

---

**EFEK PEMBERIAN TEMULAWAK TERHADAP BERAT BADAN DAN SISTEM  
IMUN MENCIT BALB/c**

**[THE EFFECT OF CURCUMIN (*Curcuma xanthorrhiza*) DOSAGE ON BODY WEIGHT  
AND IMMUNE RESPONSE OF MICE BALB/c]**

Jap Lucy<sup>1\*</sup>, Lulu Florencia<sup>1</sup>, Elvina<sup>1</sup>, Dina Stefani<sup>2</sup> dan Agustina Ika Susanti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Biologi, Universitas Pelita Harapan, Lippo Karawaci, Tangerang

<sup>2</sup>Program Studi Matematika, Universitas Pelita Harapan, Lippo Karawaci, Tangerang

\*Korespondensi : jap.lucy@uph.edu

**ABSTRACT**

*Curcuma (Curcuma xanthorrhiza) is a well-known Indonesian traditional medicine. It is believed to be beneficial for health. Curcuma xanthorrhiza contain curcuminoid, starch and essential oil. This herb is widely used as a traditional medicine that is packaged in the form of powders, drinks and tablets. Curcuma xanthorrhiza tablet used in the study was separated by Thin Layer Chromatography (TLC) which exhibit the compound's content to be similar to pure curcuma. This study was followed by feeding BALB/c mice with curcuma tablet on different doses (100 mg / kg body weight (BW), 200 mg / kg, and 400 mg / kg and water as a control. The effect of various doses of Curcuma xanthorrhiza on weight gain and immune response was determined. Treatment was given to BALB/c mice for 20 days on different doses and weighed once a week. Observation of body weight of mice for four weeks showed that administration of Curcuma xanthorrhiza did not affect weight gain significantly ( $p < 0,05$ ). Phagocytosis test and hemagglutination test (HA) were conducted, exhibiting both pro and anti-inflammatory actions.*

*Keywords : adaptive, curcuma xanthorrhiza, hemagglutination, innate, phagocytosis*

**ABSTRAK**

Temulawak (*curcuma xanthorrhiza*) merupakan tanaman yang berasal dari Indonesia. Temulawak dipercaya bermanfaat dalam menjaga kesehatan tubuh. Kandungan yang terdapat pada temulawak adalah kurkuminoid, pati, dan minyak atsiri. Tanaman ini banyak digunakan sebagai obat tradisional yang dikemas dalam bentuk bubuk, minuman dan tablet. Penelitian ini menggunakan temulawak dalam bentuk tablet yang dipisahkan dengan menggunakan teknik *Thin Layer Chromatography* (TLC). Penelitian ini dilanjutkan dengan pemberian temulawak pada mencit BALB/c dengan dosis yang berbeda. Tujuan dari pemberian temulawak adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian temulawak pada dosis yang berbeda pada kenaikan berat badan. Dosis temulawak yang diberikan adalah 100 mg/kg berat badan (BB), 200 mg/kg BB, dan 400 mg/kg BB dan air sebagai kontrol. Perlakuan diberikan selama 20 hari dengan menggunakan jarum sonde dan mencit ditimbang satu kali dalam seminggu. Pengamatan berat badan mencit selama empat minggu menunjukkan bahwa pemberian temulawak tidak mempengaruhi kenaikan berat badan secara signifikan. Selain itu, juga dilakukan uji fagositosis dan uji hemaglutinasi (HA). Uji fagositosis dan uji hemaglutinasi menunjukkan hasil yang variabel.

Kata kunci: *adaptive*, fagositosis, hemaglutinasi, *innate*, temulawak

## PENDAHULUAN

Temulawak merupakan salah satu tumbuhan obat yang banyak digunakan sebagai bahan baku obat tradisional. Di Indonesia, temulawak dapat ditemukan dalam bentuk tablet, minuman, serbuk maupun dikemas dalam produk jamu. Temulawak secara empiris banyak digunakan sebagai obat tunggal maupun campuran. Eksistensi temulawak sebagai tumbuhan obat sudah dikenal di Indonesia, terutama dikalangan masyarakat Jawa. Bahan baku pembuatan obat tradisional berbahan temulawak adalah rimpang temulawak. Temulawak dipercaya dapat memelihara kesehatan tubuh dan menyembuhkan berbagai macam penyakit. Pengujian khasiat temulawak dapat diketahui melalui bukti empiris seperti pengujian secara *in vitro*, pengujian praklinis kepada binatang dan uji klinis terhadap manusia (Prana, 2008).

Ekstraksi temulawak yang dilakukan secara tradisional yaitu dengan memotong rimpang temulawak, dikeringkan dan dihancurkan dengan menggunakan *blender* akan memakan waktu yang lama dan tidak efisien. Oleh karena itu, banyak perusahaan farmasi yang melakukan ekstraksi temulawak dan dikemas dalam bentuk tablet dan kapsul untuk memudahkan masyarakat untuk mengkonsumsi temulawak. Penelitian ini dilakukan untuk menguji kandungan

temulawak yang terdapat pada tablet dengan menggunakan teknik *Thin Layer Chromatography* (TLC). Dengan dilakukannya penelitian ini, diharapkan masyarakat Indonesia mengetahui bahwa tablet yang dikonsumsi mengandung kandungan yang sama dengan rimpang temulawak. TLC merupakan suatu teknik yang dilakukan untuk menentukan jumlah komponen yang ada pada suatu sampel atau suatu bahan dan dapat mengidentifikasi komponen-komponen tersebut. Fase diam TLC terbuat dari serbuk halus yang dapat berupa suatu adsorben, penukar ion, pengayak molekul atau dapat merupakan penyangga yang dilapisi suatu cairan. Bahan adsorben yang digunakan sebagai fase diam dapat digunakan gel silika, aluminium dan serbuk selulosa. Partikel gel silika mengandung gugur hidroksil dipermukaannya yang akan membentuk ikatan hidrogen dengan molekul-molekul polar (Budiasih, 2008).

Analisa TLC dilakukan dalam berbagai tahap yaitu persiapan kromatografi, aplikasi sampel pada lempeng TLC, menjalankan kromatograf dan menentukan nilai Rf. Dalam kromatografi adsorpsi pengelusi eluen naik sejalan dengan polaritasnya. Eluen pengembang dapat berupa pelarut tunggal dan campuran dengan susunan tertentu. Pelarut-pelarut pengembang harus mempunyai kemurnian yang tinggi agar

tidak terdapat zat pengotor yang dapat menghasilkan kromatogram yang tidak diharapkan. Untuk membantu identifikasi zat-zat yang dapat dihitung nilai Rf dari masing-masing zat yang ada pada kromatogram. Nilai Rf dapat dihitung dengan perbandingan jarak *spot* dibagi dengan jarak permukaan eluen (Cahyono *et al.*, 2011).

Temulawak banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia, namun dampak yang dihasilkan bergantung pada dosis yang dikonsumsi (Gautam *et al.*, 2007). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian temulawak pada dosis yang berbeda terhadap sistem kekebalan tubuh dan kenaikan berat badan pada mencit BALB/c.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah temulawak tablet, rimpang temulawak, bubuk temulawak, lempeng kromatografi lapis tipis, eluen (kloroform:metanol = 95:5), etanol 70 %, etanol 96 %, air steril, tisu, *plastic wrap*, *aluminium foil*, sel darah merah domba (sRBC) yang diperoleh dari Universitas Indonesia, *ampicillin* 100 µg/ml, *phosphate buffered saline* (PBS), medium *Plate Count Agar* (PCA), medium *Luria Broth* (LB), medium, *bacteriological agar*, antikoagulan yaitu *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA), *Bovine Serum Albumin* (BSA),

kultur *Escherichia coli pBluescript*, dan 0,2 M 2-merkaptotanol.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit BALB/c jantan usia 6 minggu.

### Metode Penelitian

#### Analisa Komponen Aktif Temulawak dengan TLC

Lempeng kromatografi lapis tipis berbahan gel silika disiapkan dengan jarak pergerakan molekul sepanjang 5 cm. Sampel yang akan diuji adalah rimpang temulawak, temulawak tablet, dan temulawak bubuk. Masing-masing sampel digerus dan dilarutkan dengan menggunakan sedikit air steril untuk mendapatkan ekstraknya. Masing-masing sampel kemudian diambil dengan menggunakan pipet tetes dan diteteskan di atas lempeng TLC sebanyak satu tetes. Eluen yang digunakan adalah kloroform dan metanol dengan perbandingan 95:5 sebanyak 10 ml. Larutan eluen tersebut dimasukkan ke dalam gelas *beaker* dan ditutup dengan *aluminium foil*, sebelum lempeng TLC dimasukkan. Lempeng kromatografi lapis tipis tersebut lalu dibiarkan hingga pergerakan fase gerak mencapai batas atas lempeng TLC. Setelah itu, lempeng TLC kemudian dikeringkan di dalam oven. *Spot* yang dihasilkan lalu masing-masing dihitung nilai Rf-nya.

#### Pemberian Temulawak pada Mencit

Sebelum dilakukan penelitian, dilakukan pembagian mencit terlebih dahulu

dengan jumlah yang merata sesuai dengan kelompok perlakuan. Perlakuan yang diberikan yaitu kontrol negatif (*placebo*) berupa air, perlakuan kedua yaitu temulawak dengan dosis 100 mg/kg berat badan, perlakuan ketiga yaitu temulawak dengan dosis 200 mg/kg berat badan, sedangkan perlakuan keempat yaitu temulawak dengan dosis 400 mg/kg berat badan. Tablet temulawak digerus dan dilarutkan di dalam air sebanyak 200 µl untuk setiap mencit setiap harinya dengan dosis yang berbeda-beda. Pemberian air juga dilakukan sebanyak 200 µl. Pemberian temulawak dan *placebo* dilakukan secara oral dengan menggunakan jarum sonde selama 20 hari. Sebelum diberikannya perlakuan, berat badan mencit masing-masing ditimbang terlebih dahulu. Penimbangan berat badan dari masing-masing mencit juga dilakukan secara rutin setiap minggunya.

#### **Pencucian Darah Domba/Sheep Red Blood Cell (sRBC) dan Pembuatan Larutan Antigen**

PBS dengan pH 7,2 (NaCl, KCl, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, dan air steril) disterilisasi terlebih dahulu dengan menggunakan autoklaf. Darah domba (sRBC) yang diperoleh dari Universitas Indonesia dimasukkan ke dalam tabung mikro lalu disentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk lalu dibuang dan

ditambahkan PBS ke dalam sRBC hingga mencapai 1 ml. Larutan kemudian disentrifugasi kembali pada kecepatan 4.000 rpm selama 10 menit dan supernatan yang terbentuk dibuang. Proses sentrifugasi, pembuangan supernatan, serta penambahan PBS terus dilakukan selama proses pencucian darah domba hingga supernatan menjadi bersih.

#### **Penginjeksian Antigen sRBC pada Mencit**

Sebanyak 200 µl antigen (sRBC dan PBS) disuntikkan pada setiap mencit baik yang merupakan kelompok perlakuan pertama, kedua, ketiga, maupun keempat. Penginjeksian antigen dilakukan pada hari ke-0 setelah dilakukan pengambilan darah pada jantung mencit (*cardiac puncture*).

#### **Pengambilan Darah pada Jantung Mencit (*Cardiac Puncture*)**

Mencit dari masing-masing kelompok perlakuan dilakukan pengambilan darah pada hari ke-0, hari ke-4, hari ke-7, hari ke-12, dan hari ke-18. Dalam proses pengambilan darah, EDTA digunakan sebagai antikoagulan. Setelah mencit terbunuh, mencit tersebut kemudian diambil dan direntangkan di atas papan bedah. Bagian rusuk dada mencit didorong ke atas lalu jantung mencit diarahkan ke bagian pojok kanan. Ketika jantung mencit sudah ditemukan, suntik bagian jantung secara perlahan lalu dilakukan pengambilan darah. Darah yang telah diperoleh, dimasukkan ke

dalam tabung mikro yang telah terdapat EDTA.

### **Pemisahan Serum Darah**

Darah yang sudah diperoleh melalui *cardiac puncture* lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama satu jam. Setelah diinkubasi, darah disimpan pada suhu 4 °C selama 24 jam. Darah kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 15 menit. Serum yang terbentuk berupa cairan berwarna kuning di bagian atas kemudian dipindahkan ke tabung mikro baru dengan menggunakan mikropipet. Setelah itu, serum darah disimpan pada *freezer* dengan suhu - 20 °C.

### **Isolasi Splenosit dari Limpa Mencit**

Sebelum melakukan isolasi splenosit, tabung mikro kosong ditimbang terlebih dahulu. Mencit yang sudah diambil darah dari jantungnya kemudian didekapitasi terlebih dahulu sebelum diambil organ limpanya. Pengambilan limpa mencit dilakukan dengan membuka bagian abdomen mencit. Limpa yang sudah diambil lalu dimasukkan ke dalam tabung mikro yang telah ditimbang. Setelah itu, tabung mikro tersebut ditimbang kembali untuk mengetahui berat dari limpa tersebut. Limpa kemudian ditambahkan dengan 700 µl PBS. Di dalam *laminar air flow*, limpa lalu direndam pada alkohol dan PBS sebelum akhirnya dihancurkan dengan menggunakan kaca preparat di atas cawan Petri. Penghancuran limpa dilakukan dengan

menambahkan 1 ml PBS ke dalam cawan Petri. Setelah proses penghancuran, sebanyak 1 ml suspensi sel yang terbentuk lalu diambil dan dimasukkan ke dalam tabung mikro baru. Tabung mikro yang berisi suspensi sel lalu didiamkan selama 10 menit hingga jaringan-jaringan lain mengendap di dasar tabung. Suspensi yang telah terpisah dari endapan lalu dipindahkan ke tabung mikro baru dan disentrifugasi dengan kecepatan 2.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan lalu dibuat dan pelet yang terbentuk lalu diresuspensi dengan PBS.

### **Uji Aktivitas Fagositosis Makrofag terhadap *Escherichia coli* dengan Metode Colony Forming Unit (CFU)**

Sebanyak 3 ml medium LB cair steril disiapkan terlebih dahulu kemudian diinokulasikan dengan *Escherichia coli pBluescript*. Setelah itu, kultur tersebut diinkubasi pada suhu 37 °C selama 7 jam (OD 0,6-0,8). Setelah itu, kultur *Escherichia coli* tersebut didilusi dengan tingkat dilusi  $10^5$  (30-300 CFU/plate). Sebanyak kultur *Escherichia coli* yang telah didilusi lalu ditambahkan ke dalam suspensi sel limpa yang telah ditambahkan dengan PBS dengan perbandingan *Escherichia coli*: suspensi sel yaitu 2:1. Selain itu, 400 µl kultur *Escherichia coli* juga ditambahkan dengan 200 µl PBS sebagai kontrol negatif. Kultur tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama satu jam. Untuk melisiskan

splenosit, pada campuran ditambahkan 100 µl air steril dan diinkubasi pada suhu ruang selama 10 menit. Setiap 3 menit, campuran tersebut lalu dibolak-balik secara perlahan. 50 µl campuran kemudian diinokulasikan pada medium PCA yang telah ditambahkan *ampicillin* 100 µg/ml dengan metode *spread plate*. Setelah itu, diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, koloni yang terbentuk pada masing-masing cawan Petri dihitung. Jumlah bakteri setiap ml dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Jumlah bakteri/ml} = \frac{\text{Jumlah koloni}}{\text{Volume inokulum (ml)}} \times \text{faktor dilusi}$$

### **Pengukuran Antibodi Anti-sRBC dengan Metode *Direct Hemagglutination***

Untuk melakukan pengukuran antibodi total dalam serum terhadap sRBC, serum mencit yang berasal dari *cardiac puncture* perlu diinaktivasi pada suhu 56 °C selama 30 menit. Setelah itu, dimasukkan 50 µl PBS yang telah dicampurkan dengan 0,05 % BSA ke dalam setiap *well* pada *U-bottom plate*. Pada *U-bottom plate* juga akan dimasukkan PBS dan sRBC yang berperan sebagai kontrol negatif. Sebanyak 50 µl sampel serum lalu didilusi secara bertingkat dengan menggunakan PBS dan BSA sebelum ditambahkan dengan 50 µl sRBC.

Untuk pengukuran antibodi IgG, pada *well* yang akan digunakan, dimasukkan

50 µl 0,2 M 2-merkaptotanol. Pada *U-bottom plate* juga akan dimasukkan 0,2 M 2-merkaptotanol dan sRBC yang berperan sebagai kontrol negatif. Sebanyak 50 µl sampel serum lalu didilusi secara bertingkat dengan menggunakan 0,2 M 2-merkaptotanol sebelum ditambahkan dengan 50 µl sRBC. Campuran kemudian diinkubasi pada 37 °C selama 30 menit. Setelah itu, setiap *well* ditambahkan dengan 50 µl sRBC. *Plate* lalu digoyangkan secara perlahan hingga seluruh sampel serum dan antigen tercampur. Setelah itu, *plate* lalu ditutup dan diinkubasi pada 37 °C selama 24 jam.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan untuk mengetahui pengaruh pemberian dosis temulawak yang berbeda-beda terhadap respon imun mencit yang diinduksi dengan antigen sel darah merah domba (sRBC). Dosis temulawak yang diberikan yaitu 100 mg/kg berat badan mencit, 200 mg/kg, dan 400 mg/kg dengan kontrol negatif yaitu *placebo* berupa air. Larutan temulawak dengan dosis yang berbeda-beda dan air sebagai kontrol negatif diberikan sebanyak 200 µl untuk setiap mencit setiap harinya selama 20 hari secara oral (*sonde*). Berdasarkan hasil analisa kromatografi lapis tipis, temulawak yang digunakan merupakan temulawak tablet. Pengujian yang dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian temulawak terhadap

respon imun mencit yaitu uji aktivitas fagositosis makrofag terhadap *Escherichia coli* dan uji hemaglutinasi secara langsung.

### Analisa Komponen Aktif Temulawak dengan Metode TLC



Keterangan: A: rimpang temulawak; B: temulawak tablet; C: temulawak serbuk

Gambar 1. Hasil visualisasi pemisahan temulawak dari berbagai sampel dengan metode TLC.

Pada percobaan dengan menggunakan metode TLC, digunakan berbagai macam sampel rimpang temulawak. Sampel temulawak yang digunakan adalah rimpang temulawak, temulawak tablet, dan temulawak serbuk. Rimpang temulawak digerus dan ditambahkan dengan air sehingga menjadi larutan. Temulawak tablet digerus dan dilarutkan dengan air, sedangkan temulawak serbuk ditambahkan air dan dibiarkan hingga mengendap lalu diambil bagian atasnya. Larutan dari setiap sampel diambil sebanyak satu tetes dengan menggunakan pipet tetes dan ditetaskan diatas lempeng TLC. Lempeng TLC kemudian dimasukkan ke dalam eluen yang telah disiapkan dan dibiarkan hingga

terbentuk *spot* pada setiap sampel. Lempeng TLC dikeringkan dengan *oven* lalu dapat divisualisasi dan nilai Rf dari masing-masing *spot* dapat dihitung. Hasil visualisasi lempeng TLC dengan menggunakan berbagai macam temulawak dapat dilihat pada Gambar 1.

Dengan menggunakan teknik kromatografi lapis tipis, maka komponen yang terdapat pada temulawak dapat dipisahkan. Dalam kromatografi ini, lempeng kromatografi lapis tipis yang berupa gel silika berperan sebagai fase diam sedangkan fase geraknya yaitu kloroform dan metanol dengan perbandingan 95:5. Berdasarkan Gambar 1, dapat dilihat bahwa setiap sampel temulawak menghasilkan *spot-spot* dengan jumlah yang berbeda-beda. Hasil pemisahan rimpang temulawak menghasilkan dua *spot*, temulawak tablet menghasilkan dua *spot*, sedangkan temulawak bubuk menghasilkan satu *spot*. Setiap *spot* yang dihasilkan akan menunjukkan kandungan yang terdapat di dalam sampel temulawak tersebut. Untuk mengetahui kandungan yang terdapat di dalam sampel, maka dapat dilakukan perhitungan nilai *retention factor* (Rf). Perhitungan nilai Rf dapat dilakukan dengan membandingkan jarak yang ditempuh *spot* dengan jarak yang ditempuh fase gerak (Cahyono *et al.*, 2011). Nilai Rf dari *spot* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai Rf dari *spot* yang terbentuk dari beberapa sampel temulawak

Sampel	<i>Spot</i> ke-	Rf
1	1	0,93
	2	0,66
2	1	0,89
	2	0,65
3	1	0,91

Keterangan: Sampel 1: rimpang temulawak; Sampel 2: temulawak tablet; Sampel 3: temulawak serbuk.

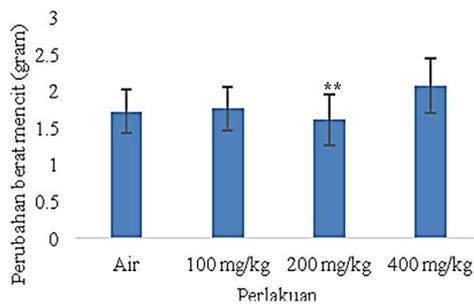
Berdasarkan Tabel 1, dapat dilihat bahwa terdapat kandungan kurkumin pada masing-masing sampel temulawak. Hal ini ditunjukkan dengan adanya *spot-spot* pada sampel temulawak. Pada sampel rimpang temulawak terdapat dua *spot* dengan nilai Rf 0,93 dan 0,66. Pada sampel temulawak tablet terdapat satu *spot* dengan nilai Rf 0,89 dan pada sampel temulawak serbuk terdapat satu *spot* dengan nilai Rf 0,91. Berdasarkan literatur, nilai Rf kurkumin adalah 0,75 dan nilai Rf *xanthorrhizol* adalah 0,58 (Revathy *et al.*, 2011; Mangunwardoyo *et al.*, 2012). Ketiga sampel temulawak yang diuji diketahui mempunyai kandungan kurkumin apabila dilihat dari nilai Rf karena nilai Rf-nya mendekati nilai Rf kurkumin berdasarkan literatur. Pada *spot* ke dua dari sampel rimpang temulawak dan sampel temulawak tablet menunjukkan bahwa terdapat kandungan *xanthorrhizol* dilihat dari nilai Rf yang mendekati nilai Rf *xanthorrhizol* berdasarkan literatur. Oleh karena kemiripan temulawak tablet dengan rimpang temulawak, maka digunakan temulawak tablet sebagai sampel yang akan diuji.

## Pengaruh Temulawak terhadap Berat Badan Mencit

Dalam masa perlakuan terhadap empat kelompok perlakuan mencit yang berbeda-beda yaitu dengan pemberian temulawak 100 mg/kg, 200 mg/kg, 400 mg/kg, dan *placebo* berupa air secara oral selama 20 hari. Masing-masing mencit di dalam kelompok perlakuan tersebut ditimbang berat badannya sebelum perlakuan dan secara rutin setiap minggunya selama perlakuan. Hal ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian temulawak terhadap berat badan mencit karena menurut Pane *et al.* (2016), pemberian temulawak dapat meningkatkan berat badan. Hasil dari perubahan berat badan mencit setiap minggunya pada perlakuan yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 2.

Berdasarkan Gambar 2, perubahan berat badan mencit tertinggi terjadi pada pemberian temulawak dengan 400 mg/kg, temulawak 100 mg/kg, air, dan temulawak 200 mg/kg. Namun, berdasarkan analisa statistik, ketika pemberian air dibandingkan dengan pemberian temulawak 100 mg/kg, hasilnya tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p\text{-value} = 0.14 > 0,05$ ). Apabila hasil dari pemberian air dibandingkan dengan pemberian temulawak 200 mg/kg maka menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p\text{-value} = 0.02 < 0,05$ ), sedangkan pada pemberian temulawak 400 mg/kg tidak menunjukkan perbedaan yang

signifikan ( $p\text{-value} = 0.28 > 0,05$ ). Oleh karena itu, hanya dengan pemberian temulawak 200 mg/kg yang dapat memberikan pengaruh yang sangat signifikan terhadap perubahan berat badan mencit.



Keterangan: perubahan berat badan mencit diketahui dengan mengurangi berat badan mencit pada minggu kedua dengan minggu pertama, berat badan mencit pada minggu ketiga dengan minggu kedua, dan berat badan mencit pada minggu keempat dengan minggu ketiga. data tersebut menunjukkan rata-rata  $\pm$  SE dari setiap data yang diperoleh selama empat minggu. \*\* menunjukkan nilai  $p\text{-value} = 0,03 < 0,05$  apabila dibandingkan dengan kelompok perlakuan air.

Gambar 2. Perubahan berat badan mencit

Berdasarkan Gambar 2, perubahan berat badan mencit tertinggi terjadi pada pemberian temulawak dengan 400 mg/kg, temulawak 100 mg/kg, air, dan temulawak 200 mg/kg. Namun, berdasarkan analisa statistik, ketika pemberian air dibandingkan dengan pemberian temulawak 100 mg/kg, hasilnya tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p\text{-value} = 0.14 > 0,05$ ). Apabila hasil dari pemberian air dibandingkan dengan pemberian temulawak 200 mg/kg maka menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p\text{-value} = 0.02 < 0,05$ ), sedangkan pada pemberian temulawak 400 mg/kg tidak menunjukkan perbedaan yang

signifikan ( $p\text{-value} = 0.28 > 0,05$ ). Oleh karena itu, hanya dengan pemberian temulawak 200 mg/kg yang dapat memberikan pengaruh yang sangat signifikan terhadap perubahan berat badan mencit.

Pemberian temulawak dapat mempercepat kerja usus halus sehingga dapat mempercepat pengosongan lambung yang akan menimbulkan rasa lapar dan menambah nafsu makan. Temulawak dapat mempengaruhi berat badan karena komponen *xanthorrhizol* mempengaruhi lipid yang berada pada badan mencit, khususnya mempengaruhi ukuran dan sel-sel pada jaringan adiposa pada bagian intraperitoneal tubuh mencit. Jumlah sel adiposa dapat meningkat karena adanya pengaruh dari senyawa *xanthorrhizol* namun, ukuran dari setiap sel mengecil. Senyawa *xanthorrhizol* diketahui dapat mengurangi jumlah trigliserida dan asam lemak bebas pada badan mencit (Yasni *et al.*, 2007).

### **Pengaruh Temulawak terhadap Berat Limpa**

Limpa merupakan organ yang berperan penting di dalam tubuh seperti pada sistem kekebalan tubuh. Limpa berperan dalam melindungi tubuh dari serangan patogen. Limpa tersusun atas splenosit yang merupakan sel limpa yang terdiri dari sel limfosit T, limfosit B, sel dendritik serta sel makrofag yang berperan

dalam merespon antigen. Limpa juga merupakan tempat penyimpanan sel darah merah. Jumlah splenosit di dalam limpa dapat mempengaruhi berat dari limpa. Semakin berat limpa yang diperoleh, maka jumlah splenositnya akan meningkat. Begitu juga sebaliknya, apabila berat limpa menurun, maka juga akan terjadi penurunan jumlah splenosit yang diperoleh. Pengaruh pemberian temulawak terhadap respon imun dapat diketahui dengan membandingkan antara berat limpa dengan berat badan mencit (Tiron & Vasilescu, 2007). Hasil perbandingan berat limpa dengan berat badan mencit dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil perbandingan antara berat limpa dengan berat mencit

Hari	Berat Limpa/Berat Mencit			
	Air	100 mg/kg	200 mg/kg	400 mg/kg
0	1,52	1,45	1,1	0,97
4	1,43	0,82	0,97	0,53
7	1,59	1,36	0,91	0,76
12	1,03	1,03	0,8	1,24
18	0,52	0,63	0,7	0,63

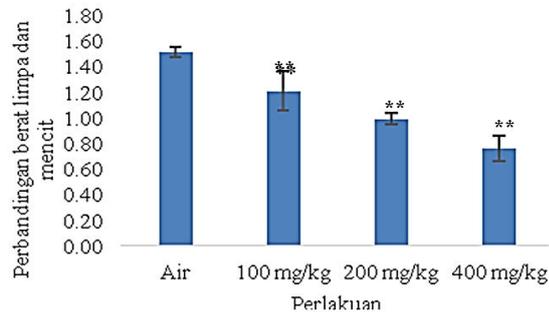
Keterangan: perbandingan berat mencit dan berat limpa setelah penyuntikan sRBC.

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada Tabel 2, dapat dilihat bahwa pada hari ke-0 dan hari ke-7, terjadi penurunan perbandingan antara berat limpa dengan berat badan mencit dari mencit yang diberi air, temulawak 100 mg/kg, temulawak 200 mg/kg, dan temulawak 400 mg/kg. Pada hari ke-4 juga terjadi penurunan perbandingan antara berat limpa dengan berat badan mencit yang diberi air, temulawak 100 mg/kg, dan temulawak 400 mg/kg. Namun

terjadi kenaikan pada mencit yang diberi temulawak 200 mg/kg. Pada hari ke-12 dan ke-18, pengaruh temulawak terhadap perbandingan antara berat limpa dengan berat badan mencit sudah mulai tidak terlihat, karena kurang lebih sama dengan mencit yang diberi air. Hal ini menunjukkan bahwa efek dari temulawak sudah mulai hilang pada hari ke-12 dan hari ke-18. Untuk mengetahui pengaruh pemberian temulawak terhadap perbandingan berat limpa dengan berat badan mencit, maka dapat dilakukan analisa statistik seperti yang terdapat pada Gambar 3.

Berdasarkan Gambar 3 dapat dilihat bahwa terjadi penurunan perbandingan antara berat limpa dengan berat badan mencit dari mencit yang diberi air, temulawak 100 mg/kg, temulawak 200 mg/kg, dan temulawak 400 mg/kg. Analisa statistik dilakukan dengan membandingkan variasi dari setiap data pada mencit melalui pemberian air yang berperan sebagai kontrol dengan variasi dari setiap data dengan pemberian temulawak dengan dosis yang berbeda-beda. Apabila hasil dari pemberian air dibandingkan dengan pemberian temulawak 100 mg/kg ( $p\text{-value} = 0,04 < 0,05$ ), 200 mg/kg ( $p\text{-value} = 0,03 < 0,05$ ), dan 400 mg/kg ( $p\text{-value} = 0,04 < 0,05$ ), hasilnya menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan ( $p\text{-value} < 0,05$ ). Oleh karena itu, berdasarkan analisa statistik yang diperoleh, maka dengan *confidence interval*

95%, pemberian temulawak 100 mg/kg, 200 mg/kg, dan 400 mg/kg dapat menurunkan berat limpa mencit dengan sangat signifikan.



Keterangan: data tersebut menunjukkan rata-rata  $\pm$  SE dari setiap data yang diperoleh pada H-0, H-4, dan H-7. \*\*menunjukkan  $p$ -value  $< 0,05$  apabila dibandingkan dengan kelompok perlakuan air. Pemberian temulawak 100 mg/kg ( $p$ -value = 0,04  $< 0,05$ ), 200 mg/kg ( $p$ -value = 0,03  $< 0,05$ ), dan 400 mg/kg ( $p$ -value = 0,048  $< 0,05$ )

Gambar 3. Pengaruh temulawak terhadap perbandingan berat limpa dengan berat badan mencit

Penurunan berat limpa menunjukkan terjadinya penurunan sel di dalam limpa. Di dalam limpa terdapat sel-sel berupa sel darah merah, sel limfosit T, limfosit B, sel dendritik, serta sel makrofag. Kandungan kurkumin di dalam temulawak diketahui dapat menurunkan jumlah sel darah merah karena menghambat proses hematopoiesis sel darah merah. Dalam proses pembentukan sel darah merah, adanya komponen kurkumin dapat menghambat interaksi antara zat besi dengan hemoglobin karena kurkumin dapat menjadi *chelator* zat besi. Dengan hal ini maka zat besi tersebut akan berikatan dengan kurkumin dan tidak berikatan dengan hemoglobin. Oleh karena itu, pada mencit yang kekurangan asupan zat

besi, maka dapat menyebabkan anemia karena kekurangan sel darah merah sehingga mempengaruhi berat limpa (Jiao *et al.*, 2009).

### Uji Aktivitas Fagositosis Makrofag terhadap *Escherichia coli* dengan Metode CFU

Uji aktivitas fagositosis makrofag dilakukan untuk mengetahui kemampuan splenosit dalam sistem imun. Uji aktivitas fagositosis dilakukan dengan menginkubasi kultur *Escherichia coli* dengan splenosit. *Escherichia coli* yang akan berperan sebagai patogen. Dalam proses fagositosis, makrofag akan menghancurkan patogen tersebut (Sukandar *et al.*, 2012). Uji aktivitas fagositosis dapat dilakukan dengan perhitungan *colony forming unit* (CFU). Metode CFU digunakan untuk mengetahui jumlah bakteri *Escherichia coli* yang masih hidup. Hasil perhitungan jumlah bakteri dapat dilihat pada Tabel 3.

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat hasil perhitungan jumlah bakteri *Escherichia coli* yang menunjukkan aktivitas fagositosis splenosit terhadap *Escherichia coli*. Uji aktivitas fagositosis dilakukan dengan menghitung jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* yang terbentuk pada medium *Plate Count Agar* (PCA). Dengan metode CFU, hanya sel yang hidup yang akan tumbuh sedangkan sel yang mati tidak akan tumbuh. Berdasarkan hasil pada Tabel 3, dapat dilihat bahwa pada hari ke-0 dan

hari ke-4, terjadi peningkatan jumlah *Escherichia coli* seiring dengan peningkatan dosis temulawak. Pada hari ke-7 dan ke-12, terjadi penurunan jumlah *Escherichia coli* seiring dengan peningkatan dosis temulawak. Namun pada hari ke-18, pengaruh pemberian temulawak terhadap aktivitas fagositosis sudah mulai tidak terlihat karena jumlah bakteri yang dihasilkan kurang lebih sama antara perlakuan pemberian air, temulawak 100 mg/kg, 200 mg/kg, dan 400 mg/kg. Hal ini menunjukkan bahwa efek dari temulawak sudah mulai menghilang pada hari ke-18.

Tabel 3. Hasil perhitungan jumlah *Escherichia coli*

Hari	PBS	Jumlah bakteri / ml ( $n \times 10^8$ )			
		Air	100 mg/kg	200 mg/kg	400 mg/kg
0	-	0,4	0,6	3	3,4
4	-	0,2	0,5	0,6	0,9
7	-	1,7	1,7	1,5	1,35
12	0,9	2,2	2,9	2,7	1,4
18	0,8	2,9	2	2,8	2,9

Keterangan: Jumlah bakteri setiap ml dihitung dengan rumus jumlah koloni x faktor dilusi / volume inokulum (0,05 ml). Tanda (-) menunjukkan tidak terdapat koloni yang terbentuk.

Pada uji aktivitas fagositosis, digunakan kontrol negatif berupa *phosphate buffered saline* (PBS) yang ditambahkan ke dalam kultur *Escherichia coli* tanpa ada penambahan limpa. PBS tidak memiliki kandungan yang dapat melakukan fagositosis sehingga jumlah *Escherichia coli* tidak akan berkurang. Tidak adanya limpa juga menunjukkan tidak adanya aktivitas fagositosis dari makrofag. Oleh karena itu,

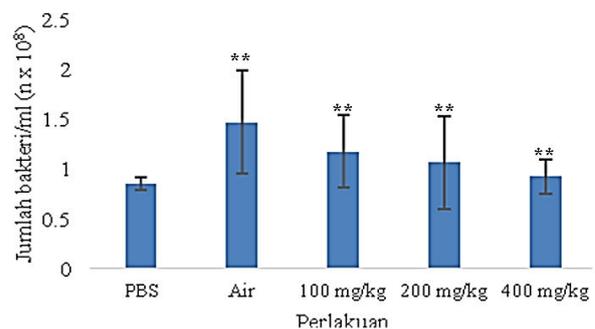
jumlah *Escherichia coli* yang diberikan penambahan PBS seharusnya lebih banyak dibandingkan dengan jumlah *Escherichia coli* yang ditambahkan dengan splenosit (National Center for Biotechnology Information, 2017). Namun seperti yang terdapat pada Tabel 3, *Escherichia coli* yang ditambahkan dengan PBS menunjukkan hasil yang lebih rendah dan bahkan pada hari ke-0, ke-4, dan ke-7 tidak menunjukkan adanya pertumbuhan *Escherichia coli* apabila dibandingkan dengan *Escherichia coli* yang ditambahkan dengan splenosit. Hal ini dapat terjadi karena kandungan PBS yaitu NaCl, KCl, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, dan air steril sedangkan dalam pertumbuhannya *Escherichia coli* membutuhkan sumber karbon sehingga kemungkinan PBS tidak dapat menunjang pertumbuhan *Escherichia coli*. Selain itu, karena jumlah *Escherichia coli* yang dihasilkan pada penambahan limpa lebih banyak, maka dapat diketahui bahwa limpa dapat meningkatkan pertumbuhan *Escherichia coli* (Van Elsas *et al.*, 2011).

Apabila terdapat aktivitas fagositosis, maka seharusnya terjadi penurunan jumlah *Escherichia coli* yang diperoleh. Ketika *Escherichia coli* berikatan dengan reseptor yang terdapat pada makrofag, maka akan terbentuk sitoplasma yang akan mengopsonisasi *Escherichia coli* atau yang disebut dengan fagosom. Fagosom kemudian akan berfusi dengan

lisosom membentuk fagolisosom. Enzim yang terdapat pada lisosom seperti asam hidrolase dan peroksidase akan mencerna dan menghancurkan *Escherichia coli* (Richards dan Endres, 2014). Hal ini seperti yang ditunjukkan pada hari ke-7 dan ke-12. Semakin tinggi dosis temulawak yang diberikan, maka aktivitas fagositosisnya meningkat. Berbeda dengan data yang diperoleh pada hari ke-7 dan ke-12, pada hari ke-0 dan ke-4, semakin tinggi pemberian dosis temulawak menunjukkan jumlah *Escherichia coli* yang juga semakin tinggi. Hal ini dapat terjadi karena penginjeksian antigen darah merah domba dilakukan pada hari ke-0 setelah dilakukan pengambilan darah pada jantung mencit (*cardiac puncture*). Dengan hal ini, maka splenosit yang diisolasi pada hari ke-0 tidak mengandung antigen sRBC. Apabila terdapat antigen, maka akan memicu respon imun sehingga respon imun mencit akan lebih sensitif terhadap partikel asing. Sensifitas yang tinggi dapat menyebabkan sel-sel makrofag yang dihasilkan akan semakin banyak dalam memfagosit *Escherichia coli* (Gallily & Feldman, 1967).

Untuk mengetahui pengaruh pemberian temulawak dengan dosis yang berbeda-beda terhadap aktivitas fagositosis makrofag hasil isolasi splenosit, maka dapat dilakukan analisa statistik. Analisa statistik dilakukan dengan membandingkan variasi dari setiap data jumlah *Escherichia coli*

yang dihasilkan dengan kontrol negatif yaitu *Escherichia coli* yang ditambahkan dengan PBS. Selain itu, untuk mengetahui pengaruh pemberian dosis temulawak terhadap aktivitas fagositosis juga perlu dibandingkan antara jumlah *Escherichia coli* yang dihasilkan dari hasil isolasi splenosit pemberian dosis temulawak yang berbeda-beda dengan perlakuan air (kontrol negatif). Hasil analisa statistik dapat dilihat pada Gambar 4.



Keterangan: data tersebut menunjukkan rata-rata  $\pm$  SE dari keseluruhan data yang diperoleh. \*\* menunjukkan  $p$ -value  $< 0,05$  apabila dibandingkan dengan kontrol yaitu PBS. Kelompok perlakuan air ( $p$ -value = 0,049  $< 0,05$ ), temulawak 100 mg/kg ( $p$ -value = 0,048  $< 0,05$ ), 200 mg/kg ( $p$ -value = 0,02  $< 0,05$ ), dan 400 mg/kg ( $p$ -value = 0,02  $< 0,05$ ).

Gambar 4. Uji aktivitas fagositosis terhadap *Escherichia coli*

Berdasarkan Gambar 4 dapat dilihat bahwa terjadi penurunan jumlah *Escherichia coli* yang dihasilkan seiring dengan peningkatan dosis temulawak yaitu mulai dari pemberian air, temulawak 100 mg/kg, temulawak 200 mg/kg, dan temulawak 400 mg/kg. Apabila data yang diperoleh dari jumlah *Escherichia coli* yang ditambahkan dengan limpa dari kelompok perlakuan air ( $p$ -value = 0,049  $<$

0,05), temulawak 100 mg/kg ( $p\text{-value} = 0,048 < 0,05$ ), 200 mg/kg ( $p\text{-value} = 0,02 < 0,05$ ), dan 400 mg/kg ( $p\text{-value} = 0,02 < 0,05$ ) dibandingkan dengan jumlah *Escherichia coli* yang ditambahkan dengan PBS, hasilnya akan menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p\text{-value} < 0,05$ ). Oleh karena itu, berdasarkan analisa statistik yang diperoleh, dengan *confidence interval* 95 %, limpa dapat menunjang pertumbuhan *Escherichia coli*.

Namun untuk mengetahui pengaruh pemberian temulawak dengan dosis yang berbeda-beda terhadap aktivitas fagositosis, maka perlu dibandingkan antara jumlah *Escherichia coli* yang ditambahkan dengan limpa dari hasil pemberian air dengan jumlah *Escherichia coli* yang ditambahkan dengan limpa dari hasil pemberian temulawak 100 mg/kg, 200 mg/kg, dan 400 mg/kg. Berdasarkan data yang diperoleh, penurunan jumlah *Escherichia coli* yang dihasilkan memang terjadi seiring dengan peningkatan dosis temulawak yaitu mulai dari pemberian air, temulawak 100 mg/kg, temulawak 200 mg/kg, dan temulawak 400 mg/kg. Namun berdasarkan analisa statistik, apabila data yang diperoleh dari jumlah *Escherichia coli* kelompok perlakuan air dibandingkan dengan kelompok perlakuan temulawak 100 mg/kg ( $p\text{-value} = 0,24 > 0,05$ ), 200 mg/kg ( $p\text{-value} = 0,4 > 0,05$ ), dan 400 mg/kg ( $p\text{-value} = 0,3 > 0,05$ ), hasilnya tidak menunjukkan perbedaan yang

signifikan ( $p\text{-value} > 0,05$ ). Oleh karena itu, dengan *confidence interval* 95 %, pemberian temulawak tidak dapat mempengaruhi aktivitas fagositosis makrofag secara signifikan.

### Uji Hemaglutinasi Langsung

Uji hemaglutinasi secara langsung merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui aktivitas sel limfosit B karena melibatkan antibodi yang merupakan hasil sekresi dari limfosit B. Dalam uji hemaglutinasi, akan menunjukkan interaksi antara antibodi yang terdapat di dalam serum darah mencit dengan antigen. Antigen yang terlibat dalam penelitian ini yaitu berasal dari sel darah merah domba (sRBC). Pada perbandingan tertentu, interaksi antara antigen dengan antibodi dapat menghasilkan suatu reaksi aglutinasi. Reaksi ini ditunjukkan dengan terbentuknya kompleks antibodi dengan antigen yang akan menutupi bagian dasar dari *U-bottom plate*. Apabila jumlah antibodi tidak cukup untuk berikatan dengan antigen, maka antigen yang tidak berikatan akan membentuk pelet yang ditunjukkan dengan adanya titik kecil pada bagian tengah dari dasar *U-bottom plate* (McGill University, 2017).

Pengujian hemaglutinasi ini dilakukan untuk melakukan pengukuran antibodi total dan antibodi IgG. Pengukuran antibodi total dilakukan dengan mencampurkan serum darah mencit dengan PBS yang telah dicampurkan dengan 0,05 % dan sRBC

sebagai antigen. Pengukuran jumlah antibodi IgG dilakukan dengan mencampurkan serum dengan 0,2 M 2-merkaptotanol dan sRBC sebagai antigen. Hasil pengukuran titer antibodi total dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4 Hasil pengukuran titer antibodi total

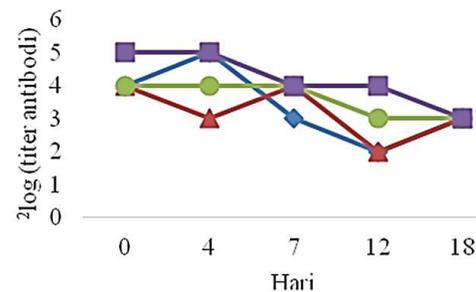
Hari	Titer Antibodi			
	Air	100 mg/kg	200 mg/kg	400 mg/kg
0	1/16	1/16	1/16	1/32
4	1/32	1/8	1/16	1/32
7	1/8	1/16	1/16	1/16
12	1/4	1/4	1/8	1/16
18	1/8	1/8	1/8	1/8

Keterangan: data tersebut diperoleh dari lima hari yang berbeda ketika dilakukan pengambilan darah. Titer antibodi diperoleh berdasarkan reaksi aglutinasi.

Pada Tabel 4 dapat dilihat hasil pengamatan uji hemaglutinasi serum yang berasal dari darah mencit yang telah diberikan perlakuan berbeda-beda. Dari setiap data, menunjukkan adanya hasil positif karena terbentuknya aglutinasi serum darah mencit. Hasil positif ini ditunjukkan dengan sel darah merah yang tidak menumpuk pada suatu daerah saja. Hal ini dapat terjadi karena di dalam serum darah mencit memiliki kandungan antibodi yang akan mengikat sel darah merah sehingga mencegah proses pemampukan sel darah merah (Food and Agriculture Organization, 2017). Berdasarkan hasil pengukuran titer antibodi total, maka dapat diketahui jumlah antibodi yang terdapat pada serum mencit tersebut dari log titer antibodi. Pengaruh

pemberian dosis temulawak terhadap jumlah antibodi dapat dilihat pada Gambar 5.

Berdasarkan Gambar 5 dapat dilihat terjadinya penurunan dan peningkatan jumlah antibodi pada setiap perlakuan dan



Keterangan: ◆: data berdasarkan kelompok perlakuan air, ▲: data berdasarkan kelompok perlakuan temulawak 100 mg/kg, ●: data berdasarkan kelompok perlakuan temulawak 200 mg/kg, ■: data berdasarkan kelompok perlakuan temulawak 400 mg/kg.

Gambar 5 Hasil pengukuran antibodi total

setiap hari pengambilan darah mencit. Pada hari ke-0, terjadi peningkatan jumlah antibodi pada kelompok perlakuan temulawak 400 mg/kg. Pada hari ke-4, terjadi penurunan jumlah antibodi apabila dibandingkan antara kelompok perlakuan air dengan kelompok perlakuan temulawak 100 mg/kg yang diikuti dengan peningkatan jumlah antibodi total seiring dengan peningkatan dosis temulawak. Pada hari ke-7, terjadi peningkatan jumlah antibodi apabila dibandingkan antara kelompok perlakuan air dengan kelompok perlakuan temulawak 100 mg/kg. Pada hari ke-12, terjadi peningkatan jumlah antibodi sesuai dengan penambahan dosis temulawak dimulai dari temulawak 100 mg/kg hingga 400 mg/kg. Namun pada hari ke-18 tidak

terjadi perubahan jumlah antibodi dari kelompok perlakuan air hingga pemberian temulawak 400 mg/kg. Hal ini menunjukkan bahwa efek temulawak pada hari ke-18 sudah mulai hilang.

Untuk mengetahui pengaruh pemberian temulawak dengan dosis yang berbeda-beda terhadap jumlah antibodi, maka perlu dibandingkan antara jumlah antibodi yang dihasilkan pada kelompok perlakuan air dengan jumlah antibodi yang dihasilkan pada kelompok perlakuan temulawak 100 mg/kg, 200 mg/kg, dan 400 mg/kg. Berdasarkan analisa statistik, apabila data yang diperoleh dari jumlah antibodi kelompok perlakuan air dibandingkan dengan kelompok perlakuan temulawak 100 mg/kg ( $p\text{-value} = 0,28 > 0,05$ ), 200 mg/kg ( $p\text{-value} = 0,09 > 0,05$ ), dan 400 mg/kg ( $p\text{-value} = 0,28 > 0,05$ ), hasilnya tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p\text{-value} > 0,05$ ). Oleh karena itu, dengan *confidence interval* 95 %, pemberian temulawak tidak dapat mempengaruhi peningkatan jumlah antibodi secara signifikan.

Selain pengukuran jumlah antibodi total, pengukuran juga dilakukan terhadap antibodi IgG. Imunoglobulin G (IgG) merupakan antibodi utama yang banyak ditemukan di dalam darah dan cairan ekstraseluler yang memungkinkan terjadinya pengendalian infeksi pada jaringan tubuh. Selain itu, IgG juga

merupakan antibodi pertama yang terlibat dalam respon imunitas lanjutan. Di dalam serum terdapat kurang lebih 75 % IgG (Immune Deficiency Foundation, 2017). Ketika ditambahkan dengan antigen (sRBC), maka akan terjadi interaksi antara antibodi dengan antigen. Oleh karena itu, maka dapat dilakukan pengukuran titer antibodi IgG. Hasil pengukuran titer antibodi IgG dapat dilihat pada Tabel 5.

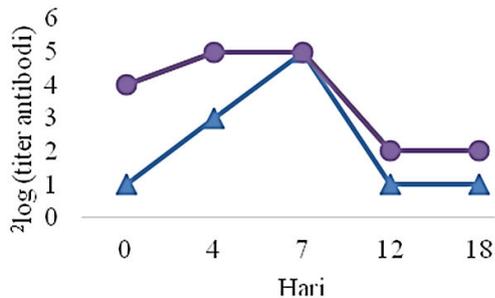
Tabel 5 Hasil pengukuran titer antibodi IgG

Hari	Air	Titer Antibodi		
		100 mg/kg	200 mg/kg	400 mg/kg
0	1/2	1/16	1/16	1/16
4	1/8	1/32	1/32	1/32
7	1/32	1/32	1/32	1/32
12	1/2	1/4	1/4	1/4
18	1/2	1/4	1/4	1/4

Keterangan: data tersebut diperoleh dari lima hari yang berbeda ketika dilakukan pengambilan darah. Titer antibodi diperoleh berdasarkan reaksi aglutinasi.

Berdasarkan Tabel 5 dapat dilihat bahwa hasil pengamatan uji hemaglutinasi serum yang berasal dari darah mencit yang telah diberikan perlakuan yang berbeda-beda yaitu pemberian air, temulawak 100 mg/kg, 200 mg/kg, dan 400 mg/kg terhadap antigen sRBC, menunjukkan hasil yang positif. Hasil positif ini ditandai dengan aglutinasi serum darah mencit. Dari data pada Tabel 5, pada hari ke-0, ke-4, ke-12, dan ke-18, terjadi peningkatan titer antibodi pada kelompok perlakuan temulawak 100 mg/kg. Namun pada hari ke-7, tidak terjadi perubahan jumlah antibodi dari kelompok perlakuan air hingga pemberian temulawak

400 mg/kg. Berdasarkan hasil pengukuran titer antibodi IgG, maka dapat diketahui jumlah IgG yang terdapat pada serum mencit tersebut dari log titer antibodi. Pengaruh pemberian dosis temulawak terhadap jumlah antibodi IgG dapat dilihat pada Gambar 6.



Keterangan: ▲: data berdasarkan kelompok perlakuan air, ●: data berdasarkan kelompok perlakuan temulawak 100 mg/kg, 200 mg/kg, dan 400 mg/kg.

Gambar 6. Hasil pengukuran antibodi IgG

Pada Gambar 6 dapat dilihat bahwa terjadinya penurunan dan peningkatan jumlah antibodi pada setiap perlakuan dan setiap hari pengambilan darah mencit. Selain itu, kelompok perlakuan temulawak 100 mg/kg, 200 mg/kg, dan 400 mg/kg dari hari ke-0 sampai dengan hari ke-18 menghasilkan jumlah antibodi IgG yang sama. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian dosis temulawak 100 mg/kg, 200 mg/kg, dan 400 mg/kg memberikan efek yang sama. Berdasarkan Gambar 6 juga dapat diketahui bahwa terjadi penurunan jumlah antibodi IgG yang dihasilkan dari efek pemberian temulawak pada hari ke-12 dan ke-18. Hal ini menunjukkan bahwa mulai hari ke-12 dan ke-18, efek dari

temulawak sudah mulai hilang. Berdasarkan analisa statistik, apabila data yang diperoleh dari jumlah antibodi kelompok perlakuan air dibandingkan dengan kelompok perlakuan temulawak 100 mg/kg ( $p\text{-value} = 0,38 > 0,05$ ), 200 mg/kg ( $p\text{-value} = 0,38 > 0,05$ ), dan 400 mg/kg ( $p\text{-value} = 0,38 > 0,05$ ), hasilnya juga tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p\text{-value} > 0,05$ ). Oleh karena itu, dengan *confidence interval* 95 %, pemberian temulawak tidak dapat mempengaruhi peningkatan jumlah antibodi IgG secara signifikan.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa temulawak dapat mempengaruhi berat badan mencit dan sistem imun mencit. Secara signifikan, pemberian temulawak 200 mg/kg ( $p\text{-value} = 0,03 < 0,05$ ) dapat mempengaruhi perubahan berat badan mencit. Selain itu, pemberian temulawak dengan dosis 100 mg/kg ( $p\text{-value} = 0,04 < 0,05$ ), 200 mg/kg ( $p\text{-value} = 0,03 < 0,05$ ), dan 400 mg/kg ( $p\text{-value} = 0,048 < 0,05$ ), hasilnya juga menunjukkan penurunan berat limpa secara signifikan. Dari hasil uji aktivitas fagositosis, pemberian temulawak dapat menurunkan aktivitas fagositosis namun tidak memberikan perbedaan yang signifikan. Perbedaan yang tidak signifikan ditunjukkan apabila data yang diperoleh dari kelompok perlakuan air dibandingkan dengan kelompok perlakuan temulawak 100 mg/kg

( $p$ -value = 0,24 > 0,05), 200 mg/kg ( $p$ -value = 0,4 > 0,05), dan 400 mg/kg ( $p$ -value = 0,3 > 0,05). Berdasarkan uji hemaglutinasi, diketahui bahwa pemberian temulawak dapat berperan sebagai proinflamasi namun tidak memberikan hasil yang signifikan terhadap jumlah antibodi dari setiap pemberian dosis temulawak ( $p$ -value = 0,38 > 0,05).

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada departemen Biologi Universitas Pelita Harapan yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan ini dan juga kepada para dosen serta mahasiswa/i jurusan Biologi angkatan 2015 yang telah membantu ini sehingga ini dapat diselesaikan.

#### SARAN

Untuk selanjutnya, agar dapat diketahui pengaruh pemberian dosis temulawak terhadap sistem imun, dianjurkan dilakukan *complete blood count* (CBC) dan *flow cytometry*. Dengan *complete blood count* (CBC) dan *flow cytometry*, maka dapat diketahui perkembangan setiap sel yang terlibat di dalam sistem imun. Untuk mengetahui perhitungan keseluruhan sel darah sehingga dapat diketahui jumlah setiap komponen di dalam darah. Selain itu, untuk mengetahui pengaruh yang lebih signifikan, maka jumlah sampel perlu diperbanyak.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Budiasih. 2008. Kimia Analitik II. Malang : Universitas Negeri Malang. pp. 135-137.
- Cahyono, B., Huda, M. D. K., dan Limantara, L. 2011. Pengaruh proses pengeringan rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) terhadap kandungan dan komposisi kurkuminoid. Reaktor 13 (3) : 165-169.
- Food and Agriculture Organization. 2017. Hemagglutination Test. Downloaded from <http://www.fao.org/docrep/005/ac802e/ac802e0d.html> on 13/4/2017.
- Gallily, R. and Feldman, M. 1967. The role of macrophages in the induction of antibody in x-irradiated animals. Immunology 12 (2) : 197.
- Gautam , S. C., Gao, X., and Dulchavsky, S. 2007. Immunomodulation by curcumin. Adv. Exp. Med. Biol.. 595:321-41.
- Immune Deficiency Foundation. 2017. IgG Subclass Deficiency. Downloaded from <http://primaryimmune.org/about-primary-immunodeficiencies/specific-disease-types/igg-subclass-deficiency/> on 13/4/2017.
- Jiao, Y., Wilkinson, J., Di, X., Wang, W., Hatcher, H., Kock, N. D. and Torti, S. V. 2009. Curcumin, a cancer chemopreventive and chemotherapeutic agent, is a biologically active iron chelator. Blood 113 (2): 462–469.
- Mangunwardoyo, W., Deasywaty and Usia, T. 2012. Antimicrobial and identification of active compound *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. International Journal of Basic dan Applied Sciences 12 (1): 69-78.

- McGill University. 2016. Hemagglutination. Retrieved from McGill University: <https://www.medicine.mcgill.ca/physio/vlab/immun/hemag.htm> on 17/4/2017).
- National Center for Biotechnology Information. 2017. Phosphate-Buffered Saline. Downloaded from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/24978514#section=Information-Sources> on 12/4/2017.
- Pane, E. R., Falahudin, I. dan Sugiati. 2016. Efektifitas larutan temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) terhadap peningkatan jumlah leukosit ayam broiler (*Gallus gallus* Domestica sp.). Jurnal Biota 2 (1) : 68-75.
- Prana, M. S. 2008. The biology of temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*). Bogor: Biopharmaca Research Center Bogor Agricultural University. pp. 151-156.
- Revathy, S., Elumalai, S., Benny, M., and Antony, B. 2011. Isolation, purification and identification of curcuminoids from turmeric (*Curcuma longa* L.) by column chromatography. Journal of Experimental Sciences 2 (7): 21-25.
- Richards, D. M. and Endres, R. G. 2014. The mechanism of phagocytosis: two stages of engulfment. Biophysical Journal 107 (7): 1542-1553.
- Sukandar, E. Y., Nurdewi and Elfahmi. 2012. Antihypercholesterolemic effect of combination of *Guazuma ulmifolia* Lamk. leaves and *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. rhizomes extract in wistar rats. International Journal of Pharmacology 8 (4): 277-282.
- Tiron, A., dan Vasilescu, C. 2008. Role of the spleen in immunity, immunologic consequences of splenectomy. Chirurgia (Bucur) 103 (3) : 255-263.
- Van Elsas, J. D., Semenov, A. V., Costa, R. and Trevors, J. T. 2011. Survival of *Escherichia coli* in the environment: fundamental and public health aspects. The ISME Journal 5 (2) : 173-183.
- Yasni, S., Yoshiie, K., Oda, H., Sugano, M., and Imaizumi, K. 1993. Dietary *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. increased mitogenic responses of splenic lymphocytes in rats, and alters population of the lymphocytes in mice. J Nutr Sci Vitaminol 39 : 345- 354.