen dan Antibodi

Antibodi merupakan komponen imunitas didapat yang melindungi tubuh terhadap infeksi mikroorganisme dan produknya yang toksik. Oleh karena itu, interaksi antara antigen dan antibodi sangat penting dan banyak digunakan secara *in vitro* untuk tujuan diagnostik. Penggunaan reaksi *in vitro* antara antigen-antibodi disebut serologi (Baratawidjaja, 2002).

a Antigen

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. Haptan adalah molekul yang dapat bereaksi dengan antibodi yang sudah ada (*preformed*) secara langsung, tetapi tidak dapat merangsang pembentukan antibodi secara langsung (Baratawidjaja, 2002).

Respon imun terjadi terhadap semua golongan bahan kimia seperti hidrat arang, protein dan asam nukleat. Antigen protein alamiah terbanyak adalah protein besar dengan berat molekul lebih dari 40.000 dalton dan kompleks polisakarida mikrobial (Baratawidjaja, 2002)

b *Haemophilus influenzae*

Haemophilus influenzae ditemukan pada selaput mukosa saluran napas bagian atas manusia. Bakteri ini merupakan penyebab meningitis pada anak-anak dan kadang-kadang menyebabkan infeksi saluran napas pada anak-anak dan orang dewasa.

c. Antibodi

Bila darah dibiarkan membeku akan meninggalkan serum yang mengandung berbagai bahan larut tanpa sel. Bahan larut tersebut adalah molekul antibodi yang digolongkan dalam protein yang disebut globulin dan sekarang dikenal sebagai imunoglobulin ((Baratawidjaja, 2002).

Pada manusia dikenal lima macam kelas imunoglobulin yang berbeda. Kelas-kelas ini ditandai dengan huruf G, A, M, D, E di belakang singkatan kata Ig (menunjukkan fungsi imunoglobulin) atau oleh beberapa penulis huruf-huruf tersebut ditulis di belakang simbol γ (menunjukkan mobilitas elektroforetiknya gamaglobulin) (Bellanti, 1993).

(1) Imunoglobulin G (IgG)

IgG adalah imunoglobulin yang paling berlimpah. Molekul ini mencapai konsentrasi yang berarti baik intravaskuler maupun ekstrasvaskuler, mempunyai waktu paro relatif lama (23 hari), dapat melintasi plasenta dan dapat mengakibatkan komplemen. Kelas imunoglobulin ini diduga membantu imunitas melawan berbagai agen infeksi yang disebarkan melalui darah seperti bakteri, virus, parasit dan beberapa jamur. IgG juga memberi aktivitas antibodi didalam jaringan. Reseptor-reseptor untuk IgG terdapat pada monosit manusia, leukosit polimorfonuklear (*polys*) dan sel-sel retikuloendotelia (Bellanti, 1993).

IgG merupakan komponen utama imunoglobulin serum, dengan berat molekul 160.000 dalton. Kadarnya dalam serum sekitar 13 mg/ml, merupakan 75% dari semua imunoglobulin. IgG ditemukan dalam berbagai cairan, antara lain cairan serebrospinal (*CSF*) dan juga urin. IgG dapat menembus plasenta masuk ke fetus dan berperan pada imunitas bayi sampai umur 6-9 bulan. IgG dan komplemen bekerja saling membantu sebagai opsonin oada pemusnahan antigen. IgG memiliki sifat opsonin yang efektif karena sel-sel fagosit, monosit, dan makrofag, mempunyai reseptor untuk fraksi Fc dari IGG ($Fc\gamma$ -R) sehingga dapat mempererat hubungan antara fagosit dan sel sasaran (Baratawidjaja, 2002).

(2) Imunoglobulin A

Meskipun IgA nomor dua dalam jumlah serum imunoglobulin, sumbangannya yang paling penting pada imunitas individu ialah pada sistem sekretoris eksternal. Imunoglobulin sekretoris yang penting ini dihasilkan dalam

kadar yang tinggi oleh jaringan limfoid yang melapisi traktus gastrointestinal, respiratorius, dan genitourinarius. Dalam sekresi ini (misalnya saliva, air mata) IgA dikombinasi dengan protein yang disebut komponen sekretoris yang diduga mempermudah sekresi dan melengkapi molekul ini dengan beberapa proteksi terhadap pengaruh enzim proteolitik yang biasanya terdapat pada daerah itu. Molekul-molekul IgA tidak mengaktifkan komplemen melalui cara klasik, tetapi melalui system *properidin*. IgA tidak melintasi plasenta, namun dapat membantu imunitas neonatus karena konsentrasinya yang tinggi dalam kolostrum. Reseptor-reseptor IgA terdapat pada limfosit, leukosit-polimorfonuklear dan monosit (Bellanti, 1993).

(3) Immunoglobulin M

IgM adalah molekul immunoglobulin yang terbesar ukurannya, karenanya hampir seluruhnya berada di intravaskular. Makromolekul ini adalah suatu aglutinator antigen-antigen tertentu yang sangat efisien, seperti bakteri, sel darah merah, dan mampu mengikat komplemen dengan tingkat efisiensi yang tinggi. Immunoglobulin kelas ini diduga sangat penting pada hari-hari pertama respon imun primer. Apabila antigen asing dikenalkan kedalam hospes untuk pertama kalinya, sintesis antibodi IgM mendahului IgG. Kadar antibodi IgM akan mencapai puncaknya dalam beberapa hari, kemudian menurun lebih cepat daripada kadar antibodi IgG (Bellanti, 1993).

(4) Immunoglobulin D

Imunoglobulin kelas ini terdapat pada permukaan limfosit, terutama neonatus, dengan frekuensi jauh melebihi kadar relatif dalam serum. Peran IgD ditetapkan sebagai reseptor permukaan spesifik pada permulaan reseptor imun (Bellanti, 1993).

(5) Immunoglobulin E

IgE dapat dijumpai dalam serum dengan kadar amat rendah, dan hanya merupakan 0,004% saja dari kadar immunoglobulin total. IgE dapat dijumpai dalam cairan sekresi. Salah satu sifat penting dari IgE adalah kemampuannya melekat secara erat pada permukaan mastosiy atau basofil melalui reseptor Fc (Kresno, 1996).

5. Imunomodulasi

Imunomodulasi yaitu cara untuk mengembalikan dan memperbaiki sistem imun yang fungsinya terganggu atau untuk menekan fungsi berlebihan. Obat-obatan yang dapat mengembalikan ketidakseimbangan sistem imun di sebut imunomodulator. Obat golongan imunomodulator bekerja menurut 3 cara, yaitu *imunorestorasi*, *imunostimulasi*, *imunosupresi* (Baratawidjaja, 2000).

Imunorestorasi ialah suatu cara untuk mengembalikan fungsi sistem imun yang terganggu dengan memberikan berbagai komponen sistem imun, seperti imunoglobulin.

Imunostimulasi adalah cara memperbaiki fungsi sistem imun dengan menggunakan bahan yang merangsang sistem tersebut. Bahan-bahan yang dapat meningkatkan respon imun di sebut *imunostimulator*, misalnya levamisol hidroklorida yang merupakan obat cacing yang dapat meningkatkan respon imun tubuh (*imunostimulator*). Mekanisme kerjanya dengan meningkatkan proliferasi (perkembangan sel T) dan sitotoksisitas sel T (kemampuan menghancurkan mikroorganisme atau antigen). Levamisol dapat meningkatkan efek berbagai bahan seperti antigen untuk merangsang limfosit, granulosit, dan makrofag (Barawidjaja, 2000).

Imunosupresi merupakan suatu tindakan untuk menekan respon imun. Kegunaannya di klinik terutama pada transplantasi alat tubuh dalam usaha mencegah reaksi penolakan dan pada penyakit autoimun untuk menghambat pembentukan antibodi (Baratawadjaja, 2000).

B. Landasan Teori

Sejak ribuan tahun yang lalu telah banyak berbagai macam penyakit yang menyerang manusia, baik itu berasal dari faktor gaya hidup yang tidak sehat (intern), maupun pengaruh dari luar (extern) seperti lingkungan yang kurang sehat. Dengan demikian di perlukan adanya suatu upaya untuk meningkatkan taraf kesehatan pada manusia. Salah satu upayanya yaitu dengan memanfaatkan kembali kekayaan alam yang ada di sekitar kita sendiri yaitu tumbuh-tumbuhan yang dapat membantu meningkatkan kesehatan kita.

Fakta yang ada bahwa kita sangat tergantung sekali dengan obat-obatan yang dibuat oleh pabrik untuk mengobati penyakit tanpa melihat dampak yang akan timbul kemudian hari. Kenyataan seperti ini mendorong manusia untuk mencari alternative lain yang lebih aman, dengan cara memanfaatkan ramuan dari tumbuh-tumbuhan yang mudah didapatkan di sekitar lingkungan kita untuk pencegahan dan penyembuhan suatu penyakit.

Kunyit yang juga mengandung kurkumin, banyak dimanfaatkan dalam bidang kesehatan antara lain sebagai antiinflamasi, antitoksik dan antikanker (Sumiati, 2002). Belum diketahui pasti apakah kunyit berfungsi sebagai imunostimulator atau immunosupresor. Sehingga untuk mengetahuinya perlu dilakukan penelitian ini dengan menggunakan metode *MTT reduction* terhadap vaksin *Haemophilus influenzae* sebagai antigen yang dilakukan secara *in vitro*.

C. Hipotesis

Perasan kunyit dapat berefek sebagai imunomodulasi pada perlakuan terhadap limfa mencit putih dengan jalan mempengaruhi proliferasi limfosit menggunakan metode *MTT reduction*.

BAB III METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

1. Bahan

a. Bahan utama

Kunyit, RPMI, Aquades, vaksin *Haemophilus influenzae*, limpa mencit, larutan MTT 5mg/ml.

b. Bahan untuk kultur limfosit

RPMI 1640 (Sigma), natrium bikarbonat (sigma), hepes (sigma), *fetal bovine serum* (FBS) 10% (v/v) (gibco), basa tris, ammonium klorida, etanol 70%, pereaksi turk, akuabides.

2. Alat-alat

Alat gelas yang biasa digunakan di laboratorium, pinset steril, gunting steril, jarum berujung tumpul, spuit injeksi 10 ml (stera), cawan Petri diameter 50 mm, tabung sentrifus, sentrifuge, neraca elektronik (sartorius), pipet, hemositometer (Nebaur), *stire*, pendingin, autoklaf, microwave, homogenizer, plate 96-well (nunc), inkubator CO₂ 37°C (Heraeus), inkubator 37°C (Sakura), mikro pipet ukuran 2-20 µl, 50-250 µl, 100-1000 µl (Olympus), filter 0,22µl (Sartorius), filter 0,42 µl (sartorius), Timbangan, laminar air flow (labquib), tip biru, tip kuning, lemari es.



B. Cara Penelitian

1. Pengumpulan Bahan

Kunyit diambil dari daerah Kaliurang, Sleman, Yogyakarta.

2. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM untuk memastikan kebenaran tanaman yang akan diteliti.

3. Sterilisasi alat

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

4. Pembuatan larutan stok perasan kunyit

Sebanyak 200 mg kunyit diparut kemudian ditambahkan medium RPMI ad 10 ml (2%). Selanjutnya dilakukan pengenceran untuk kadar 1%, 0,5%, 0,25%, 0,125%, 0,0625%.

5. Isolasi limfosit

Mencit dikorbankan dengan menggunakan kloroform. Mencit diletakkan dalam posisi terlentang lalu disemprot dengan alkohol 70%. Kulit bagian perut dan selubung peritoneum dibuka, limpa diangkat dan diletakkan dalam cawan Petri diameter 50 mm yang berisi 5 ml medium RPMI. Jarum ditusukkan ke salah satu ujung limpa, medium dipompakan ke dalam limpa dengan spuit injeksi 10 ml sehingga diperoleh suspensi sel. Suspensi dimasukkan dalam tabung sentrifus 10 ml. Sel disentrifus pada 3000 rpm selama 5 menit. Pellet yang didapat, disuspensikan dalam 6 ml Tris Buffered Ammonium Chlorid untuk melisiskan eritrosit. Sel dicampur menggunakan pipet dan didiamkan pada suhu ruangan selama 2 menit. FBS sebanyak 1 ml ditambahkan pada dasar tabung dengan menggunakan pipet. Suspensi tersebut kemudian disentrifus pada 3000 rpm 4°C

selama 5 menit dan supernatannya dibuang. Pellet dicuci dengan RPMI 2 kali dengan cept dipipet berulang-ulang dan disentrifus 4°C selama 5 menit. Supernatan dibuang dan sel limfosit disuspensikan dengan 1 ml medium komplit. Sel dihitung dengan hemositometer. Selanjutnya sel limfosit siap untuk diuji aktivitasnya dan dikultur dalam inkubator CO₂, 37°C.

6. Uji MTT *reduction*

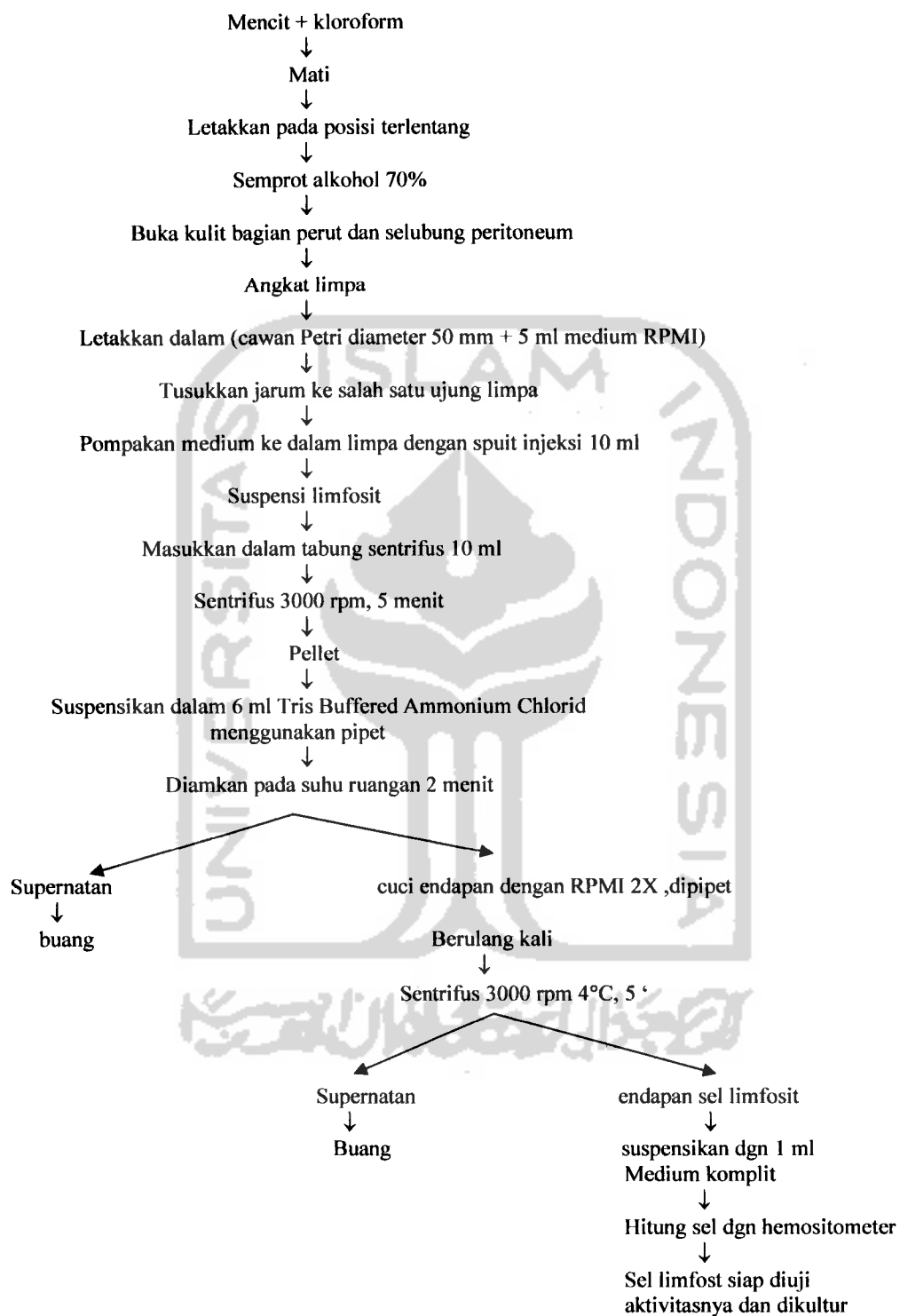
Uji MTT *reduction* menurut Protocols MTT Assay (Anonim, 2003), adalah sebagai berikut;

Sebanyak 100µl limfosit didistribusikan kedalam sumuran-sumuran pada 96-well plate dan ditambah sesuai dengan masing-masing kelompok, untuk kelompok I perasan kunyit 2%, kelompok II perasan kunyit 1%, kelompok III perasan kunyit 0,5%, kelompok VI perasan kunyit 0,125%, kelompok V perasan kunyit 0,0625% dan kelompok VI medium RPMI sebagai kontrol negatif. Masing-masing kelompok dilakukan 3 replikasi. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam dan 48 jam dalam inkubator dengan aliran 5% CO₂ pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi selama (24 jam dan 48 jam), masing-masing sumuran ditambahkan larutan 20µl MTT 5 mg/ml. Kemudian diinkubasi lagi lebih dari 4 jam pada suhu 37°C. Sel yang hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk warna biru.

Reaksi dengan MTT dihentikan dengan menambah reagen stopper, yaitu larutan SDS 10% dalam suasana asam klorida 0,001N sebanyak 50µl (setengah volume) pada tiap sumuran.

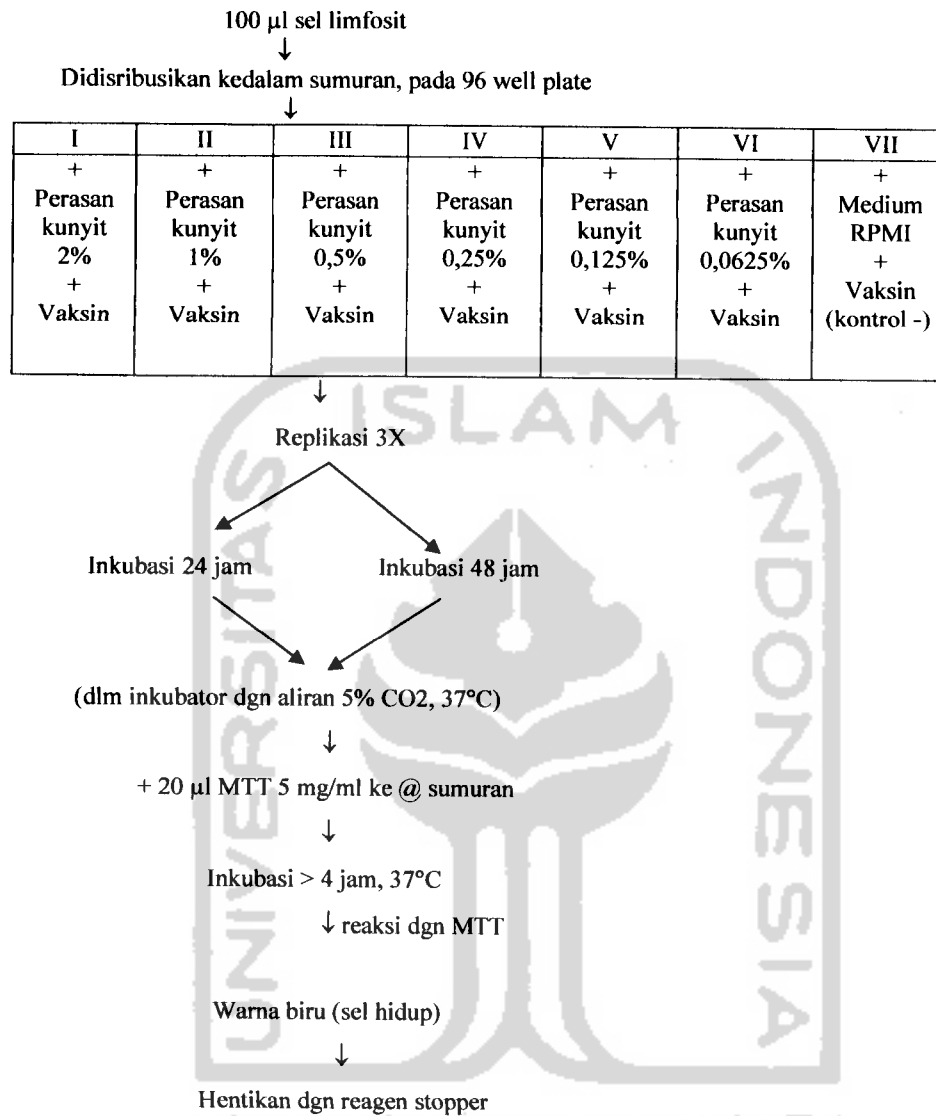
Optikal densiti dilihat pada ELISA reader λ 550 nm.

● **Isolasi limfosit**



Gambar 1. Skema kerja isolasi limfosit.

• Uji MTT *reduction*



Gambar 2. Skema kerja uji MTT *reduction*

D. Analisa Data

Data absorbansi proliferasi limfosit dianalisa menggunakan anova satu jalan dengan tingkat kepercayaan 95 %, jika ada perbedaan signifikan dilanjutkan dengan uji Tukey.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas perasan kunyit (*Curcuma domestica*, Val) sebagai imunomodulator terhadap proliferasi sel limfosit yang diinduksi vaksin *Haemophilus influenzae* sebagai antigen dengan metode MTT *reduction*. Kunyit sudah sangat dikenal sebagai bumbu masak atau rempah-rempah, bahan jamu atau obat tradisional, dan sebagai bahan pewarna (Muhlisah, 2005). Selain itu kunyit juga dapat dimanfaatkan untuk bakterisida, fungisida, dan nematisida (Supriadi, 2001). Kandungan utama kunyit, berupa minyak atsiri dan kurkumin.

Penelitian ini dilakukan dengan mengambil organ limpa dari mencit galur Balb/c. Galur Balb/c ini terbukti mempunyai kepekaan imunitas yang tinggi. Kemudian dilihat pengaruh perasan kunyit pada berbagai kadar terhadap proliferasi sel limfosit. Antigen yang digunakan adalah vaksin *Haemophilus influenzae*, yang berfungsi merangsang sistem imun. Penggunaan vaksin *Haemophilus influenzae* didasarkan atas pertimbangan biaya dan mudah diperoleh. Sebagai pembandingnya digunakan kontrol negatif yang berisi limfosit dan vaksin.

A. Determinasi Tanaman

Sebelum dilakukan uji atau analisa terhadap suatu tanaman, perlu dilakukan determinasi terhadap tanaman tersebut. Maksud dari determinasi suatu tanaman adalah untuk mengetahui kebenaran tanaman, apakah tanaman itu benar-benar tanaman yang kita inginkan. Dengan demikian kesalahan dalam pengambilan bahan yang akan diteliti dapat dihindari.

Berdasarkan hasil determinasi tanaman yang dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada berdasarkan buku *Flora of Java* (Backer & Bakhuizen, 1965) adalah sebagai berikut: 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-

32a-33a-34b-333b-334b-335ba-336a-337b-338a-339b-340a (207 Zingiberaceae)-1a-2b-3a-) (*Curcuma domestica* Val.).

B. Pembuatan Perasan Kunyit

Kunyit merupakan simplisia yang diuji. Bagian yang diambil adalah empon-emponnya karena kandungan zat aktifnya maksimal. Kemudian dibuat dalam bentuk perasan, karena faktor kemudahan dalam pengerjaan dan untuk menjaga kesegaran kunyit.

Kunyit dalam bentuk perasan dilarutkan dalam medium RPMI, kemudian dibuat larutan kadar 0,0625%, 0,125%, 0,25%, 0,5%, 1%, dan 2%. Dalam pengerjaannya dilakukan proses sentrifus untuk memisahkan cairan dari ampasnya dan memudahkan dalam proses pemfilteran lebih lanjut menggunakan filter 0,22 μm untuk mencegah kontaminan.

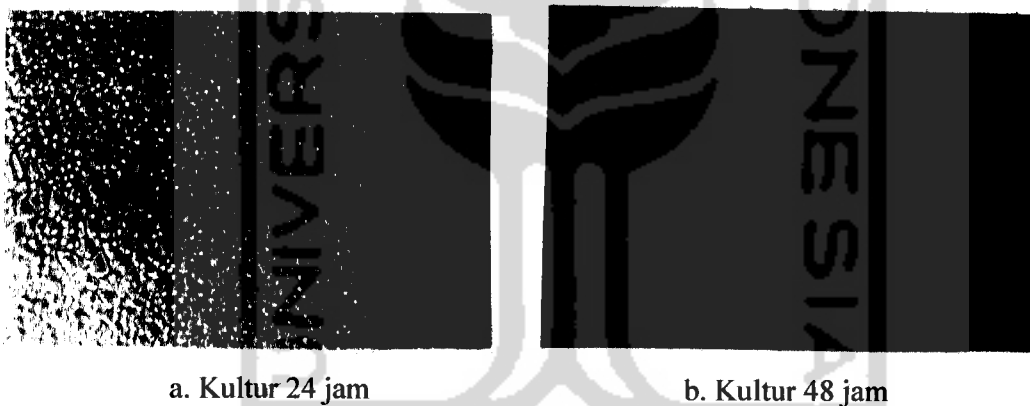
C. Isolasi dan Kultur Limfosit

Isolasi dapat dilakukan dengan 2 metode, yang pertama dengan preparasi sel yakni cara penyempotan medium ke organ dan yang kedua dengan cara memotong limpa menjadi bagian-bagian yang kecil lalu dicabik-cabik. Cara penyempotan medium ke organ merupakan cara isolasi limfosit yang paling baik, karena didalam organ limfoid terdapat sel limfosit yang begitu padat, terkemas bersama dengan jaringan ikat dan pembuluh darah. Cara ini dilakukan dengan jalan menekan atau menyuntik media (tanpa serum) dari berbagai posisi dengan jarum suntik, sel dapat dikeluarkan dengan mudah sehingga berada dalam bentuk suspensi sel keluar bersama medium yang disuntikan. Sedangkan teknik menekan atau mencabik organ menyebabkan kemungkinan besar potongan organ akan ikut dalam suspensi sel sehingga membutuhkan tahap preparasi yang lebih kompleks.

Dalam percobaan ini isolasi limfosit dilakukan dengan cara penyempotan medium ke organ. Medium yang digunakan adalah medium RPMI, yang merupakan nutrisi bagi sel hidup sehingga dapat menjaga kelangsungan hidup dari sel limfosit tersebut. Limpa diletakan dalam petridish dan isolasi dilakukan di

ruang steril, yang dimaksudkan untuk mencegah kontaminasi dari luar. Setelah medium dipompakan ke dalam limpa, kemudian sel yang keluar dan bercampur medium dibiarkan $\frac{1}{2}$ jam supaya kotorannya mengendap. Tahap selanjutnya adalah sentrifuse suspensi limfosit dalam RPMI menggunakan tabung untuk memisahkan limfosit dari kontaminan. Pellet yang didapatkan disuspensikan dalam Tris Buffered Amonium Chlorid yang bertujuan untuk melisis sel darah merah yang terikat sehingga didapatkan limfosit yang murni. Sel limfosit yang didapat disuspensikan dengan medium komplit yang berisi media RPMI 100 ml, FBS 10 ml dan pen-strep 1 ml. Adanya FBS dalam medium komplit ikut membantu kelangsungan nutrisi sel sehingga dapat bertahan hidup. Suspensi tersebut selanjutnya dihitung dengan menggunakan hemositometer. Perhitungan ini dimaksudkan untuk mengetahui volume suspensi sel yang harus diambil untuk memperoleh $1,5 \times 10^6$ sel/ml.

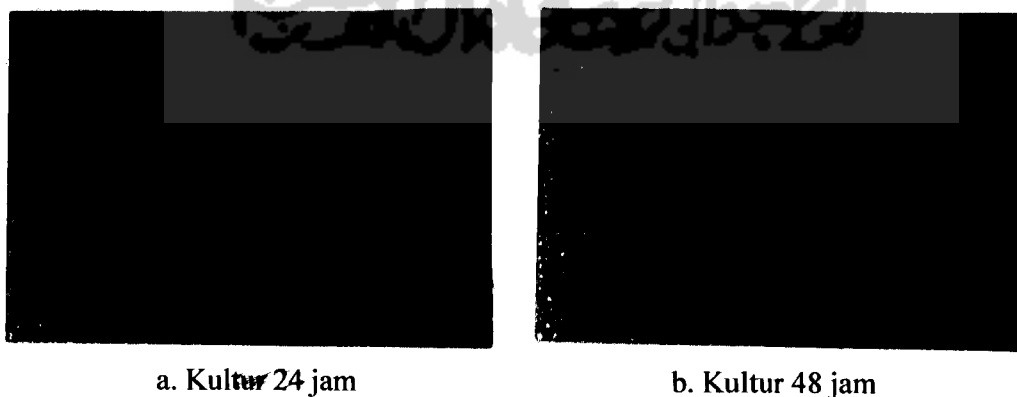
Berikut hasil proliferasi limfosit yang dapat diamati dibawah mikroskop.



a. Kultur 24 jam

b. Kultur 48 jam

Gambar 3. Limfosit hasil kultur (kontrol negatif).



a. Kultur 24 jam

b. Kultur 48 jam

Gambar 4. Limfosit kultur dengan pemberian perasan kunyit Kadar 0,0625%.



Formazan yang terbentuk dilarutkan dengan penambahan SDS 10% sebagai reagen stopper untuk menghentikan reaksi enzimatik (melisiskan sel). Intensitas warna yang ditimbulkan berkorelasi langsung dengan jumlah sel yang aktif melakukan metabolisme.

Jadi semakin banyak sel hidup yang bereaksi dengan reagen MTT maka senyawa formazan yang dihasilkan akan semakin banyak sehingga intensitas warnanyapun semakin tua.

Hasil pengukuran proliferasi limfosit dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil OD \pm SD pengukuran proliferasi limfosit menggunakan MTT *reduction*

KELOMPOK	HASIL OD \pm SD		% PENURUNAN TERHADAP KONTROL NEGATIF	
	24 JAM	48 JAM	24 JAM	48 JAM
I Perasan kunyit 2%	0,381 \pm 0,01*	0,453 \pm 0,01*	-24,40%	-13,71%
II Perasan kunyit 1%	0,395 \pm 0,02*	0,373 \pm 0,005*	-21,62%	-28,95%
III Perasan kunyit 0.5%	0,425 \pm 0,01*	0,335 \pm 0,007*	-15,67%	-36,19%
IV Perasan kunyit 0.25%	0,404 \pm 0,03*	0,376 \pm 0,01*	-19,84%	-28,38%
V Perasan kunyit 0.125%	0,392 \pm 0,03*	0,448 \pm 0,02*	-22,22%	-14,66%
VI Perasan kunyit 0.0625%	0,424 \pm 0,01*	0,483 \pm 0,02*	-15,87%	-8,00%
VII Kontrol negatif	0,504 \pm 0,004	0,525 \pm 0,015	0%	0%

Keterangan: * = berbeda signifikan terhadap kontrol negatif.

Hasil pengukuran proliferasi limfosit pada tabel 1, pada kadar 0,0625%, 0,125%, 0,25%, 0,5%, 1% dan 2% menunjukkan terjadi penurunan absorbansi bila dibandingkan kontrol negatif. Hal tersebut berarti bahwa adanya perasan kunyit menghambat proliferasi sel limfosit sehingga dapat berakibat pada menurunnya sistem imun. Berdasarkan waktu inkubasi, perasan kunyit dengan waktu inkubasi 48 jam pada kadar 0,0625%, 0,125% dan 2% diperoleh absorbansinya lebih tinggi bila dibandingkan inkubasi 24 jam. Bertambah tingginya absorbansi tersebut berarti bahwa sel limfosit terus mengalami proliferasi seiring bertambahnya waktu inkubasi sehingga jumlahnya terakumulasi. Dari hasil pengukuran proliferasi limfosit pada inkubasi 24 jam perasan kunyit nilai absorbansi maksimum terdapat pada kadar 0,5% dengan nilai $OD \pm SD$ adalah $0,425 \pm 0,01$ dan minimum pada kadar 2% dengan nilai $OD \pm SD$ adalah $0,381 \pm 0,01$. Sedangkan pada inkubasi 48 jam perasan kunyit nilai absorbansi maksimum terdapat pada kadar 0,0625% dengan nilai $OD \pm SD$ adalah $0,483 \pm 0,02$ dan minimum pada kadar 0,0625% dengan nilai $OD \pm SD$ adalah $0,335 \pm 0,007$.

Berdasarkan hasil $OD \pm SD$ (tabel 1) diketahui terjadi penurunan proliferasi limfosit pada kadar 0,0625%, 0,125%, 0,25%, 0,5%, 1% dan 2% secara tidak berkala dibanding kontrol negatif. Penurunan proliferasi limfosit terbesar dibanding kontrol negatif terjadi pada kadar perasan kunyit 0,5% dengan waktu inkubasi 48 jam yaitu sebesar -36,19%. Sedangkan penurunan terkecil terjadi pada kadar perasan kunyit 0,0625% dengan waktu inkubasi 48 jam yaitu sebesar -8,00%. Hal tersebut berarti bahwa pada kadar perasan kunyit 0,5% memiliki aktivitas immunosupresor paling besar.

Dari data absorbansi tersebut kemudian dianalisis dengan statistika menggunakan Anava satu jalan dengan taraf kepercayaan 95 % (lampiran 5) untuk meyakinkan apakah pada rata-rata absorbansi berdasarkan kelompok perlakuan tersebut berbeda signifikan atau tidak. Analisa dilakukan dengan membandingkan tiap kadar dengan tiap waktu inkubasi apakah terdapat perbedaan signifikan atau tidak dilihat dari nilai probabilitasnya. Bila nilai probabilitas $< 0,05$ berarti berbeda signifikan, namun bila $> 0,05$ tidak ada perbedaan yang signifikan.

Berdasarkan data uji tukey (lampiran 5), diketahui bahwa ada perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan pada semua kadar perasan kunyit baik inkubasi 24 jam maupun 48 jam. Hal tersebut berarti terjadi penurunan proliferasi limfosit yang cukup tinggi pada semua kadar dibanding kontrol negatif, sehingga dapat dikatakan bahwa perasan kunyit memiliki aktivitas immunosupresor. Pada hasil inkubasi 48 jam, variasi kadar perasan kunyit ternyata hampir semua memberikan pengaruh yang signifikan, sehingga dalam pemanfaatan perasan kunyit dalam bidang kesehatan, perhitungan dosis sangat diperlukan.



BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Terjadi penurunan proliferasi limfosit pada semua kadar terhadap kontrol negatif.
2. Perasan kunyit pada semua kadar dapat menurunkan sistem imun secara signifikan dengan penurunan terbesar pada kadar perasan kunyit 0,5% yaitu sebesar -36,19%.
3. Variasi antar kadar perasan kunyit pada inkubasi 48 jam hampir semua memberikan pengaruh yang signifikan.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian serupa dengan metode MTT *reduction* dengan mengukur kadar imunoglobulin yang dihasilkan.
2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut dengan mengisolasi kandungan zat aktif yang ada didalam tanaman kunyit (kurkumin) yang mempunyai peranan immunosupresor.
3. Perlu dibuat variasi dosis dengan kadar lebih kecil dan lebih besar, untuk mengetahui sejauh mana kunyit berfungsi sebagai immunosupresor.



DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2003, *Protocols MTT Assay*, <http://www.MTT Assay.htm> (diakses 6 september 2003).
- Anonim, 2005, *Kunyit*, available at, http://www.rudycet.topcities.com/pps702_71034/novalina.htm (diakses 3 November 2005).
- Anonim, 2006, *Kunyit*, available at http://www.Iptek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php?id=2, (diakses 4 agustus 2006).
- Ansel, NST., 1989, *Tanaman Obat Tradisional*, Edisi I, Kanisius, Yogyakarta, 33-34.
- Backer, C. A., Bakhuizen Van Den Brink, R. C., 1965, *Flora of Java*, vol 1, NHP Noordhoff Groningen, The Neterland, 3-25.
- Baratawidjaja, K.G., 2000, *Imunologi Dasar*, Edisi IV, Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 254.
- Baratawidjaja, K.G., 2002, *Imunologi Dasar*, Edisi ke-5, Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 1, 3-4, 16, 25-26, 28, 30-31, 38.
- Bellanti, JA, 1993, *Immunology III*, Gajah Mada University Press, Yogyakarta, 97.
- Burgess, G. W., 1995, *Teknologi ELISA dalam diagnosis dan penelitian*, diterjemahkan oleh Wayan T Artama, Gajah Mada University, Jogjakarta, 50-52, 54-56.
- Darmono, 2005, *Dasar-dasar imunologi*, available at, http://www.geocities.com/kuliah_farm/Imunologi/Dasar-imunologik.doc (diakses 8 November 2005).
- Kresno, SB., 1996, *Imunologi: Dignosis dan Prosedur Laboratorium*, Ed III, Fakultas Kedokokteran UI, Jakarta, 3-4, 6-7, 23-24.
- Muhlisah, F., 2005, *Temu-temuan dan Empon-empon*, Penerbit Kanisius, Yogyakarta, 40.
- Rantam, F.A., 2003, *Metode Imunologi*, Airlangga University Press, Surabaya, 6-8.
- Sudarsono, 1996, *Tumbuhan Obat*, PPOT-UGM, Yogyakarta, 56.

Sumiati, T., Adnyana, IK., 2002, *Kunyit, Si Kuning yang Kaya Manfaat*, available at, <http://www.pikiran-rakyat.com/cetak/0704/22/cakrawala/index.htm>.

Supriadi, 2001, *Tumbuhan Obat Indonesia*, Penerbit Pustaka Populer, Jakarta, 68.

Syamsuhidayat, Sugiati. S., Hutapea, Ria. J., 1991, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, edisi I, Depkes RI Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta, 188.

Wirakusumah, E. S., 2003, *Buah dan Sayur Untuk Terapi*, PT Penebar Swadaya, Jakarta, 73-74.





Lampiran 1. Perhitungan pembuatan seri kadar perasan kunyit

1. Perasan kunyit stock (2%)

Pembuatan: 200 mg perasan kunyit ad medium RPMI 10 ml.

Untuk 6 sumuran, @ sumuran 100 μ l x 6 = 600 μ l.

2. Perasan kunyit 1%

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 2\% = 10 \text{ ml} \times 1\%$$

$$V_1 = 5 \text{ ml} \rightarrow \text{stock diambil 5 ml ad 10 ml medium RPMI}$$

3. Perasan kunyit 0,5%

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1\% = 10 \text{ ml} \times 0,5\%$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml} \rightarrow \text{kadar 1\% diambil 0,5 ml ad 10 ml medium RPMI}$$

4. Perasan kunyit 0,25%

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 0,5\% = 10 \text{ ml} \times 0,25\%$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml} \rightarrow \text{kadar 0,5\% diambil 0,5 ml ad 10 ml medium RPMI}$$

5. Perasan kunyit 0,125%

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 0,25\% = 10 \text{ ml} \times 0,125\%$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml} \rightarrow \text{kadar 0,25\% diambil 0,5 ml ad 10 ml medium RPMI}$$

6. Perasan kunyit 0,0625%

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 0,125\% = 10 \text{ ml} \times 0,0625\%$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml} \rightarrow \text{kadar 0,125\% diambil 0,5 ml ad 10 ml medium RPMI}$$

Lampiran 2. Penghitungan limfosit

$$\text{Jumlah sel dalam 1 ml} = \frac{115 + 101 + 86 + 103}{4} \times 10^4 = 101,25 \times 10^4$$

$$\begin{aligned} \text{Total jumlah sel} &= 101 \times 10^4 \times 50 \text{ (faktor pengenceran)} \\ &= 505 \times 10^5 \text{ sel/ml} \\ &= 50,5 \times 10^6 \text{ sel/ml} \end{aligned}$$

Dalam 1 well jumlah sel berisi = 200 μ l

1 ml jumlah sel = 1 $\times 10^6$ /ml

$$1/\text{well} = \frac{1 \times 10^6}{6} = 0,2 \times 10^6 \text{ sel/ml}$$

6

Dibutuhkan 300 well

$$\begin{aligned} \text{Sel yang dibutuhkan} &= 300 \text{ well} \times 0,2 \times 10^6 \\ &= 60 \times 10^6 \text{ sel/ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jadi jumlah sel yang dibutuhkan} &= \frac{60 \times 10^6}{50 \times 10^6} \times 1 \text{ ml} \\ &= 1,19 \text{ ml} = 1190 \mu\text{l} \end{aligned}$$

$$\text{Volume} = 300 \times 100 \mu\text{l} = 30.000 \mu\text{l} = 30 \text{ ml}$$

Ambil sel 1190 μ l ad 30 ml.

Lampiran 3. Komposisi bahan**Isolasi dan kultur limfosit****a. Medium RPMI**

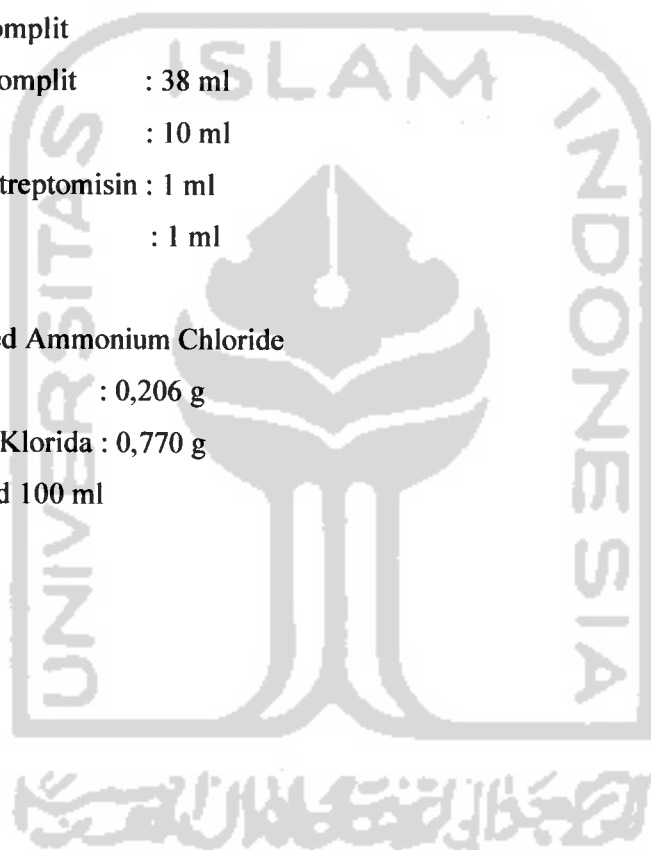
RPMI NaHCO₃ : 11
Hepes : 2 g
Aquades : 2 g

b. Medium Komplit

Medium komplit : 38 ml
FBS : 10 ml
Penisilin-streptomisin : 1 ml
Fungison : 1 ml

c. Tris Buffered Ammonium Chloride

Basa Tris : 0,206 g
Amonium Klorida : 0,770 g
Aquades ad 100 ml



Lampiran 4. Perhitungan % penurunan proliferasi limfosit terhadap kontrol negatif

$$\% \text{ perbedaan} = \frac{\text{kadar} - \text{kontrol negatif}}{\text{kontrol negatif}} \times 100\%$$

A. Inkubasi 24 jam

1. Perasan kunyit kadar 0,0625% = $\frac{0,424 - 0,504}{0,504} \times 100\% = -15,87\%$
2. Perasan kunyit kadar 0,125% = $\frac{0,392 - 0,504}{0,504} \times 100\% = -22,22\%$
3. Perasan kunyit kadar 0,25% = $\frac{0,404 - 0,504}{0,504} \times 100\% = -19,84\%$
4. Perasan kunyit kadar 0,5% = $\frac{0,425 - 0,504}{0,504} \times 100\% = -15,67\%$
5. Perasan kunyit kadar 1% = $\frac{0,395 - 0,504}{0,504} \times 100\% = -21,62\%$
6. Perasan kunyit kadar 2% = $\frac{0,381 - 0,504}{0,504} \times 100\% = -24,40\%$

B. Inkubasi 48 jam

1. Perasan kunyit kadar 0,0625% = $\frac{0,483 - 0,525}{0,525} \times 100\% = -8\%$
2. Perasan kunyit kadar 0,125% = $\frac{0,448 - 0,525}{0,525} \times 100\% = -14,66\%$
3. Perasan kunyit kadar 0,25% = $\frac{0,376 - 0,525}{0,525} \times 100\% = -28,38\%$
4. Perasan kunyit kadar 0,5% = $\frac{0,335 - 0,525}{0,525} \times 100\% = -36,19\%$
5. Perasan kunyit kadar 1% = $\frac{0,373 - 0,525}{0,525} \times 100\% = -28,95\%$
6. Perasan kunyit kadar 2% = $\frac{0,453 - 0,525}{0,525} \times 100\% = -13,71\%$

Lampiran 5. Anava 1 jalan absorbansi proliferasi limfosit

a. 24 jam

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
dosis	21	4.00	2.049	1	7
absorbansi	21	.42995	.037674	.375	.511

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		dosis	absorbansi
N		21	21
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	4.00	.42995
	Std. Deviation	2.049	.037674
Most Extreme Differences	Absolute	.121	.202
	Positive	.121	.202
	Negative	-.121	-.113
Kolmogorov-Smirnov Z		.555	.925
Asymp. Sig. (2-tailed)		.917	.359

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

absorbansi	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol negatif 24 jam	3	.50467	.005508	.003180	.49099	.51835	.501	.511
kadar 0,0625% 24 jam	3	.43567	.012858	.007424	.40373	.46761	.421	.445
kadar 0,125% 24 jam	3	.40467	.028572	.016496	.33369	.47564	.375	.432
kadar 0,25% 24 jam	3	.42867	.012897	.007446	.39663	.46070	.418	.443
kadar 0,5% 24 jam	3	.43400	.006000	.003464	.41910	.44890	.428	.440
kadar 1% 24 jam	3	.41067	.023094	.013333	.35330	.46804	.384	.424
kadar 2% 24 jam	3	.39133	.015567	.008988	.35266	.43000	.375	.406
Total	21	.42995	.037674	.008221	.41280	.44710	.375	.511

Test of Homogeneity of Variances

absorbansi			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.844	6	14	.162

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: absorbansi

Tukey HSD

(I) dosis	(J) dosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol negatif 24 jam	kadar 0,0625% 24 jam	.069000*	.013767	.003	.02199	.11601
	kadar 0,125% 24 jam	.100000*	.013767	.000	.05299	.14701
	kadar 0,25% 24 jam	.076000*	.013767	.001	.02899	.12301
	kadar 0,5% 24 jam	.070667*	.013767	.002	.02366	.11767
	kadar 1% 24 jam	.094000*	.013767	.000	.04699	.14101
	kadar 2% 24 jam	.113333*	.013767	.000	.06633	.16034
kadar 0,0625% 24 jam	kontrol negatif 24 jam	-.069000*	.013767	.003	-.11601	-.02199
	kadar 0,125% 24 jam	.031000	.013767	.330	-.01601	.07801
	kadar 0,25% 24 jam	.007000	.013767	.998	-.04001	.05401
	kadar 0,5% 24 jam	.001667	.013767	1.000	-.04534	.04867
	kadar 1% 24 jam	.025000	.013767	.559	-.02201	.07201
	kadar 2% 24 jam	.044333	.013767	.070	-.00267	.09134
kadar 0,125% 24 jam	kontrol negatif 24 jam	-.100000*	.013767	.000	-.14701	-.05299
	kadar 0,0625% 24 jam	-.031000	.013767	.330	-.07801	.01601
	kadar 0,25% 24 jam	-.024000	.013767	.601	-.07101	.02301
	kadar 0,5% 24 jam	-.029333	.013767	.387	-.07634	.01767
	kadar 1% 24 jam	-.006000	.013767	.999	-.05301	.04101
	kadar 2% 24 jam	.013333	.013767	.953	-.03367	.06034
kadar 0,25% 24 jam	kontrol negatif 24 jam	-.076000*	.013767	.001	-.12301	-.02899
	kadar 0,0625% 24 jam	-.007000	.013767	.998	-.05401	.04001
	kadar 0,125% 24 jam	.024000	.013767	.601	-.02301	.07101
	kadar 0,5% 24 jam	-.005333	.013767	1.000	-.05234	.04167
	kadar 1% 24 jam	.018000	.013767	.838	-.02901	.06501
	kadar 2% 24 jam	.037333	.013767	.166	-.00967	.08434
kadar 0,5% 24 jam	kontrol negatif 24 jam	-.070667*	.013767	.002	-.11767	-.02366
	kadar 0,0625% 24 jam	-.001667	.013767	1.000	-.04867	.04534
	kadar 0,125% 24 jam	.029333	.013767	.387	-.01767	.07634
	kadar 0,25% 24 jam	.005333	.013767	1.000	-.04167	.05234
	kadar 1% 24 jam	.023333	.013767	.630	-.02367	.07034
	kadar 2% 24 jam	.042667	.013767	.087	-.00434	.08967
kadar 1% 24 jam	kontrol negatif 24 jam	-.094000*	.013767	.000	-.14101	-.04699
	kadar 0,0625% 24 jam	-.025000	.013767	.559	-.07201	.02201
	kadar 0,125% 24 jam	.006000	.013767	.999	-.04101	.05301
	kadar 0,25% 24 jam	-.018000	.013767	.838	-.06501	.02901
	kadar 0,5% 24 jam	-.023333	.013767	.630	-.07034	.02367
	kadar 2% 24 jam	.019333	.013767	.791	-.02767	.06634
kadar 2% 24 jam	kontrol negatif 24 jam	-.113333*	.013767	.000	-.16034	-.06633
	kadar 0,0625% 24 jam	-.044333	.013767	.070	-.09134	.00267
	kadar 0,125% 24 jam	-.013333	.013767	.953	-.06034	.03367
	kadar 0,25% 24 jam	-.037333	.013767	.166	-.08434	.00967
	kadar 0,5% 24 jam	-.042667	.013767	.087	-.08967	.00434
	kadar 1% 24 jam	-.019333	.013767	.791	-.06634	.02767

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

Lampiran 5 (lanjutan)

Homogeneous Subsets

absorbansi

Tukey HSD^a

dosis	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
kadar 2% 24 jam	3	.39133	
kadar 0,125% 24 jam	3	.40467	
kadar 1% 24 jam	3	.41067	
kadar 0,25% 24 jam	3	.42867	
kadar 0,5% 24 jam	3	.43400	
kadar 0,0625% 24 jam	3	.43567	
kontrol negatif 24 jam	3		.50467
Sig.		.070	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. 48 jam

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
dosis	21	4,00	2,049	1	7
absorbansi	21	,43024	,069517	,330	,555

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		dosis	absorbansi
N		21	21
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	4,00	,43024
	Std. Deviation	2,049	,069517
Most Extreme Differences	Absolute	,121	,150
	Positive	,121	,150
	Negative	-,121	-,091
Kolmogorov-Smirnov Z		,555	,689
Asymp. Sig. (2-tailed)		,917	,729

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Lampiran 5 (lanjutan)

Oneway

Descriptives

absorbansi

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol negatif 48 jam	3	,54233	,012503	,007219	,51127	,57339	,530	,555
kadar 0,0625% 48 jam	3	,48300	,020000	,011547	,43332	,53268	,463	,503
kadar 0,125% 48 jam	3	,44800	,020664	,011930	,39667	,49933	,431	,471
kadar 0,25% 48 jam	3	,37633	,012858	,007424	,34439	,40827	,367	,391
kadar 0,5% 48 jam	3	,33567	,006658	,003844	,31913	,35221	,330	,343
kadar 1% 48 jam	3	,37300	,005196	,003000	,36009	,38591	,370	,379
kadar 2% 48 jam	3	,45333	,010970	,006333	,42608	,48058	,447	,466
Total	21	,43024	,069517	,015170	,39859	,46188	,330	,555

Test of Homogeneity of Variances

absorbansi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,173	6	14	,374

ANOVA

absorbansi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,094	6	,016	81,795	,000
Within Groups	,003	14	,000		
Total	,097	20			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: absorbansi

Tukey HSD

(I) dosis	(J) dosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol negatif 48 jam	kadar 0,0625% 48 jam	,059333*	,011298	,002	,02074	,09793
	kadar 0,125% 48 jam	,094333*	,011298	,000	,05574	,13293
	kadar 0,25% 48 jam	,166000*	,011298	,000	,12741	,20459
	kadar 0,5% 48 jam	,206667*	,011298	,000	,16807	,24526
	kadar 1% 48 jam	,169333*	,011298	,000	,13074	,20793
	kadar 2% 48 jam	,089000*	,011298	,000	,05041	,12759
kadar 0,0625% 48 jam	kontrol negatif 48 jam	-,059333*	,011298	,002	-,09793	-,02074
	kadar 0,125% 48 jam	,035000	,011298	,085	-,00359	,07359
	kadar 0,25% 48 jam	,106667*	,011298	,000	,06807	,14526
	kadar 0,5% 48 jam	,147333*	,011298	,000	,10874	,18593
	kadar 1% 48 jam	,110000*	,011298	,000	,07141	,14859
	kadar 2% 48 jam	,029667	,011298	,190	-,00893	,06826
kadar 0,125% 48 jam	kontrol negatif 48 jam	-,094333*	,011298	,000	-,13293	-,05574
	kadar 0,0625% 48 jam	-,035000	,011298	,085	-,07359	,00359
	kadar 0,25% 48 jam	,071667*	,011298	,000	,03307	,11026
	kadar 0,5% 48 jam	,112333*	,011298	,000	,07374	,15093
	kadar 1% 48 jam	,075000*	,011298	,000	,03641	,11359
	kadar 2% 48 jam	-,005333	,011298	,999	-,04393	,03326
kadar 0,25% 48 jam	kontrol negatif 48 jam	-,166000*	,011298	,000	-,20459	-,12741
	kadar 0,0625% 48 jam	-,106667*	,011298	,000	-,14526	-,06807
	kadar 0,125% 48 jam	-,071667*	,011298	,000	-,11026	-,03307
	kadar 0,5% 48 jam	,040667*	,011298	,036	,00207	,07926
	kadar 1% 48 jam	,003333	,011298	1,000	-,03526	,04193
	kadar 2% 48 jam	-,077000*	,011298	,000	-,11559	-,03841
kadar 0,5% 48 jam	kontrol negatif 48 jam	-,206667*	,011298	,000	-,24526	-,16807
	kadar 0,0625% 48 jam	-,147333*	,011298	,000	-,18593	-,10874
	kadar 0,125% 48 jam	-,112333*	,011298	,000	-,15093	-,07374
	kadar 0,25% 48 jam	-,040667*	,011298	,036	-,07926	-,00207
	kadar 1% 48 jam	-,037333	,011298	,061	-,07593	,00126
	kadar 2% 48 jam	-,117667*	,011298	,000	-,15626	-,07907
kadar 1% 48 jam	kontrol negatif 48 jam	-,169333*	,011298	,000	-,20793	-,13074
	kadar 0,0625% 48 jam	-,110000*	,011298	,000	-,14859	-,07141
	kadar 0,125% 48 jam	-,075000*	,011298	,000	-,11359	-,03641
	kadar 0,25% 48 jam	-,003333	,011298	1,000	-,04193	,03526
	kadar 0,5% 48 jam	,037333	,011298	,061	-,00126	,07593
	kadar 2% 48 jam	-,080333*	,011298	,000	-,11893	-,04174
kadar 2% 48 jam	kontrol negatif 48 jam	-,089000*	,011298	,000	-,12759	-,05041
	kadar 0,0625% 48 jam	-,029667	,011298	,190	-,06826	,00893
	kadar 0,125% 48 jam	,005333	,011298	,999	-,03326	,04393
	kadar 0,25% 48 jam	,077000*	,011298	,000	,03841	,11559
	kadar 0,5% 48 jam	,117667*	,011298	,000	,07907	,15626
	kadar 1% 48 jam	,080333*	,011298	,000	,04174	,11893

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

Lampiran 5 (lanjutan)

Homogeneous Subsets

absorbansi

Tukey HSD^a

dosis	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
kadar 0,5% 48 jam	3	,33567			
kadar 1% 48 jam	3	,37300	,37300		
kadar 0,25% 48 jam	3		,37633		
kadar 0,125% 48 jam	3			,44800	
kadar 2% 48 jam	3			,45333	
kadar 0,0625% 48 jam	3			,48300	
kontrol negatif 48 jam	3				,54233
Sig.		,061	1,000	,085	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 6. Plate 96 sumuran

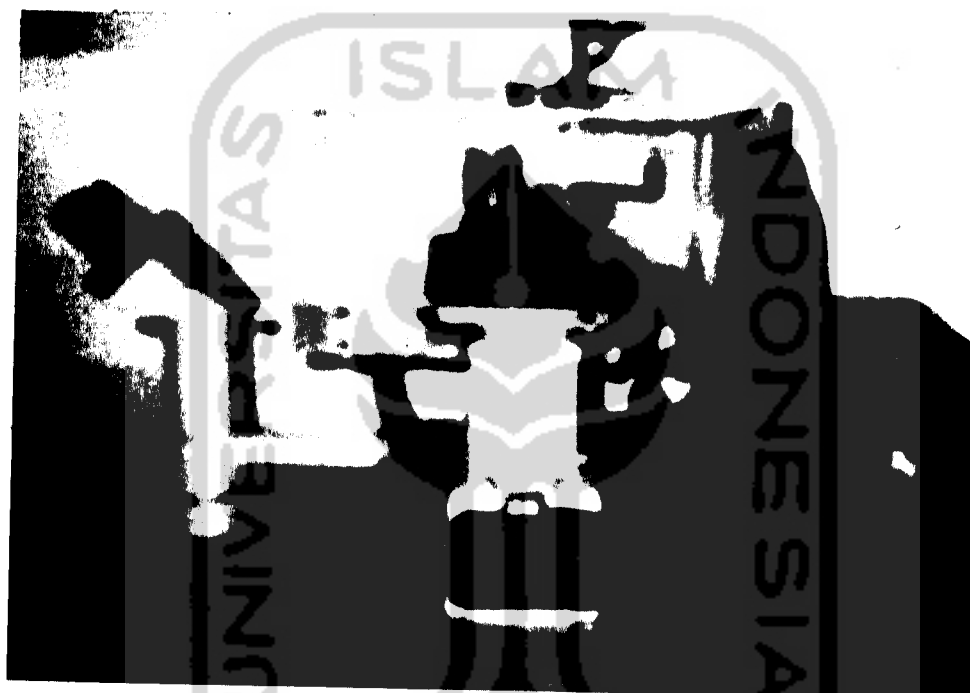
Lam



Lampiran 7. ELISA reader



Lampiran 8. Foto mikroskop



Lampiran 9. Surat keterangan determinasi

BAGIAN BIOLOGI FARMASI
FAKULTAS FARMASI UGM

Alamat : Sekip Utara Jogjakarta
Telpon : 0274 542738, 902663

SURAT KETERANGAN
Nomor : UGM/FA/31 /Ident' II/2006

Yang bertanda tangan di bawah ini kepala Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM menerangkan bahwa :



Nama : Tanti Widyarningsih
No. Mhs. : 02613063

telah mengidentifikasi satu sampel rimpang tumbuhan :

Curcuma domestica Val.

di Laboratorium Farmakognosi Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM.
Pada tanggal 23 Februari 2006
Surat keterangan ini dapat digunakan seperlunya.

Jogjakarta, 24 Februari 2006
Bagian Biologi Farmasi
Kepala


Dr. Subagus Wahyuono, Apt. 
NIP. 130604698