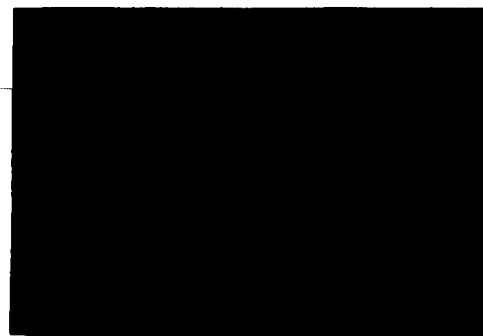


A. inkubasi 24 jam



B. inkubasi 48 jam

**Gambar 6.** Limfosit hasil kultur 24 jam dengan pemberian perasan temulawak Kadar 1 %

Dari gambar limfosit hasil kultur, dapat diketahui pada kontrol negatif sel-sel menggerombol semakin rapat. Hal ini menandakan bahwa pemberian vaksin *H Influenzae* dapat merangsang sel-sel limfosit untuk berproliferasi sebagai respon sebagai akibat adanya senyawa asing yang masuk kedalam sel-sel limfosit tersebut. Sedangkan pada seri kadar perasan temulawak yang terlihat pada gambar 4, 5, dan 6 tampak sel-selnya mengalami penurunan dalam berproliferasi jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Dari data diatas kemungkinan kandungan kurkumin dalam perasan temulawak berfungsi sebagai imunomodulator karena dapat menurunkan proliferasi limfositnya.

#### **D. Pengukuran proliferasi limfosit dengan metode MTT reduction**

Limfosit didistribusikan pada 96-well plate dan kedalam 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 temulawak pada beberapa seri kadar 0.0625 %, 0.125 %, 0.25 %, 0.5 %, 1 %, 2 % diharapkan dapat meningkatkan proliferasi limfositnya.

Kemudian hasil yang didapat dibandingkan kontrol negatif yang berisikan limfosit dan RPMI. Kemudian dilakukan inkubasi pada kultur sel selama 24 jam dan 48 jam, inkubasi 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 temulawak.

---

Selanjutnya ditambahkan MTT dan diinkubasi selama 4 jam, setelah 4 jam kemudian ditambahkan reagen stopper (SDS 10 %) untuk menghentikan reaksi MTT yang cara kerjanya mendenaturasi protein.

Uji MTT *reduction* yang merupakan suatu metode pengukuran terhadap sel hidup. Digunakan metode ini karena metode ini merupakan metode yang paling lazim digunakan dalam metode *in vitro*, selain itu metode MTT memiliki sensitifitas yang tinggi, lebih sederhana, murah, dan berkorelasi terhadap jumlah sel yang 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). Formazan yang terbentuk dilarutkan dengan penambahan SDS 10% sebagai reagen stopper untuk menghentikan reaksi enzimatik (melisiskan sel) sehingga intensitas warnanya bisa ditetapkan secara spektro dengan ELISA reader 550 nm. 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 warna yang dihasilkan akan semakin tua.

Dari hasil pengukuran ELISA readera didapatkan hasil absorbansi yang kemudian dianalisis dengan statistika menggunakan Anava satu jalan dengan taraf kepercayaan 95 % 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.

Hasil pengukuran proliferasi limfosit dapat dilihat pada tabel 1.

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

*Reduction*

KELOMPOK	WAKTU INKUBASI		% PERBEDAAN TERHADAP KONTROL NEGATIF	
	24 JAM	48 JAM	24 JAM	48 JAM
I Perasan temulawak 2%	0,319 $\pm$ 0,011*	0,358 $\pm$ 0,004*	- 36,71	- 28,97
II Perasan temulawak 1%	0,343 $\pm$ 0,007*	0,300 $\pm$ 0,003*	- 31,94	- 40,48
III Perasan temulawak 0.5%	0,423 $\pm$ 0,017*	0,299 $\pm$ 0,016*	- 16,07	- 40, 68
IV Perasan temulawak 0.25%	0,419 $\pm$ 0,013*	0,365 $\pm$ 0,009*	- 16,87	- 27,58
V Perasan temulawak 0.125%	0,450 $\pm$ 0,024*	0,453 $\pm$ 0,019*	- 10,71	- 10,11
VI Perasan temulawak 0.0625%	0,452 $\pm$ 0,019*	0,543 $\pm$ 0,008	- 10.32	7,74
VII Kontrol negatif	0,504 $\pm$ 0,004	0,525 $\pm$ 0,015	-	-

Keterangan :

a. \*signifikan terhadap kontrol negatif.

b. Rumus % perbedaan terhadap kontrol negatif =  $\frac{\text{perlakuan} - \text{kontrol negatif}}{\text{kontrol negatif}} \times 100\%$

Dari data diatas, hasil absorbansi proliferasi limfosit pada hampir semua kelompok kecuali pada kelompok dengan kadar 0,0625% jika dibandingkan dengan kontrol negatif berbeda signifikan, hal ini disebabkan proliferasi limfosit mengalami penurunan yang sangat tinggi. Sedangkan pada perasan temulawak kadar 0,0625% tidak berbeda signifikan jika dibandingkan dengan kontrol negatif, sehingga dapat dikatakan bahwa pada seri kadar tersebut perasan temulawak tidak dapat memberikan pengaruh terhadap proliferasi limfosit. Hasil antarkadar menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, hal ini menunjukkan bahwa