

UJI AKTIVITAS IMUNOMODULATOR FERMENTASI TEH ROSELA JAMUR KOMBUCHA TERHADAP PROLIFERASI SEL LIMFOSIT MENCIT GALUR BALB/C SECARA *IN VITRO*

Maria Ulfah¹⁾, Dinar Putri Octaviani¹⁾, Ediati Sasmito²⁾

¹⁾ Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang

²⁾ Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

INTISARI

Baru-baru ini, beberapa penelitian menunjukkan bahwa fermentasi teh rosela jamur kombucha (FTRJK) memiliki efek imunomodulator. Hal ini dimungkinkan karena adanya kandungan flavonoid dan asam organik. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas imunomodulator FTRJK terhadap proliferasi sel limfosit mencit galur Balb/C secara *in vitro* dan mengetahui dosis dan lama waktu fermentasi yang menghasilkan aktivitas imunomodulator tertinggi.

Jamur kombucha difermentasi selama 5, 10 dan 15 hari dengan menggunakan seduhan teh rosela, gula dan air. Konsentrasi FTRJK yang digunakan adalah 6,25; 12,5; 25; 50 dan 100 µg/mL diujikan terhadap proliferasi sel limfosit menggunakan MTT Assay. Hasil pembacaan OD (*Optical Density*) dianalisis secara statistik dengan uji nonparametrik *Friedman* yang dilanjutkan dengan uji *Mann-whitney*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa FTRJK mempunyai aktivitas imunostimulator terhadap proliferasi sel limfosit pada konsentrasi 6,25; 12,5 dan 25 µg/mL fermentasi hari ke-10 dan aktivitas imunostimulator tertinggi ditunjukkan oleh konsentrasi 25 µg/mL dan fermentasi hari ke-10.

Kata kunci: imunomodulator, *optical density*, teh rosela jamur kombucha.

ABSTRACT

Recently, some research showed that there is an immunomodulator effect in the fermentation of Rosella kombucha mushroom tea and it can be caused by flavonoid and organic acid. The purpose of this research was to show the activity of immunomodulator Rosella kombucha mushroom tea to against the proliferation of lymphocyte cells of Balb/C mice *in vitro* and to show the dose and length of fermentation that induces highest immunomodulator activity.

Kombucha mushroom was fermented for 5 days, 10 days and also 15 days with boiled Rosella tea, water and sugar. The yield of fermentation in the concentration of 6,25; 12,5; 25; 50 and 100 µg/mL were tested on lymphocyte cells proliferation by the MTT Assay. The OD (*Optical Density*) data obtained was statistically analyzed by nonparametric Friedman test and continued by Mann-Whitney test.

The result of this research showed that the fermentation of Rosella kombucha mushroom tea has an immunostimulatory activity on lymphocyte cells proliferation with the concentration 6,25; 12,5 and 25 µg/mL in the 10 days and the highest immunostimulatory activity showed by the concentration 25 µg/mL and 10 days of fermentation time.

Key words: immunomodulatory, *optical density*, Rosella kombucha mushroom tea.

PENDAHULUAN

Bakteri patogen yang masuk ke dalam tubuh dapat menembus pertahanan non spesifik. Tubuh mengatasinya dengan

menggunakan mekanisme sistem imun spesifik yang lebih mampu dalam mengenali mikroorganisme patogen. Sistem pertahanan tubuh kedua yang berperan adalah sel

limfosit (Andrian & Sallusto, 2007; Hasdianah dkk., 2014). Pencegahan perlu dilakukan untuk mengantisipasi adanya infeksi dengan menggunakan bahan alam sebagai imunomodulator. Salah satu bahan alam yang diduga sebagai imunomodulator adalah minuman fermentasi teh rosela jamur kombucha (FTRJK).

Puspitowati (2012) menyatakan bahwa fraksi air dari ekstrak etanol kelopak bunga rosela mempunyai aktivitas imunostimulator terhadap proliferasi sel limfosit pada konsentrasi 400 µg/mL, yang kemungkinan disebabkan oleh senyawa fenol dan flavonoid. Menurut Kustyawati & Sulastri (2008) kultur kombucha dapat tumbuh dalam larutan teh rosela dan melakukan aktivitas fermentasi sampai pada hari 15.

Pemberian teh kombucha dapat memberikan efek kenaikan titer antibodi IgM dan IgG pada mencit setelah di imunisasi dengan vaksin hepatitis A (Ulfah, 2005; Astrakusuma, 2005). Bo Qing dkk., (2008) menyatakan bahwa teh hitam jamur kombucha salah satunya dapat meningkatkan aktivitas IL-1 yang dapat meningkatkan aktivitas limfosit T, proliferasi dan diferensiasi dan mempromosikan ekspresi gen dalam berbagai molekul kekebalan tubuh. Ulfah dan Arifin (2013) telah melakukan penelitian tentang aktivitas imunomodulator fermentasi teh hijau jamur kombucha secara *in vitro* menggunakan metode MTT assay. Hasil penelitian menyatakan bahwa fermentasi teh hijau jamur kombucha tersebut mempunyai aktifitas tertinggi sebagai imunostimulator terhadap proliferasi limfosit mencit yaitu dengan dosis 100 µg/mL. Hari terbaik fermentasi dalam meningkatkan proliferasi limfosit yaitu pada hari ke- 5 sampai hari ke-10.

Sejauh ini belum pernah dilakukan penelitian mengenai uji aktivitas imunomodulator fermentasi teh rosela jamur kombucha terhadap proliferasi sel limfosit secara *in vitro*, sehingga perlu dilakukan penelitian ini dengan harapan dapat menambah bukti secara ilmiah dan dapat digunakan sebagai imunomodulator untuk terapi pendamping pada penyakit infeksi yang dapat menurunkan respon imun serta manfaat sebagai produk yang dapat meningkatkan sistem imun.

METODE PENELITIAN

1. Bahan dan Alat

Bahan uji yang digunakan adalah bibit jamur kombucha yang diperoleh dari pembibitan jamur kombucha di Lalung, Karanganyar, Jawa Tengah. Bahan untuk fermentasi: gula pasir merek "X", kelopak bunga rosela kering merek "X" dan aquades. Bahan untuk isolasi sel limfosit: organ limpa dari mencit jantan galur Balb/C berumur 8 minggu (LPPT, UGM), etanol 70% (Merck), Medium *Rosewell Park Memorial Institute* (RPMI) 1640 (Gibco), RPMI 1640 media komplet berisi FBS (*Fetal Bovine Serum*) 10% (v/v) (Caisson) dan PBS (*Phosfat Buffer Saline*) (Gibco). Bahan untuk uji proliferasi sel limfosit: vaksin hepatitis B (Engerix), PHA (phytohemagglutinin, Gibco), MTT (*3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide*, Sigma), stopper 10% SDS (*sodium dodecyl sulphate*, Merck), HCl (Merck) 0.01 N, penicillin-streptomisin (Gibco) dan fungizon/amphoterasin B (Gibco).

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian adalah Alat untuk pembuatan serbuk: blender (Maspion), timbangan elektrik (Ohaus). Alat pembuatan fermentasi teh rosela jamur kombucha: toples gelas, kompor listrik dan termometer. Alat untuk isolasi sel limfosit: alat-alat bedah steril (Smicss), tabung mikropipet (Gibco), *ependorf tube* (Extragen), sentrifugasi (Sorvall), pipet pastur (Brand), petri dish steril 50 mm (Costar), spuit injeksi 10 mL (Terumo), tabung sentrifugasi 15 mL (Nunc), *vortex* (Bio-Rad) dan *laminar air flow* (Nuair). Alat untuk menghitung jumlah sel: *hemocytometer* (Neubauer), *inverted microscope* (Olympus). Alat untuk uji proliferasi limfosit: inkubator CO₂ 5% (Heraeus), mikroplate 96 (Costar), *microplate reader* (Bio-Rad), mikropipet (Gibson) *ependorf tube* (Extragen), *vortex* (Brandstead), *laminar air flow* (Nuair), *yellow tip* (Brand), *blue tip* (Brand), timbangan elektrik (Mettler Toledo) dan *ELISA reader* (Bio-Rad).

2. Jalannya penelitian

Pembuatan Fermentasi Teh Rosela Jamur Kombucha

Sebanyak 8 gram serbuk kelopak bunga rosela kering dan 100 gram gula pasir dimasukkan ke dalam 1000 ml air mendidih dan diaduk hingga bercampur sempurna. Teh dibiarkan mengembang selama 15 menit hingga suhu turun menjadi 45-50°C. Air seduhan disaring sehingga diperoleh 1000 mL dan dimasukkan ke dalam toples gelas dengan permukaan yang luas dan suhu ditunggu sampai suhu 27°C. Satu lapis jamur kombucha dimasukan dalam toples dan ditutup dengan kain kasa bersih kemudian diikat dengan karet gelang. Air seduhan yang sudah bercampur dengan jamur kombucha disimpan dalam suhu ruang selama 5 hari, 10 hari dan 15 hari (sesuai dengan perlakuan). Setelah hari yang ditentukan filtrat yang diperoleh digunakan untuk penelitian.

Uji Aktivitas Imunomodulator

a. Pembuatan Larutan Uji dan Kontrol Positif

Larutan uji dibuat dari filtrat hasil FTRJK selama 5 hari, 10 hari dan 15 hari. dengan beberapa seri konsentrasi yaitu 6,25; 12,5; 25; 50 dan 100 µg/mL. *Phytohemagglutinin* (PHA) sebagai kontrol positif dibuat dari stok induk 1 mg/mL yang dilarutkan dalam larutan buffer fosfat, kemudian dibuat pengenceran sehingga konsentrasi 10 µg/mL.

b. Isolasi Sel Limfosit

Isolasi sel limfosit diperoleh dari organ limpa mencit galur Balb/C yang dilakukan secara aseptis. Mencit dikorbankan dengan eter, dibaringkan terlentang, seluruh permukaan perut dan papan bedah dibasahi dengan menggunakan etanol 70%. Kulit mencit bagian abdomen dibuat irisan kecil dengan menggunakan gunting, dirobek ke arah dada dan paha dibantu dengan menggunakan pinset. Organ limpa diangkat dari selubung peritoneumnya dan

diletakkan dalam *petri dish* berdiameter 50 mm yang berisi 10 mL medium RPMI. Media RPMI dipompakan ke dalam limpa sehingga limfosit ikut keluar bersama media. Suspensi sel dimasukkan dalam tabung sentrifugasi 10 mL dan disentrifus pada 1200 rpm 4°C selama 5 menit. Pellet yang didapat disuspensikan dalam 5 mL buffer tris ammonium klorida untuk melisis eritrosit. Sel dicampur hingga homogen dan didiamkan pada suhu ruang selama 15 menit atau sampai warnanya berubah menjadi agak kekuningan. Sel di tambahkan RPMI ad 10 mL, disentrifugasi pada 1200 rpm 4°C selama 5 menit, supernatan dibuang. Pelet yang didapat dicuci 2 kali dengan RPMI. Sel dihitung dengan hemositometer. Selanjutnya sel limfosit siap untuk dikultur dalam incubator CO₂ 5% pada suhu 37°C dan diuji aktivitasnya (Hay dan Westwood, 2002).

c. Uji Proliferasi Sel Limfosit dengan Metode MTT Assay

Sebanyak 100 µL sel limfosit (kepadatan 1.5×10^6 /mL) masing-masing didistribusikan ke dalam sumuran mikropelat 96-wells dan ditambahkan vaksin hepatitis B sebanyak 10 µL/sumuran dan diinkubasi selama 24 jam dalam incubator dengan aliran 5% CO₂ pada suhu 37°C. Selanjutnya ditambahkan 100 µL teh rosela jamur kombucha pada masing-masing kelompok konsentrasi (6,25; 12,5; 25; 50 dan 100 µg/mL) untuk perlakuan fermentasi hari ke-5, hari ke-10 dan hari ke-15. Masing-masing konsentrasi direplikasi sebanyak 4 kali. Kontrol positif yang digunakan yaitu PHA (10 µg/mL). Kelompok kontrol dan perlakuan diinkubasi lagi selama 48 jam dan ditambahkan larutan 10 µL MTT 5 mg/mL. Selanjutnya diinkubasi lagi 4 jam pada suhu 37°C. Sel

yang hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk warna ungu. Reaksi dengan MTT dihentikan dengan menambah *reagen stopper* yaitu larutan SDS 10% dalam asam klorida 0,01N sebanyak 100 μ L pada tiap sumuran dan didiamkan sampai 24 jam. Selanjutnya diukur absorbansinya dengan ELISA *reader* pada λ 550 nm (Mosmann, 1983).

3. Analisis Data

Nilai *Optical Density* (OD) hasil pembacaan menggunakan ELISA *reader* dianalisis dengan menggunakan perhitungan statistik nonparametrik *Friedman* yang dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* pada program SPSS 16 for windows.

HASIL DAN PEMBAHASAN

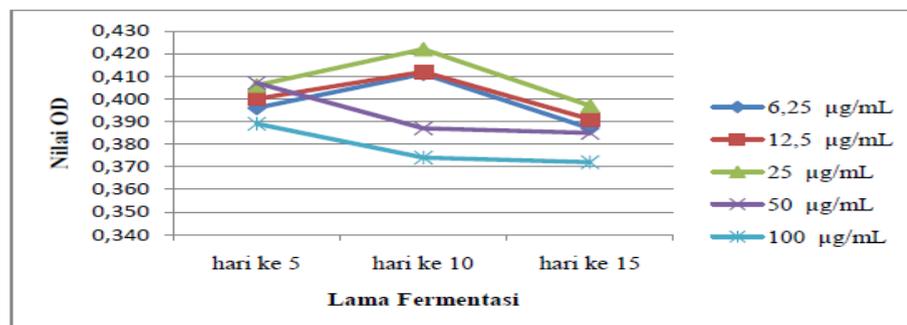
A. Pembuatan Fermentasi Teh Rosela Jamur Kombucha (FTRJK)

Larutan hasil FTRJK secara makroskopis berwarna merah serta berbau asam dan diperoleh 1 L untuk setiap perlakuan. Gula digunakan sebagai sumber karbon bagi kombucha. Penambahan gula sebanyak 100 gram dikarenakan bahwa pemberian gula 10% pada teh rosela jamur kombucha merupakan kadar gula optimum bagi pertumbuhannya (Nainggolan, 2009). Lama proses fermentasi yang digunakan dalam penelitian ini dilakukan selama 5, 10 dan 15 hari. Menurut Kustyawati & Sulastri (2008)

kultur kombucha dapat tumbuh dalam larutan teh rosela dan melakukan aktivitas fermentasi sampai pada hari 15. Tujuan fermentasi dilakukan pada hari ke-5, 10 dan 15 untuk membandingkan aktivitas imunomodulator dari 3 filtrat dengan waktu fermentasi berbeda dalam meningkatkan aktivitas proliferasi sel limfosit mencit Balb/C.

B. Uji Aktivitas Imunomodulator FTRJK

Pengujian aktivitas imunomodulator sampel uji terhadap proliferasi sel limfosit dilakukan dengan menggunakan metode MTT Assay. Prinsip uji MTT yaitu berdasarkan pada perubahan garam tetrazolium [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromide] (MTT) yang berwarna kuning menjadi formazan dalam mitokondria yang aktif pada sel hidup yang berwarna ungu. MTT dipecah melalui reaksi reduksi menjadi garam formazan oleh enzim suksinat dehidrogenase yang terdapat di dalam mitokondria sel hidup. Garam formazan yang terbentuk di kuantifikasi dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 550 nm. Jumlah kristal formazan yang terbentuk berbanding lurus dengan jumlah sel yang hidup. Semakin tinggi absorbansi yang dihasilkan maka semakin tinggi pula jumlah sel hidup yang terdapat di dalam kultur tersebut (Mosmann, 1983). Nilai OD hasil dari ELISA *reader* pada panjang gelombang 550 nm terhadap proliferasi sel limfosit mencit galur Balb/C berdasarkan lama waktu fermentasi dapat dilihat pada Gambar 1.

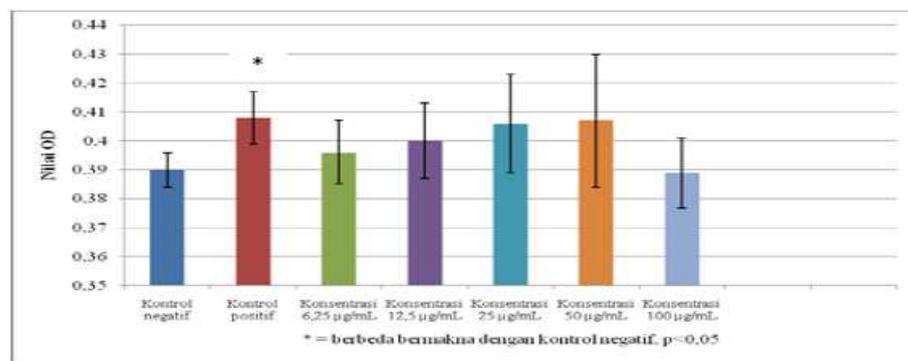


Gambar 1. Nilai OD Hasil dari ELISA *reader* pada Panjang Gelombang 550 nm terhadap Proliferasi Sel Limfosit Mencit Galur Balb/C Berdasarkan Lama Waktu Fermentasi

Berdasarkan data pada Gambar 1, kelompok FTRJK pada konsentrasi 6,25; 12,5 dan 25 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan nilai OD yang meningkat pada hari fermentasi ke-5 sampai hari ke-10, kemudian nilai OD menurun pada hari ke-15. Kelompok uji konsentrasi 50 dan 100 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan penurunan nilai OD pada hari fermentasi ke-10 sampai hari ke-15. Konsentrasi 25 $\mu\text{g/mL}$ memiliki aktivitas proliferasi yang paling tinggi diikuti oleh konsentrasi 12,5 $\mu\text{g/mL}$. Jumlah rata-rata sel limfosit terendah terdapat pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan lama waktu fermentasi terbaik adalah hari ke-10.

Hasil OD yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan *software* SPSS

16. Data uji melibatkan dua faktor yaitu variabel konsentrasi dan variabel lama waktu fermentasi. Berdasarkan uji normalitas dan homogenitas kelompok perlakuan dan lama fermentasi menunjukkan data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen. Selanjutnya data diuji non parametrik. Pertama kali uji menggunakan *Friedman* untuk mengetahui perbedaan antara seluruh kelompok perlakuan atau lama fermentasi dan dilanjutkan dengan uji *Mann-whitney*. Hasil perhitungan uji *Mann Whitney* nilai OD FTRJK hari ke-5 disajikan dalam grafik mean \pm SD nilai OD sel limfosit mencit fermentasi hari ke-5 pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik Mean \pm SD Nilai OD Sel Limfosit Mencit Fermentasi Hari Ke-5.

Hasil analisa menunjukkan bahwa FTRJK hari ke-5 pada seluruh kelompok perlakuan tidak berbeda bermakna secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (limfosit dengan vaksin). Hal ini menunjukkan bahwa pada hari ke-5 konsentrasi 6,25 sampai 100 $\mu\text{g/mL}$ tidak memiliki aktivitas proliferasi sel limfosit. Fermentasi hari ke-5 tidak memiliki aktivitas proliferasi sel limfosit dimungkinkan pada saat awal fermentasi, kandungan asam asetat cenderung sedikit. Bakteri penghasil asam asetat belum terlalu banyak berperan.

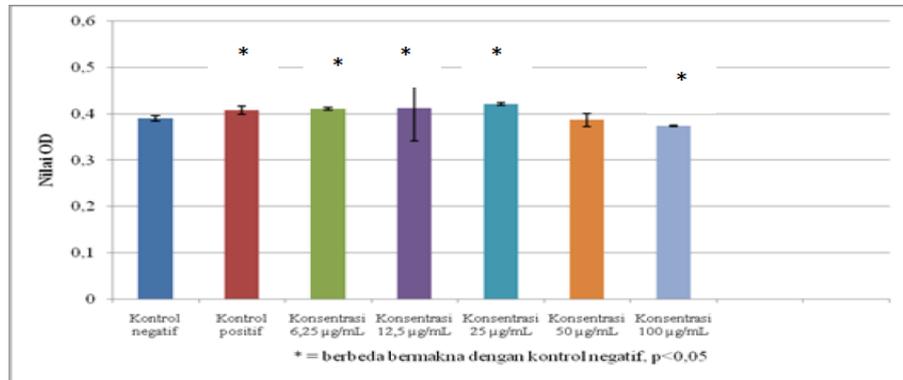
Hasil perhitungan uji *Mann Whitney* nilai OD FTRJK hari ke-10 disajikan dalam grafik mean \pm SD nilai OD sel limfosit mencit fermentasi hari ke-10 pada Gambar 3.

Hasil analisa menunjukkan ada perbedaan bermakna pada kelompok perlakuan FTRJK hari ke-10 pada konsentrasi 6,25; 12,5; 25 dan 100 $\mu\text{g/mL}$

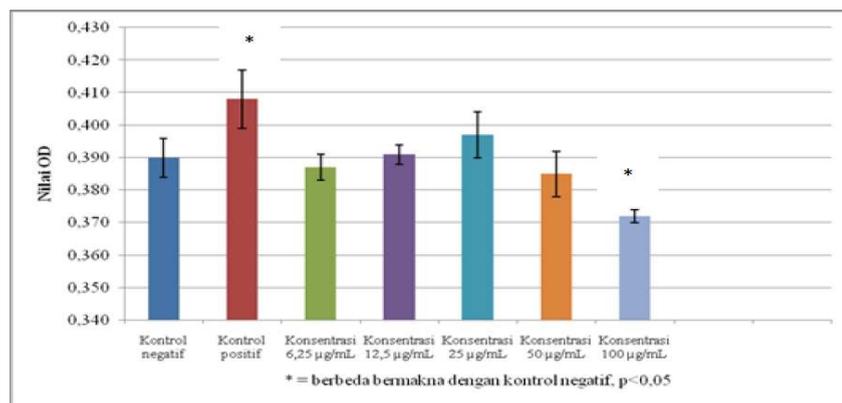
terhadap kelompok kontrol negatif (sel limfosit dengan vaksin). Suatu senyawa dikatakan sebagai imunostimulator jika suatu senyawa tersebut dapat meningkatkan respon imun berupa peningkatan aktivitas proliferasi sel limfosit akibat pemberian vaksin. Hal ini dapat ditunjukkan pada konsentrasi 6,25; 12,5 dan 25 $\mu\text{g/mL}$. Perbedaan bermakna pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ terhadap kontrol negatif menunjukkan bahwa konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ memiliki nilai OD yang lebih rendah daripada kontrol negatif. Fermentasi hari ke-10 menunjukkan aktivitas imunostimulator karena kandungan asam asetat cenderung meningkat, yang dimungkinkan bakteri penghasil asam asetat memainkan peranannya selama fermentasi berlangsung. Menurut Nainggolan (2009) proses pertumbuhan optimal teh rosela jamur kombucha yaitu pada hari ke-10.

Hasil perhitungan uji *Mann Whitney* nilai OD FTRJK hari ke-15 disajikan dalam grafik mean \pm SD nilai OD

sel limfosit menciit fermentasi hari ke-15 pada Gambar 4.



Gambar 3. Grafik Mean \pm SD Nilai OD Sel Limfosit Menciit Fermentasi Hari Ke-10



Gambar 4. Grafik Mean \pm SD Nilai OD Sel Limfosit Menciit Fermentasi Hari Ke-15

Hasil analisa menunjukkan FTRJK hari ke-15 pada konsentrasi 6,25; 12,5; 25 dan 50 $\mu\text{g/mL}$ tidak berbeda bermakna secara signifikan terhadap kelompok kontrol negatif. Namun ada perbedaan bermakna pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ terhadap kontrol negatif. Perbedaan tersebut dikarenakan nilai OD pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ lebih rendah dari kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa FTRJK pada hari ke-15 tidak memiliki aktivitas proliferasi sel limfosit pada konsentrasi 6,25 sampai 100 $\mu\text{g/mL}$. Fermentasi hari ke-15 tidak menunjukkan aktivitas proliferasi sel limfosit dimungkinkan gula yang terkandung dalam fermentasi sudah banyak diubah menjadi berbagai asam dan teroksidasi sehingga sel-sel pada jamur aktivitasnya menjadi menurun. Semakin lama proses fermentasi berlangsung maka

pH pada larutan teh akan semakin menurun, total asam yang dihasilkan semakin tinggi (Silaban, 2005).

Hasil analisa pada kelompok kontrol positif menunjukkan perbedaan pada kontrol negatif. Hal ini dapat dikatakan bahwa PHA yang digunakan sebagai kontrol positif dalam penelitian ini merupakan mitogen yang poten dalam proliferasi sel limfosit sesuai dengan penelitian yang dilakukan Schoercksnadel dkk., (2011). Hasil uji dari semua kelompok perlakuan terlihat bahwa nilai OD antara kelompok kontrol positif dengan konsentrasi 25 $\mu\text{g/mL}$ FTRJK hari ke-10 menunjukkan hasil perbedaan bermakna, artinya pada konsentrasi tersebut mampu memberikan efek imunostimulator dengan potensi lebih besar daripada kontrol positif yang digunakan. Namun kelompok kontrol

positif menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna terhadap FTRJK hari ke-10 pada konsentrasi 6,25 dan 12,5 µg/mL. Hal ini dapat dikatakan bahwa efek imunostimulator yang ditunjukkan oleh FTRJK pada konsentrasi tersebut mampu memberikan efek imunostimulator dengan kemampuan setara dengan kontrol positif.

Hasil uji FTRJK hari ke-10 pada konsentrasi 25 µg/mL memberikan perbedaan bermakna apabila dibandingkan dengan konsentrasi yang lainnya (6,25; 12,5; 50 dan 100 µg/mL). Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 25 µg/mL mampu memberikan efek imunostimulator dengan potensi yang lebih besar daripada seri konsentrasi yang lainnya. Dalam penelitian ini sudah didapatkan konsentrasi optimal dari FTRJK yang memberikan aktivitas proliferasi sel limfosit yaitu pada lama fermentasi hari ke-10 konsentrasi 25 µg/mL. Konsentrasi optimal pemberian imunostimulator ditentukan dengan melihat konsentrasi dimana sampel uji memberikan aktivitas tertinggi yaitu pada konsentrasi 25 µg/mL, yang kemudian pada pemberian konsentrasi yang lebih tinggi yaitu konsentrasi 50 dan 100 µg/mL terjadi penurunan aktivitas imunostimulator terhadap proliferasi sel limfosit.

Hasil pengujian secara *in vitro* pada penelitian ini menunjukkan bahwa jenis teh yang digunakan sebagai media fermentasi dapat mempengaruhi hasil aktivitas proliferasi sel limfosit pada konsentrasi dosis dan lama fermentasi. Mekanisme terjadinya proliferasi sel limfosit secara umum, yaitu ketika terjadi pengikatan antigen pada reseptor permukaan sel T bersama interleukin 1 (IL-1) dari APC (*Antigen Presenting Cell*) dapat mengaktifasi protein G yang kemudian mengaktifasi enzim fosfolipase C. Fosfolipase C memecah fosfatidil inositol bifosfat (PIP₂) menjadi diasilgliserol (DAG) dan trifosfat inositol (IP₃) pada membrane plasma. IP₃ berdifusi dari membran ke sitosol dan berikatan dengan protein reseptor pada permukaan sitoplasmik *calcium-sequestering compartment*. Pengikatan ini menyebabkan peningkatan konsentrasi ion Ca²⁺ sitosol. Diasilgliserol dan peningkatan konsentrasi Ca²⁺ mengaktifasi enzim protein kinase C.

Protein kinase C yang teraktivasi memfosforilasi atau memindahkan gugus fosfat ke residu serin atau treonin spesifik pada protein membran sehingga mengaktifasi pertukaran Na⁺, H⁺ yang berakibat pada peningkatan pH. Peningkatan pH ini memberikan tanda pada sel untuk melakukan aktivitas proliferasi. Aktivasi protein kinase C akan menstimulasi produksi interleukin-2 (IL-2) yang mengaktifasi sel B atau sel T untuk berproliferasi (Roitt & Delves, 1997).

KESIMPULAN

1. Fermentasi teh rosela jamur kombucha mempunyai aktivitas imunostimulator terhadap proliferasi sel limfosit mencit galur Balb/C secara *in vitro* pada konsentrasi 6,25; 12,5 dan 25 µg/mL fermentasi hari ke-10.
2. Fermentasi teh rosela jamur kombucha mempunyai aktivitas imunostimulator pada fermentasi hari ke-10.
3. Fermentasi teh rosela jamur kombucha mempunyai aktivitas imunostimulator tertinggi pada konsentrasi 25 µg/mL fermentasi hari ke-10.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrian, U.H., & Sallusto, F., 2007, Lymphocyte activation, Editorial overview, *Current Opinion in Immunology*, **19**, 247–248.
- Astrakusuma, A.R., 2005, Pengaruh Pemberian Teh Jamur Kombucha Terhadap Titer Antibodi Imunoglobulin G (IgG) pada Mencit Setelah Divaksinasi Hepatitis A, *Skripsi*, Universitas Wahid Hasyim, Semarang.
- Bo Qing, Meng Wei, Wang Zhiqiang, Yu Min, & SUN Xu-hong, 2008, Kombucha regulate immune function in small experimental study in mice Kombucha regulate immune function of the experimental study, <http://www.aqnovel.com/thread-66482-1-1.html>, diakses tanggal 26 April 2014.
- Hasdianah, H.R, Dewi, P., Peristiowati, Y., & Imam, S., 2014, *Imunologi Diagnosis dan Teknik Biologi Molekuler*, Nuha Medika, Yogyakarta, 2

- Hay, F.C., & Westwood, O.M.R., 2002, *Practical immunology*, Fourth Edition, Blackwell Publishing Company, United Kingdom, 185, 309.
- Kustyawati M.E., & Sulastri R., 2007. *Pemanfaatan Hasil Tanaman Hias Rosela Sebagai Bahan Minuman*. Bandar Lampung: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Lampung. <http://www.scribd.com/doc/19134599/Rose-La>, diakses tanggal 02 Maret
- Mosmann, T., 1983, Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival; Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays, *Journal of Immunological Methods*, **65**, 55-63.
- Nainggolan, J., 2009, Kajian Pertumbuhan Bakteri *Acetobacter sp.* Dalam Kombucha-Rosela Merah (*Hibiscus sabdariffa*) Pada Kadar Gula dan Lama Fermentasi yang Berbeda, *Tesis*, Program Studi Biologi Pascasarja, Universitas Sumatra Utara, Medan.
- Puspitowati, O.H., 2012, Uji Aktivitas Immunostimulator Fraksi Air dari Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa L.*) Terhadap Proliferasi Sel Limfosit Mencit Galur Swiss Secara In Vitro Beserta Identifikasi Kandungan Kimianya, *Skripsi*, Universitas Wahid Hasyim, Semarang.
- Roitt, I.M., & Delves, P. J., 1997, *Essential Immunology*, 10th edition, Blackwell Science Ltd, London, 168-169.
- Schoercksnadel, S., Sucher, R., Kurz, K., Fucks, D., & Brandacher, G., 2011, Influence of Immunosuppressive Agents on Tryptophan Degradation and Neopterin Production in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells, *Transplant Immunology*, **25**, 119-123.
- Silaban, M., 2005, Pengaruh Jenis Teh dan Lama Fermentasi pada Proses Pembuatan Teh Kombucha, *Skripsi*, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Ulfah, M., 2005, Pengaruh Pemberian Teh Jamur Kombucha Terhadap Titer Antibodi Immunoglobulin M (IgM) pada Mencit Setelah Divaksinasi Hepatitis A, *Skripsi*, Universitas Wahid Hasyim, Semarang.
- Ulfah, M., & Arifin, I., 2013, Teh Jamur Kombucha Sebagai Immunomodulator Terhadap Proliferasi Sel Limfosit Mencit Galur Balb/C Secara In Vitro, *Laporan Penelitian Hibah*, DIKTI, Jakarta.