



a. Kultur 24 jam

b. Kultur 48 jam

Gambar 5. Limfosit hasil kultur dengan pemberian perasan kunyit Kadar 0,25%.



a. Kultur 24 jam

b. Kultur 48 jam

Gambar 6. Limfosit hasil kultur dengan pemberian perasan kunyit Kadar 1%.

Berdasarkan gambar 3 sampai gambar 6 dapat diketahui bahwa pada kontrol negatif 24 jam (gambar 3) sel-sel limfosit berproliferasi menggerombol seperti buah anggur. Pada inkubasi 24 jam kadar perasan kunyit 0,0625%, 0,25%, 1% jika dibandingkan dengan kontrol negatif terlihat adanya penurunan proliferasi limfosit. Demikian pula pada inkubasi 48 jam juga terjadi penurunan proliferasi limfosit kadar perasan kunyit 0,0625%, 0,25% dan 1%. Penurunan proliferasi limfosit kemungkinan sebabkan sel limfosit tidak stabil pada penambahan perasan kunyit, sehingga sebagian sel telah mati. Berdasarkan data diatas diketahui bahwa kurkumin yang terdapat dalam perasan kunyit berkemungkinan besar sebagai immunosupresor. Morfologi sel limfosit dibawah mikroskop menunjukkan sel yang berbentuk bulat-bulat kecil, populasinya banyak dengan inti sel yang hanya terlihat sebagai titik kecil.

D. Pengukuran proliferasi limfosit dengan metode MTT reduction

Uji MTT reduction yang merupakan suatu metode pengukuran terhadap sel hidup. MTT merupakan garam tetrazolium yang larut dalam air. Pengukuran sel tergantung dari reduksi MTT (*3-(4,5-dimethylthazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide*) oleh sistem Suksinat tetrazolium reduktase yang terdapat pada mitokondria membentuk kristal formazan yang berwarna ungu dan tidak larut dalam air (Anonim, 2003).

Sel limfosit didistribusikan ke dalam 96-well plate dan pada masing-masing sumuran ditambahkan vaksin *H Influenzae* yang berfungsi sebagai antigen untuk merangsang sistem imun sehingga akan merangsang sel limfosit untuk berproliferasi sebagai akibat adanya zat asing yang masuk. Penambahan perasan kunyit pada beberapa seri kadar 0,0625%, 0,125%, 0,25%, 0,5%, 1%, 2%, diharapkan dapat untuk mengetahui aktivitas kunyit sebagai imunostimulator atau immunosupresor. Pada tiap-tiap seri kadar dilakukan replikasi 3 kali yaitu untuk meminimalkan kesalahan yang mungkin terjadi dalam pengujian. Kemudian dilakukan inkubasi 24 jam (dalam inkubator dengan aliran 5% CO₂, 37⁰ C) yang dimaksudkan untuk menumbuhkan sel limfosit agar dapat berproliferasi. Selama inkubasi, jumlah sel dalam kultur limfosit akan bertambah banyak karena mengalami proliferasi. Sel yang hidup dan berproliferasi ditandai dengan kristal formazan dan sel yang membentuk roset. Kemudian hasil yang didapat dibandingkan dengan kontrol negatif yaitu limfosit dan vaksin.

Inkubasi dilanjutkan sampai 48 jam, dilakukan selama maksimal 48 jam karena masa hidup sel maksimal 3 hari jadi dikawatirkan sel-sel akan mati sehingga proliferasinya semakin lama akan menurun. Adanya proliferasi limfosit menunjukkan bahwa adanya respon imun yang meningkat akibat penambahan perasan kunyit, dan sebaliknya immunosupresor jika sel limfosit menurun pada penambahan perasan kunyit berbagai kadar dibanding kontrol negatif.

Selanjutnya ditambahkan MTT dan diinkubasi selama 4 jam agar MTT bereaksi dengan suspensi. Setelah 4 jam kemudian ditambahkan reagen stopper (SDS 10%) untuk menghentikan reaksi MTT yang cara kerjanya mendenaturasi protein.