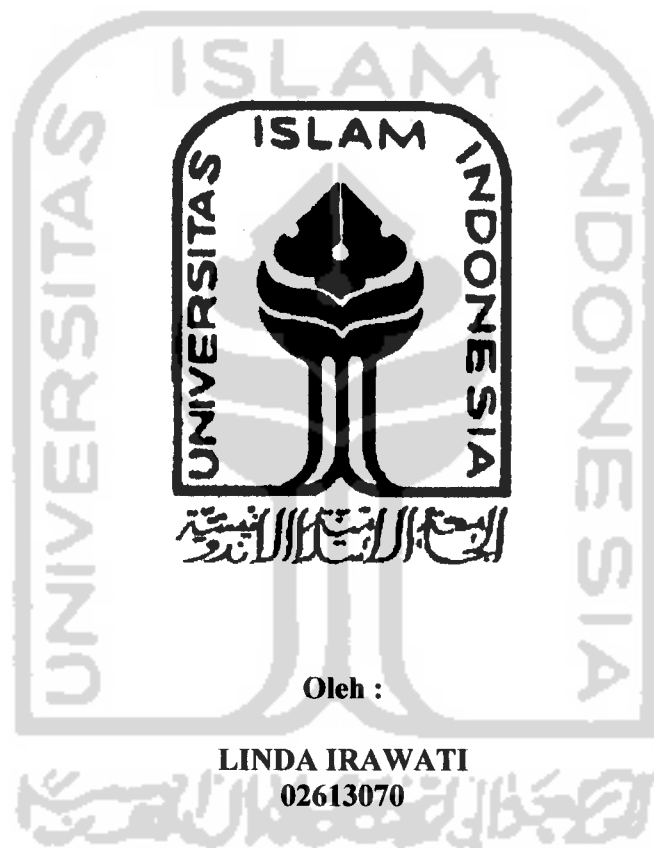


**UJI IMUNOMODULATOR
PERASAN TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)
TERHADAP VAKSIN *Haemophilus influenzae* SECARA
IN VITRO**

SKRIPSI



Oleh :

**LINDA IRAWATI
02613070**

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

**UJI IMUNOMODULATOR
PERASAN TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)
TERHADAP VAKSIN *Haemophilus influenzae* SECARA
IN VITRO**

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 :

LINDA IRAWATI

02613070

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

SKRIPSI

**UJI IMUNOMODULATOR
PERASAN TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)
TERHADAP VAKSIN *Haemophilus influenzae* SECARA IN
VITRO**



Yang diajukan Oleh

**LINDA IRAWATI
02613070**

Telah disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Ediati'.

Dr. Ediati Sasmito, Apt

Pembimbing Pedamping,

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Rochmy Istikhrah'.

Rochmy Istikhrah, S Farm., Apt

SKRIPSI

**UJI IMUNOMODULATOR
PERASAN TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)
TERHADAP VAKSIN *Haemophilus influenzae* SECARA
IN VITRO**

Oleh :

LINDA IRAWATI
02613070

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. Edjati Sasmito, Apt

Anggota penguji,


Rochmy Istikhrah, 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,

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Linda Irawati', written over a light grey background.

Linda Irawati

HALAMAN MOTTO

Sebaik-baiknya kamu sekalian adalah orang yang tidak meninggalkan akhiratnya karena dunianya dan tidak meninggalkan dunianya karena akhiratnya dan tidak memasrahkan dirinya pada manusia

(H.R. Rhotib)

Sungguh bersama kesukaran pasti ada kemudahan, dan bersama kemudahan pasti ada kesukaran. Karena itu bila selesai tugas maka mulailah tugas yang lain dengan sungguh-sungguh. Hanya kepada Tuhanmu hendaknya kau berharap

(Asy Syarh: 5-8)



Balasan Persembahan

Segala puji bagi Allah **SWT**, atas rahmat-Nya karya sederhana ini dapat terselesaikan

Dipersembahkan dengan rasa cinta to mamiku terrantik, my Dad, Grandma yang selalu ada dalam kenangan hidupku yang telah memberikan yang terbaik yang dapat diberikan: lekad untuk selalu berhasil dan mengajarku senantiasa tegar dan berhati teguh

Yang tercinta kakak dan adikku: lucky dan Davi yang telah banyak membantu memberikan dorongan moril dan spiritual dan juga kasih sayangnya.

Pujaanku My Baby **AGJ**, terima kasih atas semuanya, perhatian, dorongan, pengorbanan yang telah kau berikan padaku...a beautiful favour and beautiful gift...Thank's God **U** give it to me someone who loves me

My true friends : Ci' Astrid (I miss u :>) Heny, Pie, Buce, Gembuk, Gembush yang telah mewarnai hari-hariku mengukir kisah-kisah indah yang tak terlupakan

Teman seperjuangan: Gaban akhirnya selesai juga prend...Bila ma'acih yaaa...

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahiim

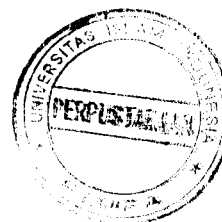
Assalamualaikum Wr. Wb

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 Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) 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.

Atas bantuan dan bimbingan berbagai pihak sehingga laporan ini dapat selesai, maka dalam kesempatan yang baik ini penulis mengucapkan rasa terima kasih kepada :

1. Ibu Dr. Ediati Sasmita, 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 Dekan Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia dan selaku penguji yang telah memberikan pengarahan, kritik dan saran dalam penyusunan skripsi ini.
4. Bapak Yandi Syukri, M.Si, Apt selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia
5. Seluruh civitas akademika di lingkungan jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia.
6. Semua pihak yang telah membantu penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.



Atas sumbangan pikiran dan saran yang telah diberikan, penulis hanya dapat memanjatkan doa semoga Allah SWT memberikan balasan pahala yang setimpal. Amin.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan karena keterbatasan-keterbatasan penulis. Oleh sebab itu perlu adanya saran-saran yang kiranya dapat menyempurnakan laporan ini. Selanjutnya penulis berharap semoga hasil yang diperoleh dari skripsi ini dapat bermanfaat bagi penelitian-penelitian berikutnya.

Yogyakarta, September 2006

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN DOSEN PEMBIMBING	ii
HALAMAN PENGESAHAN DOSEN PENGUJI	iii
LEMBAR PERNYATAAN	iv
HALAMAN MOTTO.....	v
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRAK.....	xv
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat penelitian	3
BAB II. STUDI PUSTAKA	
A. Tinjauan Pustaka	
1. Temulawak	4
2. <i>Haemophilus influenzae</i>	5
3. Sistem Imunitas Tubuh.....	7
4. Kelenjar Limfe dan Limpa	9
5. Organ Limfoid.....	9
6. Antigen dan Antibodi.....	10

7. Imunomodulator	12
B. Landasan Teori	13
C. Hipotesis	14

BAB III. METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat	
1. Bahan	15
2. Alat	15
B. Cara Penelitian	
1. Pengumpulan Bahan.....	16
2. Determinasi Tanaman.....	16
3. Sterilisasi Alat	16
4. Pembuatan Larutan Stok Perasan Temulawak	16
5. Isolasi Limfosit	16
6. Uji MTT <i>reduction</i>	17
C. Analisis Data	20

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi tanaman	22
B. Pembuatan Perasan Temulawak	22
C. Isolasi dan Kultur Limfosit	23
D. Pengukuran Proliferasi Limfosit dengan Metode MTT <i>reduction</i>	25

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan	29
B. Saran	29

DAFTAR PUSTAKA	30
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN	32
-----------------------	-----------

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Skema Kerja Isolasi Limfosit.....	18
Gambar 2. Skema Kerja Uji MTT <i>reduction</i>	19
Gambar 3. Limfosit Hasil Kultur Inkubasi 24 jam (kontrol negatif)	24
Gambar 4. Limfosit Hasil Kultur dengan Pemberian Perasan Temulawak Kadar 0,0625%	24
Gambar 5. Limfosit Hasil Kultur dengan Pemberian Perasan Temulawak Kadar 0,25%.....	24
Gambar 6. Limfosit Hasil Kultur dengan Pemberian Perasan Temulawak Kadar 1%	25



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil OD \pm SD Pengukuran Proliferasi Limfosit Menggunakan

MTT *reduction*..... 27



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Pembuatan Seri Kadar Perasan Temulawak	33
Lampiran 2. Perhitungan Limfosit	34
Lampiran 3. Perhitungan % perbedaan proliferasi limfosit dibanding kontrol Negatif	35
Lampiran 4. Komposisi Bahan	37
Lampiran 5. Anava satu Jalan Absorbansi Proliferasi Limfosit inkubasi 24 jam	38
Lampiran 6. Anava satu Jalan Absorbansi Proliferasi Limfosit inkubasi 48 jam	41
Lampiran 6. Plate 96 Sumuran	44
Lampiran 7. ELISA Reader	45
Lampiran 8. Foto Mikroskop	46
Lampiran 9. Surat Keterangan Determinasi	47

**UJI IMUNOMODULATOR
PERASAN TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)
TERHADAP VAKSIN *Haemophilus influenzae* SECARA
IN VITRO**

INTISARI

Lingkungan di sekitar manusia mengandung berbagai jenis unsur patogen, misalnya bakteri, virus, jamur, protozoa di mana semua aktivitas yang dilakukan mengharuskan manusia untuk selalu berhubungan secara sengaja atau tidak sengaja. Adanya sistem imun melindungi tubuh terhadap invasi zat atau benda asing. Temulawak yang merupakan tanaman tradisional mempunyai kandungan kurkumin yang dapat berfungsi sebagai antibakteri, antioksidan dan mencegah pertumbuhan sel kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah temulawak mempunyai aktivitas sebagai imunomodulator. Penelitian ini dilakukan secara in vitro yaitu diujikan pada kultur limfosit, digunakan metode MTT *reduction* untuk mengetahui proliferasi limfosit. Uji dilakukan pada 7 kelompok kultur limfosit dengan menggunakan vaksin *Haemophilus influenzae* sebagai antigen. Pada kelompok I, II, III, IV, V, VI ditambahkan perasan temulawak dengan kadar berturut-turut 0,0625%, 0,125%, 0,25%, 0,5%, 1%, 2%. Kelompok VII Sebagai kontrol negatif ditambahkan medium RPMI, kemudian masing-masing kelompok dilakukan replikasi 3 kali. Dari data OD \pm SD diperoleh hasil bahwa mulai kadar 0,5% perasan temulawak dapat menurunkan proliferasi limfosit secara signifikan dengan penurunan terbesar pada kadar 0,5% yaitu 40,68%.

Kata kunci : Perasan temulawak, Antigen, Imunomodulator.



**IMUNOMODULATOR ASSAY
ON EXTORTION TEMULAWAK (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.)
TO *Haemophilus influenzae* VACCINE IN VITRO**

ABSTRACT

Environment in around human being is containing of various patogen type, for examples bacterium, virus, mushroom, protozoa, where all the activities are doing to oblige human being to always correlate intentionally or involuntary. Existence of immune system can protect the body from invasion of foreign object. Temulawak representing traditionally crop content curcumin able to function as antibactery, antioxidant and prevent cancer cell growth. The aimed of this study at knowing whether temulawak extortion has any activity as imunomodulator or not. The study was done in vitro that was tested on lymphocyte culture, by using MTT *reduction* method to know the lymphocyte proliferation. The test was done on 7 lymphocyte culture groups by using *Haemophilus influenzae* vaccine as the antigen, for each group I, II, III, IV, V, VI added by temulawak extortion with respective rate series of 0,0625%, 0,125%, 0,25%, 0,5%, 1%, 2%. Group VII.as negative control was added with RPMI, for each group it was done 3 replication. From OD \pm SD obtained result of study that temulawak extortion from series 0,5% has significantly effect on the decrease lymphocyte proliferation with the biggest decrease at series 0,5% is 40,68%.

Keyword : Temulawak extortion, Antigen, Imunomodulator.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Berbagai bahan organik dan anorganik, baik yang hidup maupun yang mati, berasal dari hewan, tumbuhan, jamur, bakteri, virus, parasit, debu rumah, uap maupun asap berbagai iritan dalam polusi, ditemukan dalam lingkungan hidup dan kerja kita. Bahan-bahan tersebut setiap saat dapat masuk ke dalam tubuh kita baik itu disengaja ataupun tidak disengaja dan dapat menimbulkan berbagai penyakit bahkan kerusakan jaringan (*Baratawidjaja, 2002*).

Infeksi yang terjadi pada orang normal umumnya singkat dan jarang meninggalkan kerusakan permanen. Hal ini disebabkan tubuh manusia memiliki suatu sistem yaitu yang disebut sistem imun yang melindungi tubuh terhadap unsur-unsur patogen tersebut. Respon imun seseorang terhadap unsur-unsur patogen sangat tergantung pada kemampuan sistem imun untuk mengenal molekul-molekul asing itu, antigen yang terdapat pada permukaan unsur patogen dan kemampuan untuk melakukan reaksi yang tepat untuk menyingkirkan antigen. Kemampuan ini dimiliki oleh komponen-komponen sistem imun yang terdapat pada jaringan limforetikuler yang letaknya tersebar diseluruh tubuh, misalnya didalam sumsum tulang, kelenjar limfe, limpa, thymus, sistem saluran nafas, saluran cerna, dan organ-organ lain. Sel-sel yang terdapat pada jaringan ini berasal dari sel induk (*stem cell*) dalam sumsum tulang yang berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, kemudian beredar dalam tubuh melalui darah, limfe, serta jaringan limfoid, dan dapat menunjukkan respon terhadap suatu rangsangan sesuai dengan sifat dan fungsi masing-masing (*Kresno, 1996*).

Dalam keadaan optimal atau dalam keadaan sehat sistem ini berfungsi secara efisien sehingga seseorang dapat terhindar dari dampak yang tidak menguntungkan akibat masuknya substansi asing. Apabila ada kelainan dalam sistem pengaturan respon imun, seseorang mungkin tidak mampu melindungi tubuh dengan respon imun yang efisien, tetapi mungkin juga pada keadaan tertentu respon imun berlangsung secara berlebihan (*Kresno, 1996*).

Untuk itu diperlukan adanya suatu bahan yang dapat meningkatkan sistem imun. Para orang tua dan nenek moyang kita dengan pengetahuan dan peralatan yang sederhana telah mampu mengatasi problem kesehatan dengan memanfaatkan ramuan dari tumbuh-tumbuhan tertentu yang mudah didapat disekitar pekarangan rumah dan hasilnya pun cukup memuaskan. Kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi modern yang semakin pesat dan canggih dizaman sekarang ini, ternyata tidak mampu menggeser dan mengesampingkan begitu saja peranan obat-obatan tradisional tetapi hidup berdampingan dan saling melengkapi. Digunakannya obat-obatan tradisional karena disamping dari faktor ekonomi yaitu biayanya yang lebih terjangkau juga karena tidak mengandung resiko yang membahayakan bagi pasien dan mudah dikerjakan atau dibuat oleh siapa saja dalam keadaan mendesak sekalipun (Thomas, 1992).

Temulawak merupakan salah satu tanaman yang banyak terdapat di lingkungan masyarakat, banyak digunakan untuk keperluan dapur (bumbu, zat makanan), kosmetika maupun dalam pengobatan tradisional (Sumiati, 2002). Temulawak tergolong *rhizome*, yang memiliki senyawa kimia golongan kurkumin yang berwarna kuning. Berdasarkan penelitian dalam ilmu kedokteran modern, tanaman yang tergolong sebagai *rhizome* memang diindikasikan memiliki bermacam khasiat untuk pengobatan atau fitofarmaka yang ampuh mengobati beragam penyakit (Purwanti, 2005).

Fungsi kurkumin dalam temulawak adalah sebagai *adaptogen*, yaitu bahan yang tidak berbahaya yang dapat mendorong peningkatan resistensi tubuh untuk melawan racun dalam tubuh. Secara umum temulawak memiliki fungsi sebagai penctral racun, penghilang rasa nyeri sendi, meningkatkan sekresi empedu, menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida darah, antibakteri, mencegah terjadinya penumpukan lemak dalam hati, serta sebagai antioksidan, yaitu menangkal senyawa radikal yang berbahaya (Purwanti, 2005).

Untuk itu dilakukan penelitian dengan tujuan menguji adanya kemampuan temulawak dalam mempengaruhi sistem imunitas. Salah satu caranya adalah melalui pengamatan terhadap proliferasi limfosit. Seperti diketahui jika suatu jaringan terpapar oleh antigen yang tepat, maka limfosit dari jaringan limfoid akan berproliferasi dan akan melepaskan banyak sel T yang teraktivasi bersamaan

antibodi (Kresno, 2001). Antibodi merupakan protein immunoglobulin disekresi oleh sel B yang teraktivasi oleh antigen (Rantam, 2003). Hasil penelitian ini diharapkan dapat sebagai salah satu dasar penelitian selanjutnya dan pemanfaatan temulawak sebagai imunomodulator.

B. Perumusan Masalah

Apakah Temulawak memiliki aktivitas sebagai imunomodulator terhadap proliferasi limfosit dengan menggunakan metode *MTT reduction* ?

C. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui bahwa temulawak dalam bentuk perasan mempunyai aktivitas sebagai imunomodulator terhadap proliferasi limfosit yang dilakukan secara *in vitro* dengan metode *MTT reduction* terhadap vaksin *Haemophilus influenzae* sebagai antigen.

D. Manfaat penelitian

Dengan mengetahui aktivitas perasan temulawak sebagai imunomodulator maka penelitian ini dapat memberikan manfaat

- a. Memperluas khazanah ilmu pengetahuan tentang mekanisme imunomodulator dari herbal khususnya perasan temulawak.
- b. Dapat mendorong masyarakat untuk memanfaatkan tanaman yang berkhasiat sebagai obat dilingkungan sekitar.
- c. Diperoleh informasi ilmiah tentang pemanfaatan perasan temulawak secara *in vitro* terhadap limpa mencit yang dapat mempengaruhi aktivitas sistem imunitasnya.

BAB II STUDI PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Uraian Tentang Temulawak

a. Sejarah Singkat

Temulawak yang merupakan tanaman asli Indonesia banyak tumbuh di daerah tropis, baik dataran rendah maupun tinggi, Di Jawa sering tumbuh liar di pekarangan-pekarangan, pinggir-pinggir jalan dan lereng-lereng sungai. Rimpangnya menjadi komoditi penting sejak dahulu sebagai bahan jamu, penghasil zat warna, dan aromatikum. Batang tumbuhan temulawak ini berupa herba yang tingginya sampai dua setengah meter. Pada rimpang bagian pinggir berwarna putih dan kuning pada bagian tengahnya (dalam). Bunga temulawak berwarna kuning tua menggerombol Rimpangnya tajam dan rasanya pahit, tempat tumbuh tanaman ini antara lima sampai tujuh ratus lima puluh meter di atas permukaan laut. Banyak kita dapati di hutan jati, pada tempat beralang-alang, tapi banyak juga di tanam orang di halaman sebagai dapur hidup. Tumbuhan ini termasuk familia atau suku *Zingiberaceae* (Sudarsono, 1996).

b. Jenis Tanaman

Berdasarkan Klasifikasinya temulawak termasuk:

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: <i>Curcuma</i>
Jenis	: <i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb

c. Kandungan Kimia

Daging buah (rimpang) temulawak mempunyai beberapa kandungan kimia antara lain berupa fellandrian dan tumerol atau yang sering disebut minyak menguap. Kemudian minyak atsiri, kamfer, glukosida, foluylmetik karbinol dan 1-siklisoprenmyrsen. Zat warna kuning 1-2% (*Curcumin* dan *monodesmethoxy-curcumin*). Minyak atsiri 5% (dengan komponen utama 1-*Cycloisoprenemyrcene* 85%) *Curcuminoid*, yang terdiri dari 1,2-2% *Curcumin* dan *monodesmethoxycurcumin*). Komponen minyak atsiri lainnya : *Beta-curcumene ar-curcumene, xanthorrhizol, germacron* (Sudarsono, 1996).

d. Khasiat

Temulawak mempunyai khasiat antara lain laktagoga, antiinflamasi, antioksidan, pengobatan radang hati (hepatitis), radang ginjal, perut kembung, tidak nafsu makan, pelancar ASI. Kurkuminoid temulawak ini adalah komponen pemberi warna kuning pada rimpang temulawak yang berkhasiat:

1. menetralkan racun
2. menghilangkan rasa nyeri
3. mencegah terjadinya perlemakan dalam sel-sel hati
4. menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida darah
5. antiradang

Aktivitas antiradang pada temulawak dengan cara menghambat enzim siklooksigenase yang berperan dalam perubahan asam arakhidonat menjadi prostaglandin aktif (Sudarsono, 1996).

2. *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.

a. Ciri khas Organisme

Pada bahan pemeriksaan dari infeksi akut, organisme ini terlihat sebagai kokobasil pendek (1,5 μm), kadang-kadang dalam bentuk rantai pendek. Pada

biakan, morfologinya bergantung pada umur dan perbenihan. Setelah 6-8 jam dalam perbenihan diperkaya, bentuk kokobasil ditemukan terbanyak. Kemudian didapatkan batang yang lebih panjang, bakteri yang mengalami lisis dan bentuk yang sangat pleomorfik.

b. Sifat-sifat pertumbuhan

Identifikasi organisme kelompok *Haemophilus influenzae* sebagian bergantung pada adanya kebutuhan akan faktor pertumbuhan tertentu yang dinamakan faktor X dan V. Faktor X secara fisiologik berperan sebagai hemin; faktor V dapat diganti oleh nukleotida nikotinamid adenin (NAD) atau koenzim-koenzim lainnya.

c. Transformasi

Dalam situasi percobaan yang sesuai, DNA yang diekstrak dari *H influenzae* mampu memindahkan sifat tipe khasnya ke sel-sel lainnya (transformasi). Resistensi terhadap ampisilin dan kloramfenikol diatur oleh gen pada plasmid yang dapat dipindahkan.

d. Struktur Antigen

H influenzae yang bersimpai mengandung salah satu dari enam tipe polisakarida simpai (BM >150.000). Antigen simpai tipe B adalah poliribosa-ribitol-fosfat (PRP). *H influenzae* bersimpai menggunakan antiserum spesifik; penentuan tipe juga dapat dilakukan dengan imunofluoresensi. Kebanyakan *H influenzae* pada flora normal saluran napas bagian atas tidak bersimpai. Antigen somatik *H influenzae* terdiri atas protein selaput luar. Lipooligosakarida (endotoksin) memiliki banyak struktur yang sama dengan neiseria.

e. Patogenesis

H influenzae tidak menghasilkan eksotoksin, dan peranan antigen somatik toksiknya pada penyakit alamiah belum dimengerti dengan jelas. Organisme yang tidak bersimpai adalah anggota tetap flora normal saluran napas manusia.

Simpai bersifat antifagositik bila tidak ada antibodi antisimpai khusus. Bentuk *H influenzae* yang bersimpai, khususnya tipe b, menyebabkan infeksi pernapasan supuratif (sinusitis, laringotrakeitis, epiglottis, otitis) dan pada anak-anak kecil, meningitis. Darah dari kebanyakan orang yang berumur lebih dari 5 tahun mempunyai daya bakterisidal kuat terhadap *H influenzae*.

3. Sistem Imunitas Tubuh

Manusia binatang multiseluler, mempunyai daya faal untuk mengenal bahan atau zat kimia yang dianggap “diri sendiri” (*self*) dan membedakannya dari yang “asing” (*non self*). Kemampuan ini menjadi dasar dari kekesbalan, karena badan akan berusaha untuk mengeluarkan atau memusnahkan bahan asing yang masuk ke dalam jaringan tubuh. Hal ini disebabkan tubuh manusia memiliki suatu sistem yang disebut sistem imun yang memberikan respon dan melindungi tubuh terhadap unsur-unsur patogen tersebut (*Bratawidjaja, 2002*).

Sistem imun adalah semua mekanisme yang digunakan tubuh untuk mempertahankan keutuhannya terhadap bahaya yang dapat ditimbulkan berbagai bahan dalam lingkungan hidup. Pertahanan imun terbagi menjadi dua jenis yaitu:

a. Sistem imun non spesifik

Mekanisme fisiologik imunitas non-spesifik berupa komponen normal tubuh yang tidak memerlukan induksi oleh paparan mikroba dari luar. Mekanisme tersebut tidak menunjukkan spesifitas, dan tidak tergantung atas pengenalan spesifik bahan asing. Sistem ini telah ada pada tubuh kita dan siap berfungsi sejak lahir yang dapat berupa permukaan tubuh dan berbagai komponennya (*Baratawidjaja, 2002*). Salah satu upaya tubuh untuk mempertahankan diri terhadap masuknya antigen, misalnya antigen bakteri adalah menghancurkan bakteri bersangkutan secara nonspesifik dengan cara fagositosis. Selain fagositosis, manifestasi respon imun nonspesifik yang lain adalah reaksi inflamasi. Sel-sel sistem imun tersebar di seluruh tubuh, tetapi bila terjadi infeksi di satu tempat perlu memusatkan sel-sel sistem imun itu dan produk-produk yang dihasilkannya ke lokasi infeksi. Respon ini terjadi akibat dilepaskannya mediator-mediator tertentu oleh beberapa jenis sel yang dapat merangsang Bergeraknya sel-sel polimorfonuklear (PMN) menuju lokasi masuknya antigen serta meningkatkan

permeabilitas dinding vaskular yang mengakibatkan eksudasi protein plasma dan cairan. Gejala inilah yang disebut respon inflamasi akut (*Kresno, 1996*).

b. Sistem imun spesifik

Berbeda dengan sistem imun non spesifik, sistem ini mempunyai kemampuan untuk mengenal benda yang dianggap asing bagi dirinya. Benda asing yang pertama kali muncul dalam badan segera dikenali oleh sistem imun spesifik sehingga terjadi sensitasi sel-sel sistem imun tersebut. Bila sel sistem imun yang sudah tersensitasi tersebut terpejan kembali dengan benda asing yang sama, maka benda asing yang terakhir ini akan dikenal lebih cepat, kemudian dihancurkan olehnya. Oleh karena sistem tersebut hanya menghancurkan benda asing yang sudah dikenal sebelumnya maka sistem ini disebut spesifik. Sistem ini dapat bekerja tanpa bantuan dari sistem imun non-spesifik untuk menghancurkan benda asing yang berbahaya bagi tubuh (*Baratawidjaja, 2002*).

Untuk memudahkan pembahasan, sistem imun spesifik dibagi dalam 3 golongan menurut Baratawidjaja (2002), yaitu:

1. Sistem imun spesifik humoral

Dalam sistem ini yang berperan adalah limfosit B atau sel B. Sel B ini berasal dari sel asal multipoten. Bila sel B dirangsang oleh benda asing, sel akan berproliferasi dan berkembang menjadi sel plasma yang dapat membentuk antibodi. Antibodi yang dilepas dapat ditemukan dalam serum. Fungsi utama antibodi ini ialah pertahanan terhadap infeksi ekstraseluler, virus dan bakteri serta menetralkan toksinnya.

2. Sistem imun spesifik seluler

Dalam sistem ini yang berperan adalah limfosit T atau sel T. Sel ini dari sel asal yang sama seperti sel B. Pada orang dewasa sel T dibentuk dalam sumsum tulang tetapi proliferasi dan diferensiasi dalam kelenjar timus atas pengaruh berbagai faktor asal timus. Fungsi utama sistem imun ini untuk pertahanan terhadap bakteri yang hidup intraseluler, virus, jamur, parasit dan keganasan.

3. Sistem limfoid

Sel-sel sistem imun, ditemukan dalam jaringan dan organ yang disebut sistem limfoid. Yang terdiri dari limfosit, sel epitel dan stroma yang tersusun dalam organ dengan kapsul atau berupa kumpulan jaringan limfoid yang berdifusi.

Organ limfoid dapat dibagi dalam organ limfoid primer dan sekunder. Organ limfoid primer diperlukan untuk pematangan sel T dan B, diferensiasi dan proliferasi sehingga menjadi limfosit yang dapat mengenal antigen. Organ limfoid sekunder mempunyai fungsi untuk menangkap antigen dengan efektif, untuk proliferasi dan diferensiasi limfosit yang sudah disensitas. Organ limfoid sekunder utama adalah limpa, kelenjar limfe, dan *Mucosa associated lymphoid tissue* (MALT).

4. Kelenjar Limfe dan Limpa

Pembuluh limfe dibagian perifer kelenjar limfe sangat mudah ditembus oleh berbagai sel dan makromolekul endogen maupun eksogen. Dalam bagian sinus dari kelenjar terdapat banyak makrofag, sedangkan dalam bagian parakorteks terdapat banyak sel T yang berasal dari darah serta sel B yang menyusun diri membentuk nodul (*Kresno, 1996*).

Limpa terdiri atas pulpa merah yang terutama merupakan tempat penghancuran eritrosit dan pulpa putih yang terdiri atas jaringan limfoid. Didalam limpa, limfosit T menumpuk dibagian tengah lapisan limfoid periarteriolar, sedangkan sel B terdapat dipusat-pusat germinal dibagian perifer. Fungsi limpa adalah merupakan tempat terjadinya respon imun terhadap antigen yang masuk melalui sirkulasi darah, limpa juga menghasilkan limfosit, juga terlibat dalam perlindungan terhadap penyakit dan menghasilkan zat-zat antibodi (*Kresno, 1996*).

5. Organ Limfoid

Organ limfoid terdiri dari 2 macam menurut Kresno (1996), 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.

6. Antigen dan Antibodi

Antigen ialah suatu substansi yang bila memasuki inang vertebrata, menimbulkan respon kekebalan yang membawa kepada terbentuknya kekebalan dapatan. Secara fungsional antigen dibagi menjadi imunogen dan haptan. Imunogen adalah bahan yang dapat menimbulkan respon imun. Haptan adalah molekul yang dapat bereaksi dengan antibodi secara langsung, tetapi tidak dapat merangsang pembentukan antibodi secara langsung. Haptan merupakan determinan antigen dengan berat molekul yang kecil dan baru menjadi imunogen bila diikat oleh protein pembawa (*carrier*). Pada umumnya, makin “asing komposisi kimiawi dan struktur antigen terhadap individu yang diimunisasi maka makin efektif antigen tersebut dalam merangsang suatu respon kekebalan (*Pelczar, 1988*).

Antibodi merupakan suatu substansi khusus yang dibentuk oleh tubuh sebagai respon terhadap stimulasi antigenik. Semua molekul antibodi termasuk dalam kelas khusus protein serum yang disebut *globulin*, meskipun tidak semua globulin serum merupakan antibodi. Jadi antibodi disebut juga *immunoglobulin* (Ig).

Immunoglobulin terbagi atas lima kelas yaitu :

1. Ig G

Merupakan immunoglobulin yang paling berlimpah. Kelas immunoglobulin ini diduga membantu imunitas melawan beberapa agen infeksi yang disebarkan melalui darah seperti bakteri, virus, parasit, dan beberapa jamur. Reseptor-reseptor untuk Ig G terdapat dalam monosit manusia, leukosit

polimorfonuklear pada sel-sel retikuloendotelial dalam hepar dan pada beberapa limfosit (*Bellanti, 1993*).

2. Ig A

Meskipun nomor dua dalam jumlah serum immunoglobulin, sumbangannya yang paling penting pada imunitas individual ialah pada sistem sekretoris eksternal. Dalam sekresi ini, Ig A dikombinasi dengan protein yang disebut komponen sekretoris yang diduga mempermudah sekresi dan melengkapi molekul ini dengan berbagai proteksi terhadap pengaruh enzim proteolitik yang biasanya terdapat di daerah itu. Ig A tidak melintasi plasenta, namun membantu imunitas neonatus karena konsentrasinya yang tinggi dalam kolostrum. Reseptornya terdapat dalam limfosit, leukosit-polimorfonuklear dan monosit (*Bellanti, 1993*).

3. Ig M

Merupakan molekul immunoglobulin yang terbesar ukurannya, karenanya hampir seluruhnya berada intravaskuler. Immunoglobulin kelas ini diduga sangat penting pada hari-hari pertama respon imun primer. Bilamana antigen asing dikenalkan ke dalam hospes untuk pertama kalinya, sintesis antibodi Ig M mendahului Ig G. Namun kadarnya mencapai puncak dalam beberapa hari, dan kemudian menurun lebih cepat dari kadar antibodi Ig G (*Bellanti, 1993*).

4. Ig D

Merupakan monomer dan konsentrasinya dalam serum hanya sedikit, tetapi konsentrasinya dalam darah tali pisar cukup tinggi. Peran biologiknya sebagai antibodi humoral belum jelas, yang telah diketahui adalah sebagai antibodi dalam reaksi hipersensitifitas terhadap penisilin. Ig D dapat dijumpai pada permukaan sel B, terutama pada sel B neonatus dalam jumlah lebih banyak dibanding konsentrasinya dalam serum. Oleh karena itu, Ig D diduga merupakan reseptor antigen pertama pada permukaan sel B, dan berperan dalam mengawali respon imun (*Kresno, 1996*).

5. Ig E

Dapat dijumpai dalam serum dalam kadar amat rendah, dan hanya merupakan 0,004 % saja dari kadar immunoglobulin total. Salah satu sifat penting IgE adalah kemampuan melekat secara erat pada permukaan mastosit atau basofil



melalui reseptor Fc. Peran IgE belum diketahui secara pasti, tetapi kenyataannya bahwa IgE banyak dijumpai pada penderita dengan infestasi cacing menimbulkan dugaan yaitu berperan dalam melindungi tubuh terhadap parasit. (*Kresno, 1996*).

7. Imunomodulator

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

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

Imunostimulasi adalah cara memperbaiki fungsi sistem imun dengan menggunakan bahan yang merangsang sistem tersebut. Bahan-bahan yang dapat meningkatkan respon imun disebut imunostimulator (*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 (*Baratawidjaja, 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 diperlukan adanya suatu upaya untuk meningkatkan taraf kesehatan pada umat manusia. Salah satu upayanya yaitu dengan memanfaatkan kembali kekayaan alam yang ada disekitar kita sendiri yaitu tumbuh-tumbuhan yang dapat membantu meningkatkan kesehatan kita.

Salah satunya adalah temulawak, merupakan tumbuhan asli Indonesia tetapi penyebarannya hanya terbatas di Jawa, Maluku, dan Kalimantan. Tumbuh baik di dataran rendah hingga ketinggian 750 m di atas permukaan laut. Warna kuning tua (coklat muda), baunya harum dan rasanya pahit agak pedas. Warna kuning ini disebabkan oleh adanya kandungan kurkumin yang mempunyai sifat dapat menghambat perkembangan bakteri. Selain itu, kurkumin juga berkhasiat sebagai antiinflamasi (Anonim, 1999) yang bekerja dengan cara menghambat pelepasan asam arakhidonat yang akan berubah sebagai prostaglandin aktif. Kandungan minyak atsirinya bisa dimanfaatkan sebagai pembangkit selera, membersihkan perut, dan memperlancar air susu. Belum diketahui secara pasti apakah Temulawak mempunyai aktivitas sebagai imunomodulator.

Untuk itu sangat penting dilakukannya penelitian ini dengan menggunakan metode MTT *reduction* terhadap vaksin *Haemophilus influenzae* sebagai antigen yang dilakukan secara *in vitro*.

C. Hipotesis

Perasan temulawak mempunyai aktivitas sebagai imunomodulator pada perlakuan terhadap limfa mencit putih sehingga dapat mempengaruhi proliferasi limfosit yang dihasilkan.



BAB III METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

1. Bahan

a. Bahan utama

Temulawak, vaksin *Haemophilus influenzae*.

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, larutan MTT.

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 (Nebaeur), *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), ELISA reader (SLY 340 ATC), timbangan, *Laminar Air Flow* (Labquib), tip biru, tip kuning, lemari es.

B. Cara Penelitian

1. Pengumpulan Bahan

Temulawak diambil dari daerah Kaliurang, Sleman Yogyakarta kemudian dicuci sampai bersih.

2. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi 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 atau plastik kemudian disterilisasi dengan autoklaf selama 30 menit pada suhu 121°C dan dikeringkan kembali dalam oven.

4. Pembuatan larutan stok perasan temulawak

Sebanyak 200 mg temulawak diparut dan ditambahkan medium RPMI ad 10 ml. Selanjutnya dilakukan pengenceran untuk kadar 1%, 0,5%, 0,25%, 0,125%, 0,0625%.

5. Isolasi limfosit

Mencit dibunuh 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 supernatnya dibuang. Pellet dicuci dengan RPMI 2 kali dengan cepat dipipet berulang-ulang dan disentrifus 4°C selama 5 menit. Supernatan dibuang dan sel limfosit disuspensikan dengan 1 ml medium komplit.

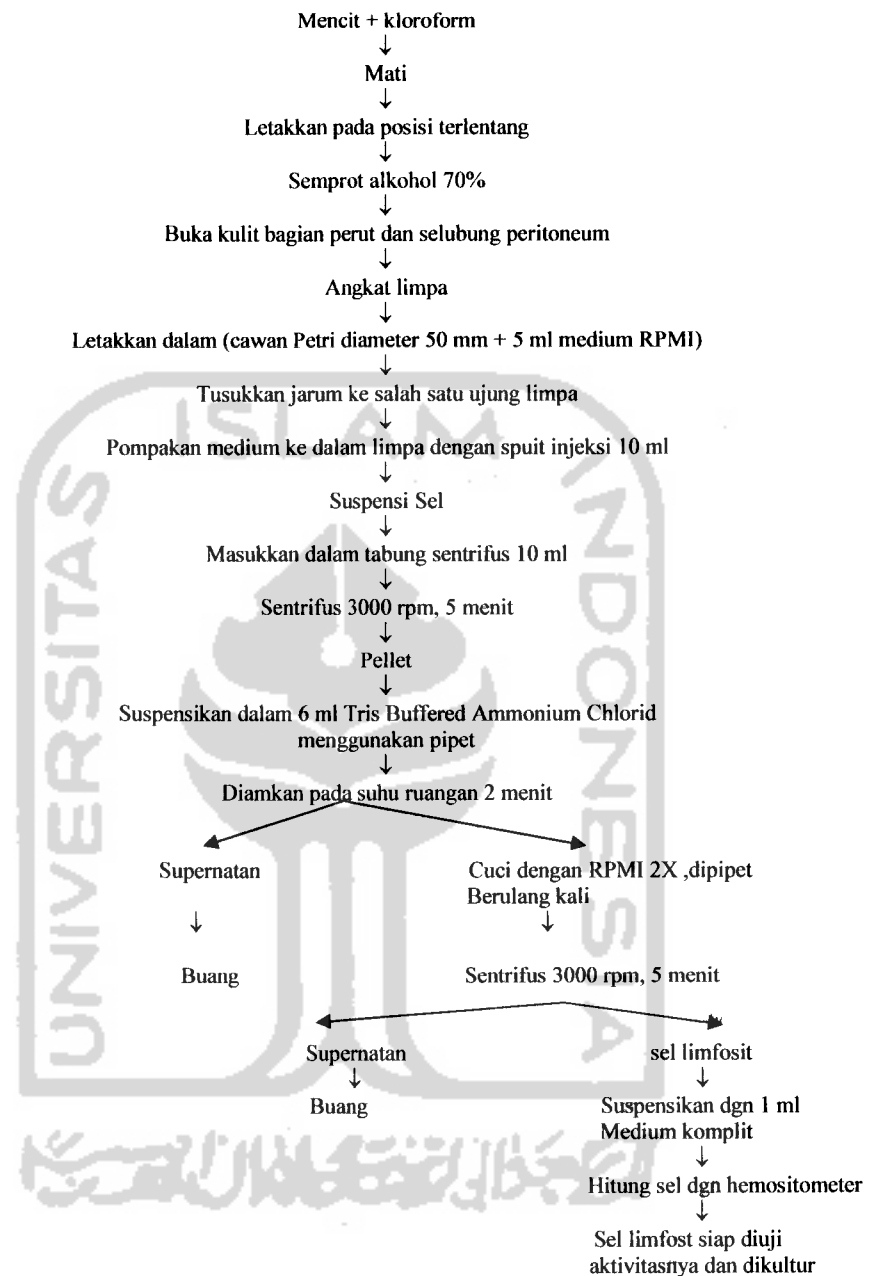
Sel dihitung dengan hemositometer. Selanjutnya sel limfosit siap untuk diuji aktivitasnya dan dikultur dalam inkubator CO₂, 37°C.

6. Uji MTT reduction (Anonim, 2003)

Sebanyak 100µl limfosit didistribusikan ke dalam sumuran-sumuran pada 96-well plate dan ditambah sesuai dengan masing-masing kelompok, untuk kelompok I perasan temulawak 2%, kelompok II perasan temulawak 1%, kelompok III perasan temulawak 0,5%, kelompok IV perasan temulawak 0,25%, kelompok V perasan temulawak 0,125%, kelompok VI perasan temulawak 0,0625%, kelompok VII medium RPMI sebagai kontrol negatif. Masing-masing kelompok dilakukan 3 replikasi. Selanjutnya diinkubasi selama 24 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 kurang lebih 4 jam pada suhu 37°C. Sel yang hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk warna biru.

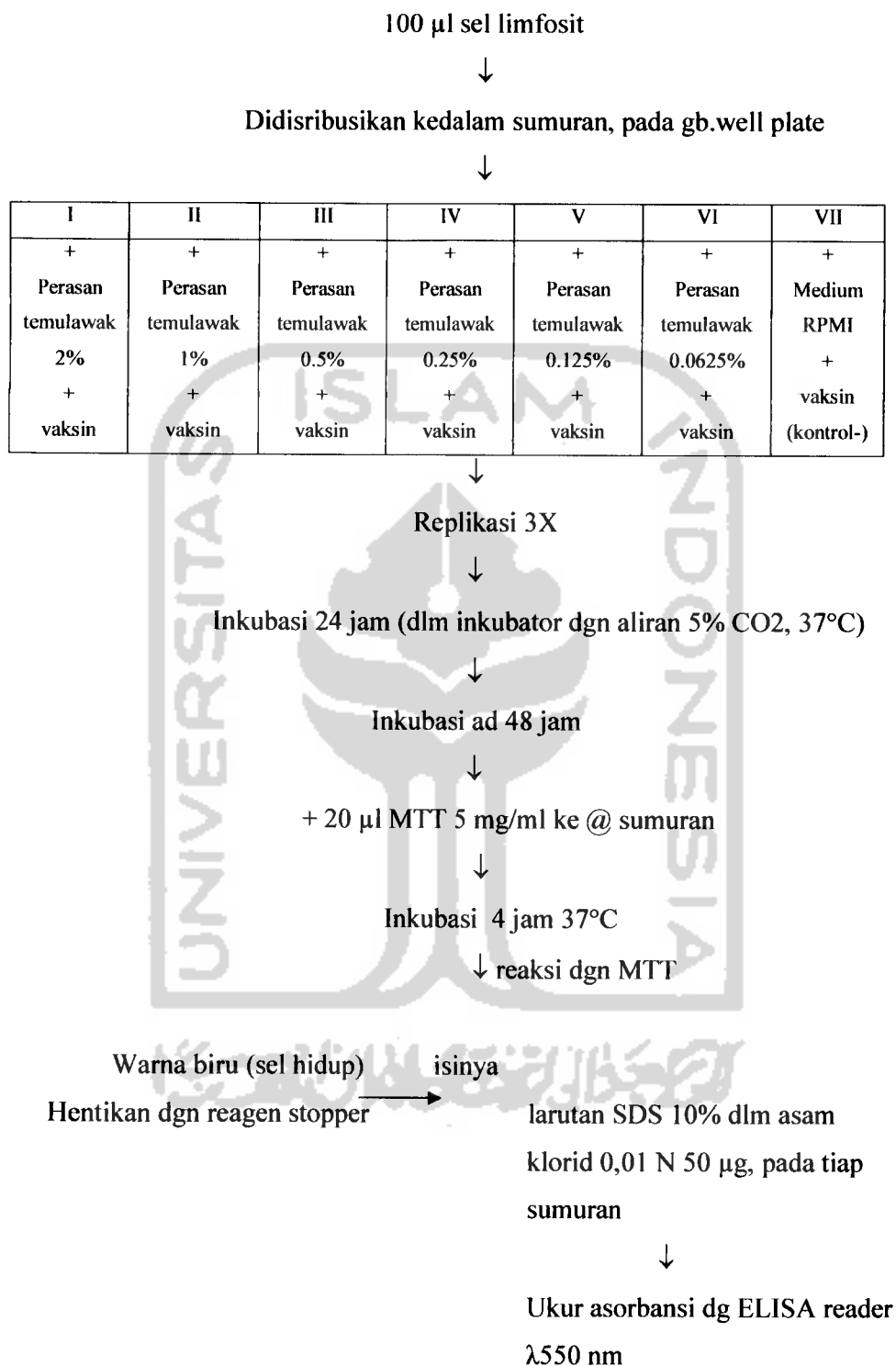
Reaksi dengan MTT dihentikan dengan menambah reagen stopper, yaitu larutan SDS 10% dalam suasana asam klorida 0,001N sebanyak 50µl (setengah volume) pada tiap sumuran, selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan ELISA reader dengan panjang gelombang 550 nm.

Isolasi limfosit



Gambar 1. Skema kerja isolasi limfosit

Uji MTT reduction



Gambar 2. Skema kerja Uji MTT reduction

C. Analisa Data

Data absorbansi proliferasi limfosit hasil kultur 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 dilakukan untuk mengetahui aktivitas imunomodulator temulawak dalam bentuk perasan yang dilakukan secara *in vitro*. Digunakan Temulawak karena sebagian besar masyarakat Indonesia menggunakannya secara tradisional dan turun menurun, Aktivitas imunomodulator dari temulawak ini dipengaruhi oleh kandungan kurkumin yang berfungsi sebagai suatu senyawa yang dapat meningkatkan resistensi dalam tubuh untuk melawan racun.

Aktivitas imunomodulator dari temulawak dapat diketahui dengan melihat adanya perubahan proliferasi limfosit yang telah diisolasi dari limpa mencit jantan galur Balb/c. Seperti diketahui jika suatu jaringan terpapar oleh antigen yang tepat, maka limfosit dari jaringan limfoid akan berproliferasi dan akan melepaskan banyak sel T yang teraktivasi bersamaan antibodi. Digunakan limpa karena merupakan organ limfoid sekunder yang berfungsi sebagai tempat terjadinya respon imun terhadap antigen yang masuk melalui sirkulasi darah, Selain itu limpa juga menghasilkan limfosit yang sudah tidak mengalami diferensiasi sehingga akan lebih mudah dalam melakukan pengamatan terhadap limfosit. Fungsi lain dari organ limpa terutama terlibat dalam perlindungan tubuh terhadap penyakit dan menghasilkan antibodi.

Antigen yang digunakan pada percobaan ini adalah *Haemophilus influenzae*. Penggunaan antigen ini untuk menimbulkan respon imun, dan karena penelitian ini merupakan penelitian paling awal maka dapat digunakan antigen jenis apa saja asalkan pemberian antigen tersebut dapat merangsang sel limfosit untuk berproliferasi, adanya proliferasi limfosit ini menandakan adanya respon imun dalam tubuh karena adanya suatu senyawa asing yang masuk. Selain itu, menggunakan antigen ini juga dikarenakan dari segi ekonomi yang murah dan kemudahan untuk memperoleh vaksin ini. Sebagai pembanding digunakan kontrol negatif yang berisikan sel tanpa pemberian sampel berupa perasan temulawak, hal ini dimaksudkan untuk melihat kemampuan dari sel tersebut dalam berproliferasi sebagai respon adanya antigen yang masuk tanpa diberikan suatu senyawa yang dapat mempengaruhi sistem imunitas.

A. Determinasi Bahan

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium farmakologi, bagian biologi farmasi fakultas farmasi UGM, Yogyakarta, dengan menggunakan rimpang temulawak yang masih segar. Rimpang temulawak dideterminasi menurut buku panduan "Flora of Java", maksud dilakukannya determinasi adalah untuk memastikan kebenaran tanaman yang akan dipakai dalam penelitian. Determinasi yang dilakukan menunjukkan bahwa tanaman yang diteliti adalah *Curcuma xanthorrhiza* Roxb dengan hasil determinasi yang didapat adalah :

1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109b-119b-120b-128b-12a-130b-132a- familia 32 Zingiberaceae-207 Zingiberaceae-1a-2b-6b-7a-12 Curcuma L-1A-2B-3A-*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb.

Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang diteliti adalah tanaman temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb.) (Backer & Bakhuizen, 1962).

B. Pembuatan Perasan Temulawak

Temulawak merupakan bahan utama dalam proses penelitian ini yang akan diuji aktivitas imunomodulator. Temulawak diambil secara langsung dari tanamannya kemudian dibuat dalam bentuk perasan. Hal ini dimaksudkan agar bahan-bahan yang diperoleh dalam kondisi yang segar, mencegah kemungkinan kehilangan zat-zat aktif yang terkandung didalamnya. Selain itu, di dalam masyarakat juga pada umumnya penggunaannya dalam bentuk perasan dikarenakan lebih praktis dan mudah dalam membuatnya.

Perasan Temulawak tersebut dilarutkan dalam pelarut medium RPMI, dibuat larutan stok pada kadar 0,0625%, 0,125%, 0,25%, 0,5%, 1%, dan 2%. Pada prosesnya dilakukan proses sentrifus untuk memisahkan cairan dari ampasnya agar memudahkan dalam proses pemfilteran lebih lanjut. Karena pada kultur sel digunakan sampel yang steril untuk mencegah adanya kontaminasi dari luar oleh karena itu dilakukan proses pemfilteran.

C. Isolasi dan Kultur Limfosit

Limfosit diisolasi dari limpa karena organ ini merupakan penghasil limfosit yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh dan juga merupakan organ limfoid terbesar (*Baratawidjaja, 2000*). Limpa terletak disebelah kiri atas dekat diafragma. Limpa yang sudah dikeluarkan dari mencit diletakkan dalam petridish yang didalamnya terdapat medium RPMI hal ini dimaksudkan untuk mencegah terjadinya kontaminasi dari luar. Limpa tersebut dicuci dan dipindahkan dari satu petri ke petri yang lain berturut-turut sampai 3 kali. Untuk mendapatkan suspensi sel dilakukan dengan metode ekstruksi. Sebenarnya selain metode ekstruksi ada metode lain yaitu dengan cara menekan atau mencabik, namun kedua metode tersebut tidak digunakan karena mengakibatkan organ-organ lain akan ikut masuk kedalam suspensi sel dan juga kemungkinan besar akan merusak sel, oleh karena itu dipilih metode ekstruksi karena dianggap paling kecil resikonya dalam merusak sel. Cara metode ekstruksi dengan cara sel dikeluarkan dari limpa dengan menggunakan spuit injeksi yang di tusukkan ke dalam salah satu ujung limpa dalam cawan yang berisi medium RPMI. Penggunaan medium RPMI ini untuk memberikan nutrisi bagi sel sehingga sel dapat bertahan hidup. Kemudian medium dipompakan kedalam limpa hingga mendorong sel dan jaringan lainnya keluar dari limpa sampai limpa berwarna transparan, dan sel berada dalam medium RPMI dibiarkan selama $\frac{1}{2}$ jam supaya kotorannya mengendap. Setelah kotaran tersebut dibuang, larutan yang berisi sel dipindahkan ke dalam tabung lain kemudian disentrifuse yang juga untuk memisahkan limfosit dari bahan-bahan lain yang tidak diinginkan. Penambahan buffer lisis ditujukan untuk melisiskan eritrosit yang ada dalam suspensi sel yang dianggap sebagai pengganggu karena yang diperlukan hanya limfosit murni. Penambahan FBS (*Fetal Bovine serum*) digunakan untuk membantu perkembangbiakan limfosit atau sebagai growth factor. Selanjutnya dihitung jumlah selnya menggunakan hemositometer 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. inkubasi 24 jam



B. inkubasi 48 jam

Gambar 3. Limfosit hasil kultur inkubasi 24 jam dan 48 jam (kontrol negatif)



A. inkubasi 24 jam



B. inkubasi 48 jam

Gambar 4. Limfosit hasil kultur 24 jam dengan pemberian perasan temulawak Kadar 0,0625 %

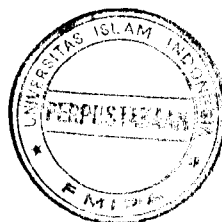


A. inkubasi 24 jam



B. inkubasi 48 jam

Gambar 5. Limfosit hasil kultur 24 jam dengan pemberian perasan temulawak Kadar 0,25 %



s
v
s
li
g
ji
k
ir

su
m
be
te
di

lit
da

variasi kadar sangat mempengaruhi aktivitas perasan temulawak sebagai imunomodulator. Pada kontrol negatif didapatkan hasil mengalami peningkatan proliferasi limfosit. Hal ini mungkin disebabkan adanya FBS (*Fetal Bovine Serum*) yang berfungsi sebagai media penumbuh dan antigen yaitu *H influenzae* yang merupakan virus yang teraktivasi dimana virus tersebut akan merangsang respon imun sehingga sel akan berproliferasi sebagai bentuk respon yang terjadi. Pada kelompok perlakuan perasan temulawak semakin tinggi kadar hasil absorbansi yang didapatkan semakin menurun hal ini menandakan proliferasi limfositnya semakin menurun. Mulai kadar 0,5% perasan temulawak dapat menurunkan proliferasi limfosit secara signifikan dengan penurunan terbesar pada kadar 0,5% yaitu 40,68% dibandingkan kontrol negatif. Sedangkan pada kadar 0,0625% perasan temulawak dapat meningkatkan proliferasi limfosit namun tidak signifikan sebesar 7,74% dibandingkan dengan kontrol negatif. Dari hasil diatas maka perasan temulawak pada kadar diatas 0,5% kemungkinan dapat menimbulkan efek immunosupresor. Hal ini berkaitan dengan kandungan kurkumin dalam temulawak bersifat sebagai antiinflamasi dengan menghambat pelepasan asam arakhidonat yang nantinya akan berubah menjadi prostaglandin aktif (Anonim, 1999) kurkumin dapat menekan reaksi sistem imun yang dapat menyebabkan adanya reaksi inflamasi yang berlebihan. Reaksi sistem imun yang berlebihan disebabkan karena adanya komponen dalam sel-sel PMN (Polymorfonuklear) yang dapat menyulut terjadinya reaksi inflamasi karena jumlahnya akan semakin meningkat sebagai respon adanya infeksi senyawa asing dan terakumulasi pada tempat terjadinya inflamasi (Kresno & Boedina, 2001).

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Terjadi penurunan proliferasi limfosit pada semua kadar terhadap kontrol negatif.
2. Mulai kadar 0,5% perasan temulawak dapat menurunkan proliferasi limfosit secara signifikan dengan penurunan terbesar pada kadar 0,5% yaitu 40,68%.

B. Saran

1. Perlu dilakukan variasi dosis pada kadar tinggi dan kadar rendah untuk mengetahui aktivitas immunosupresor.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan mengisolasi kandungan zat aktif yang ada didalam tanaman temulawak (kurkumin) yang mempunyai peranan sebagai immunosupresor.
3. Perlu adanya penelitian serupa dengan metode MTT *reduction* dengan mengukur kadar imunoglobulin yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2003, *Protocols MTT Assay*, <http://www.MTT Assay.htm> (diakses 6 September 2005).
- Anonim, 2005, *Curcumin*, <http.www.google.com> (diakses 10 juli 2006).
- A.N.S., Thomas., 1989, *Tanaman Obat Tradisional*, Edisi I, Kanisius, Yogyakarta, 45-49.
- Backer, C.,A, and Van Den Brink, R.C., 1965, *Flora of Java*, Noordhff Groningen, The Natherland.
- 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 Unoversitas Indonesia, Jakarta, 1, 3-5, 16-17, 25-28.
- Bellanti, JA, 1993, *Immunology III*, Gajah Mada University Press, Yogyakarta, 95-97.
- 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-imunologi doc>.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, EA., 1986, *Mikrobiologi*, Edisi 16, EGC Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta, 265-267.
- Kresno, SB., 1996, *Imunologi: Dignosis dan Prosedur Laboratorium*, Ed III, Fakultas Kedokokteran UI, Jakata, 3-7, 24-25-32-33, 65.
- Kresno, Siti Boedina, Gandasoebrata R., dan Latu J., 1989, *Tinjauan Klinis Atas Pemeriksaan Laboratorium*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta
- Rantam, F.A., 2003, *Metode Imunologi*, Airlangga University Press, Surabaya, 6-8.
- Salle, A. J., 1961, *Fundamental Priciples of Bacteriologi*, Fifth Edition, MC. Graw Hill Book Inc., New York, 742-743.
- Subowo., 1993. *Imunologi Klinik*, Angkasa, Bandung, 123-124.
- Sudarsono, 1996, *Tumbuhan Obat*, PPOT-UGM, Yogyakarta, 60-65.

Syahruruchman, Agus, Staf Pengajar Kedokteran Universitas Indonesia, 1994, *Mikrobiologi Kedokteran*, Binarupa Aksara., Jakarta, 71-81.

Syamsuhidayat, Sri Sugiati, Hutapea, Johny Ria., 1991, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, edisi I, Depkes RI Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta, 192-193.

Pelczar, Jr, Michael J., 1988, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Universitas Indonesia Press, Jakarta, 576, 578, 581

Purwanti, Endang, 2005, *Temulawak dan Kunyit untuk flu burung*, *Tempo*, 27 September 2005.

Tampubolon, OT, 1980, *Tumbuhan Obat*, Bhratara, Bogor, 117-119.

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





Lampiran 1. Perhitungan pembuatan seri kadar perasan temulawak**1. Perasan temulawak Stock :2%**

Pembuatan: 200 mg temulawak ad medium RPMI 10 ml

2. Perasan temulawak 1%

$$V_1 \cdot 2\% = 1\% \cdot 10$$

$$V_1 = 5 \text{ ml}$$

Pembuatan: 5 ml ad medium RPMI 10 ml.

3. Perasan temulawak 0,5%

$$V_1 \cdot 1\% = 0,5\% \cdot 10$$

$$V_1 = 5 \text{ ml}$$

Pembuatan: 5 ml ad medium RPMI 10 ml.

4. Perasan temulawak 0,25%

$$V_1 \cdot 0,5\% = 0,25\% \cdot 10$$

$$V_1 = 5 \text{ ml}$$

Pembuatan: 5 ml ad medium RPMI 10 ml.

5. Perasan temulawak 0,125%

$$V_1 \cdot 0,25\% = 0,125\% \cdot 10$$

$$V_1 = 5 \text{ ml}$$

Pembuatan: 5 ml ad medium RPMI 10 ml.

6. Perasan temulawak 0,0625%

$$V_1 \cdot 0,125\% = 0,0625\% \cdot 10$$

$$V_1 = 5 \text{ ml}$$

Pembuatan: 5 ml ad medium RPMI 10 ml.



Lampiran 2. Penghitungan limfosit

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

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

Dalam 1 well jumlah sel berisi = 200 μ l

$$\text{Jumlah sel perwell} = 0,2 \times 10^6 \text{ sel/ml}$$

Dibutuhkan 300 well

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

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

$$\begin{aligned} \text{Volume} &= 300 \times 100\mu\text{l} \\ &= 30.000\mu\text{l} \\ &= 30 \text{ ml} \end{aligned}$$

Ambil sel 1,19 ml ad 30 ml.

Lampiran 3. Perhitungan % perbedaan proliferasi limfosit dibanding kontrol negatif

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

A. Inkubasi 24 jam

1. Perasan temulawak 2%	=	$\frac{0,319-0,504}{0,504}$	x 100%
		= -36,71%	
2. Perasan temulawak 1%	=	$\frac{0,343-0,504}{0,504}$	x 100%
		= -36,94%	
3. Perasan temulawak 0,5%	=	$\frac{0,423-0,504}{0,504}$	x 100%
		= -16,07%	
4. Perasan temulawak 0,25%	=	$\frac{0,419-0,504}{0,504}$	x 100%
		= -16,87%	
5. Perasan temulawak 0,125%	=	$\frac{0,450-0,504}{0,504}$	x 100%
		= -10,717%	
6. Perasan temulawak 0,0625%	=	$\frac{0,452-0,504}{0,504}$	x 100%
		= -10,32%	

Lampiran 3 (lanjutan)

B. Inkubasi 48 jam

1. Perasan temulawak 2%	=	$\frac{0,358-0,504}{0,504}$	x 100%
		= -28,97%	
2. Perasan temulawak 1%	=	$\frac{0,300-0,504}{0,504}$	x 100%
		= -40,48%	
3. Perasan temulawak 0,5%	=	$\frac{0,299-0,504}{0,504}$	x 100%
		= -40,68%	
4. Perasan temulawak 0,25%	=	$\frac{0,365-0,504}{0,504}$	x 100%
		= -27,58%	
5. Perasan temulawak 0,125%	=	$\frac{0,453-0,504}{0,504}$	x 100%
		= -10,12%	
6. Perasan temulawak 0,0625%	=	$\frac{0,543-0,504}{0,504}$	x 100%
		= 7,74%	

Lampiran 4. Komposisi bahan

Isolasi dan kultur limfosit

a. Medium RPMI

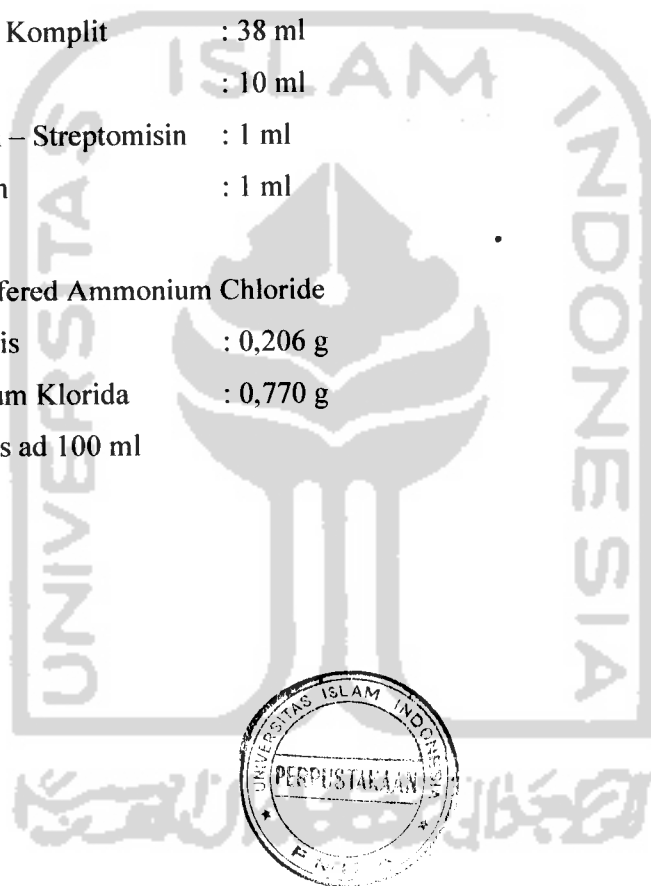
RPMI NaHCO ₃	: 1 l
Hepes	: 2 g
Akuades ad 1 l	: 2 g

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
Akuades ad 100 ml	



Lampiran 5. Anava satu jalan absorbansi proliferasi limfosit (24 jam)

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
dosis	21	4,00	2,049	1	7
absorbansi	21	,41567	,062770	,309	,511

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		dosis	absorbansi
N		21	21
Normal Parameters(a,b)	Mean	4,00	,41567
	Std. Deviation	2,049	,062770
Most Extreme Differences	Absolute	,121	,147
	Positive	,121	,145
	Negative	-,121	-,147
Kolmogorov-Smirnov Z		,555	,673
Asymp. Sig. (2-tailed)		,917	,756

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	,45167	,019502	,011260	,40322	,50011	,438	,474
kadar 0,125% 24 jam	3	,45000	,024249	,014000	,38976	,51024	,436	,478
kadar 0,25% 24 jam	3	,41933	,012702	,007333	,38778	,45089	,412	,434
kadar 0,5% 24 jam	3	,42267	,016623	,009597	,38137	,46396	,405	,438
kadar 1% 24 jam	3	,34267	,007572	,004372	,32386	,36148	,334	,348
kadar 2% 24 jam	3	,31867	,010599	,006119	,29234	,34500	,309	,330
Total	21	,41567	,062770	,013697	,38709	,44424	,309	,511

Lampiran 5 (lanjutan)

Test of Homogeneity of Variances

absorbansi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,340	6	14	,089

ANOVA

absorbansi

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,076	6	,013	54,911	,000
Within Groups	,003	14	,000		
Total	,079	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 24 jam	kadar 0,0625% 24 jam	,053000(*)	,012367	,010	,01075	,09525
	kadar 0,125% 24 jam	,054667(*)	,012367	,008	,01242	,09691
	kadar 0,25% 24 jam	,085333(*)	,012367	,000	,04309	,12758
	kadar 0,5% 24 jam	,082000(*)	,012367	,000	,03975	,12425
	kadar 1% 24 jam	,162000(*)	,012367	,000	,11975	,20425
	kadar 2% 24 jam	,186000(*)	,012367	,000	,14375	,22825
kadar 0,0625% 24 jam	kontrol negatif 24 jam	-,053000(*)	,012367	,010	-,09525	-,01075
	kadar 0,125% 24 jam	,001667	,012367	1,000	-,04058	,04391
	kadar 0,25% 24 jam	,032333	,012367	,194	-,00991	,07458
	kadar 0,5% 24 jam	,029000	,012367	,290	-,01325	,07125
	kadar 1% 24 jam	,109000(*)	,012367	,000	,06675	,15125
	kadar 2% 24 jam	,133000(*)	,012367	,000	,09075	,17525
kadar 0,125% 24 jam	kontrol negatif 24 jam	-,054667(*)	,012367	,008	-,09691	-,01242
	kadar 0,0625% 24 jam	-,001667	,012367	1,000	-,04391	,04058
	kadar 0,25% 24 jam	,030667	,012367	,238	-,01158	,07291
	kadar 0,5% 24 jam	,027333	,012367	,349	-,01491	,06958
	kadar 1% 24 jam	,107333(*)	,012367	,000	,06509	,14958

kadar 0,25% 24 jam	kadar 2% 24 jam	,131333(*)	,012367	,000	,08909	,17358
	kontrol negatif 24 jam	-,085333(*)	,012367	,000	-,12758	-,04309
	kadar 0,0625% 24 jam	-,032333	,012367	,194	-,07458	,00991
	kadar 0,125% 24 jam	-,030667	,012367	,238	-,07291	,01158
	kadar 0,5% 24 jam	-,003333	,012367	1,000	-,04558	,03891
kadar 0,5% 24 jam	kadar 1% 24 jam	,076667(*)	,012367	,000	,03442	,11891
	kadar 2% 24 jam	,100667(*)	,012367	,000	,05842	,14291
	kontrol negatif 24 jam	-,082000(*)	,012367	,000	-,12425	-,03975
	kadar 0,0625% 24 jam	-,029000	,012367	,290	-,07125	,01325
	kadar 0,125% 24 jam	-,027333	,012367	,349	-,06958	,01491
kadar 1% 24 jam	kadar 0,25% 24 jam	,003333	,012367	1,000	-,03891	,04558
	kadar 1% 24 jam	,080000(*)	,012367	,000	,03775	,12225
	kadar 2% 24 jam	,104000(*)	,012367	,000	,06175	,14625
	kontrol negatif 24 jam	-,162000(*)	,012367	,000	-,20425	-,11975
	kadar 0,0625% 24 jam	-,109000(*)	,012367	,000	-,15125	-,06675
kadar 2% 24 jam	kadar 0,125% 24 jam	-,107333(*)	,012367	,000	-,14958	-,06509
	kadar 0,25% 24 jam	-,076667(*)	,012367	,000	-,11891	-,03442
	kadar 0,5% 24 jam	-,080000(*)	,012367	,000	-,12225	-,03775
	kadar 2% 24 jam	,024000	,012367	,488	-,01825	,06625
	kontrol negatif 24 jam	-,186000(*)	,012367	,000	-,22825	-,14375
	kadar 0,0625% 24 jam	-,133000(*)	,012367	,000	-,17525	-,09075
	kadar 0,125% 24 jam	-,131333(*)	,012367	,000	-,17358	-,08909
	kadar 0,25% 24 jam	-,100667(*)	,012367	,000	-,14291	-,05842
	kadar 0,5% 24 jam	-,104000(*)	,012367	,000	-,14625	-,06175
	kadar 1% 24 jam	-,024000	,012367	,488	-,06625	,01825

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

Homogeneous Subsets

absorbansi

Tukey HSD

dosis	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
kadar 2% 24 jam	3	,31867		
kadar 1% 24 jam	3	,34267		
kadar 0,25% 24 jam	3		,41933	
kadar 0,5% 24 jam	3		,42267	
kadar 0,125% 24 jam	3		,45000	
kadar 0,0625% 24 jam	3		,45167	
kontrol negatif 24 jam	3			,50467
Sig.		,488	,194	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 6. Anava satu jalan absorbansi proliferasi limfosit (48 jam)

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
dosis	21	4,00	2,049	1	7
absorbansi	21	,40871	,100197	,289	,555

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	dosis	absorbansi
N	21	21
Normal Parameters(a,b)	Mean 4,00	,40871
	Std. Deviation 2,049	,100197
Most Extreme Differences	Absolute ,121	,207
	Positive ,121	,207
	Negative -,121	-,173
Kolmogorov-Smirnov Z	,555	,948
Asymp. Sig. (2-tailed)	,917	,330

- 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 48 jam	3	,54233	,012503	,007219	,51127	,57339	,530	,555
kadar 0,0625% 48 jam	3	,54333	,008083	,004667	,52325	,56341	,534	,548
kadar 0,125% 48 jam	3	,45333	,019009	,010975	,40611	,50055	,434	,472
kadar 0,25% 48 jam	3	,36467	,009018	,005207	,34226	,38707	,356	,374
kadar 0,5% 48 jam	3	,29900	,015620	,009018	,26020	,33780	,289	,317
kadar 1% 48 jam	3	,30000	,003606	,002082	,29104	,30896	,297	,304
kadar 2% 48 jam	3	,35833	,004509	,002603	,34713	,36953	,354	,363
Total	21	,40871	,100197	,021865	,36311	,45432	,289	,555

Lampiran 6 (lanjutan)

Test of Homogeneity of Variances

absorbansi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,472	6	14	,256

ANOVA

absorbansi

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,199	6	,033	246,431	,000
Within Groups	,002	14	,000		
Total	,201	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	-,001000	,009470	1,000	-,03333	,03133
	kadar 0,125% 48 jam	,089000(*)	,009470	,000	,05667	,12133
	kadar 0,25% 48 jam	,177667(*)	,009470	,000	,14534	,20999
	kadar 0,5% 48 jam	,243333(*)	,009470	,000	,21101	,27566
	kadar 1% 48 jam	,242333(*)	,009470	,000	,21001	,27466
	kadar 2% 48 jam	,184000(*)	,009470	,000	,15167	,21633
kadar 0,0625% 48 jam	kontrol negatif 48 jam	,001000	,009470	1,000	-,03133	,03333
	kadar 0,125% 48 jam	,090000(*)	,009470	,000	,05767	,12233
	kadar 0,25% 48 jam	,178667(*)	,009470	,000	,14634	,21099
	kadar 0,5% 48 jam	,244333(*)	,009470	,000	,21201	,27666
	kadar 1% 48 jam	,243333(*)	,009470	,000	,21101	,27566
	kadar 2% 48 jam	,185000(*)	,009470	,000	,15267	,21733
kadar 0,125% 48 jam	kontrol negatif 48 jam	-,089000(*)	,009470	,000	-,12133	-,05667
	kadar 0,0625% 48 jam	-,090000(*)	,009470	,000	-,12233	-,05767
	kadar 0,25% 48 jam	,088667(*)	,009470	,000	,05634	,12099
	kadar 0,5% 48 jam	,154333(*)	,009470	,000	,12201	,18666
	kadar 1% 48 jam	,153333(*)	,009470	,000	,12101	,18566

kadar 0,25% 48 jam	kadar 2% 48 jam	,095000(*)	,009470	,000	,06267	,12733
	kontrol negatif 48 jam	-,177667(*)	,009470	,000	-,20999	-,14534
	kadar 0,0625% 48 jam	-,178667(*)	,009470	,000	-,21099	-,14634
	kadar 0,125% 48 jam	-,088667(*)	,009470	,000	-,12099	-,05634
	kadar 0,5% 48 jam	,065667(*)	,009470	,000	,03334	,09799
kadar 0,5% 48 jam	kadar 1% 48 jam	,064667(*)	,009470	,000	,03234	,09699
	kadar 2% 48 jam	,006333	,009470	,992	-,02599	,03866
	kontrol negatif 48 jam	-,243333(*)	,009470	,000	-,27566	-,21101
	kadar 0,0625% 48 jam	-,244333(*)	,009470	,000	-,27666	-,21201
	kadar 0,125% 48 jam	-,154333(*)	,009470	,000	-,18666	-,12201
kadar 1% 48 jam	kadar 0,25% 48 jam	-,065667(*)	,009470	,000	-,09799	-,03334
	kadar 1% 48 jam	-,001000	,009470	1,000	-,03333	,03133
	kadar 2% 48 jam	-,059333(*)	,009470	,000	-,09166	-,02701
	kontrol negatif 48 jam	-,242333(*)	,009470	,000	-,27466	-,21001
	kadar 0,0625% 48 jam	-,243333(*)	,009470	,000	-,27566	-,21101
kadar 2% 48 jam	kadar 0,125% 48 jam	-,153333(*)	,009470	,000	-,18566	-,12101
	kadar 0,25% 48 jam	-,064667(*)	,009470	,000	-,09699	-,03234
	kadar 0,5% 48 jam	,001000	,009470	1,000	-,03133	,03333
	kadar 2% 48 jam	-,058333(*)	,009470	,000	-,09066	-,02601
	kontrol negatif 48 jam	-,184000(*)	,009470	,000	-,21633	-,15167
kadar 0,25% 48 jam	kadar 0,0625% 48 jam	-,185000(*)	,009470	,000	-,21733	-,15267
	kadar 0,125% 48 jam	-,095000(*)	,009470	,000	-,12733	-,06267
	kadar 0,25% 48 jam	-,006333	,009470	,992	-,03866	,02599
	kadar 0,5% 48 jam	,059333(*)	,009470	,000	,02701	,09166
	kadar 1% 48 jam	,058333(*)	,009470	,000	,02601	,09066

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

Homogeneous Subsets

absorbansi

Tukey HSD

dosis	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
kadar 0,5% 48 jam	3	,29900			
kadar 1% 48 jam	3	,30000			
kadar 2% 48 jam	3		,35833		
kadar 0,25% 48 jam	3		,36467		
kadar 0,125% 48 jam	3			,45333	
kontrol negatif 48 jam	3				,54233
kadar 0,0625% 48 jam	3				,54333
Sig.		1,000	,992	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 7. Plate Sumuran



Lampiran 8. Elisa Reader



10. Surat k

Lampiran 9. Mikroskop

FARMASI
SI UGM

Utara Jogja
542738, 902

SU
Nomor :

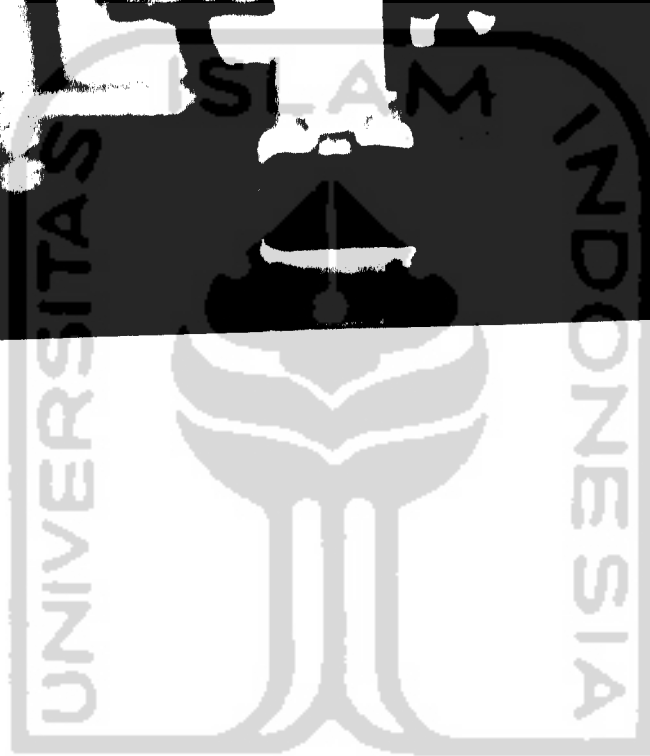
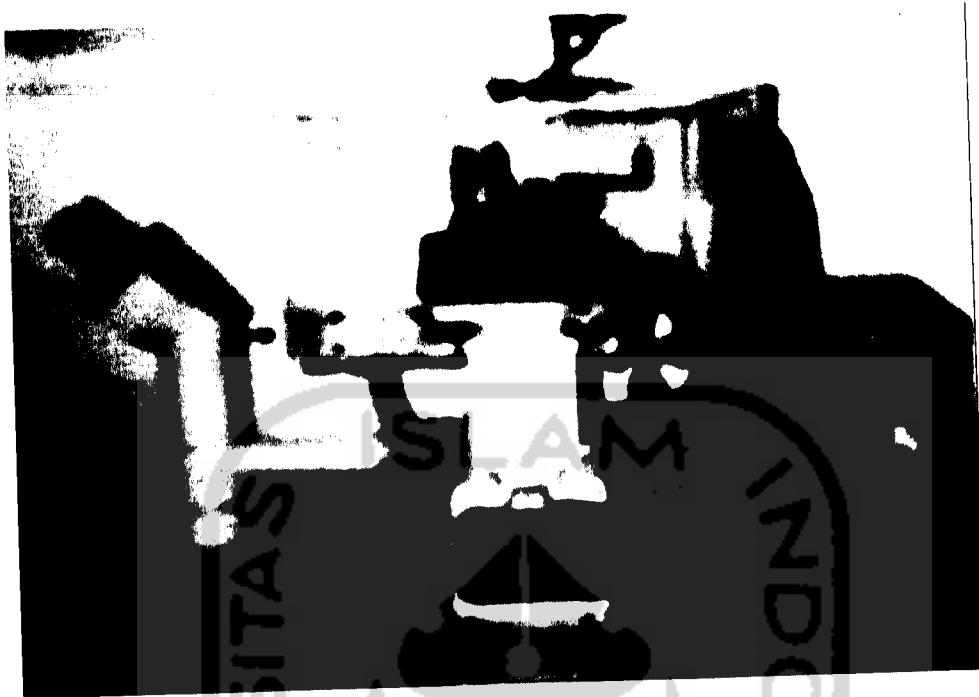
di bawah
wa :

Linda Iraw
02613070

satu sampe

Curcum

gnosi Bagia
ri 2006
t digunakan :



UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

Lampiran 10. Surat keterangan Determinasi

BAGIAN BIOLOGI FARMASI
FAKULTAS FARMASI UGM

Alamat : Sekip Utara Jogjakarta
Telpon : 0274 542738, 902663

SURAT KETERANGAN

Nomor : UGM/FA/34 /Ident/ II/2006

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


N a m a : Linda Irawati
No. Mhs. : 02613070

telah mengidentifikasi satu sampel rimpang tumbuhan :

Curcuma xanthorrhiza Roxb.

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