

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

Rahma Laila Qodriyan Sofiakmi^{1*}, Maria Ulfah¹, Ediati Sasmito²

¹Jurusan S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim

²Jurusan S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada

*Email: rahmalalaqs@gmail.com

ABSTRAK

Teh kombucha diperoleh dari hasil fermentasi larutan teh, gula dan koloni kombucha. Fermentasi teh hitam jamur kombucha (FTHJK) secara empiris, terbukti dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas imunomodulator hasil FTHJK terhadap proliferasi sel limfosit mencit galur Balb/C secara in vitro.

Kombucha difermentasi selama 5, 10, dan 15 hari dengan menggunakan seduhan teh hitam yang telah diberi gula. Hasil fermentasi teh hitam jamur kombucha (FTHJK) dibuat beberapa seri konsentrasi yakni 6,25; 12,5; 25; 50 dan 100 µg/ml dan sebagai kontrol positif Phytohemagglutinin (PHA) 10 µg/ml diuji secara in vitro terhadap proliferasi sel limfosit mencit galur Balb/C jantan usia 2 bulan dengan menggunakan metode MTT Assay. Data absorbansi berupa nilai Optical Density (OD) dianalisis secara statistik dengan Friedman Test dilanjutkan Mann Whitney Test.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa FTHJK memiliki aktivitas imunostimulator terhadap proliferasi sel limfosit pada konsentrasi 50 dan 100 µg/mL fermentasi hari ke-5, dan konsentrasi 100 µg/mL fermentasi hari ke-10 dan 15. Aktivitas imunostimulator tertinggi terjadi pada konsentrasi 100 µg/mL dengan lama fermentasi hari ke-15.

kata kunci: *Teh hitam jamur kombucha, imunomodulator, MTT Assay, Optical Density (OD).*

1. PENDAHULUAN

Sel limfosit yang berperan dalam memberikan respon imun spesifik akan secara khas mengenali patogen yang pertama kali dihadapi dan jika terjadi paparan berulang oleh patogen yang sama maka akan terjadi peningkatan respon imun spesifik. Sel limfosit yang berinteraksi dengan patogen akan berproliferasi dan mengaktifkan sel-sel efektor untuk menghancurkan patogen yang masuk dalam tubuh. Fungsi dari sel limfosit dalam melawan mikroorganisme patogen dapat ditingkatkan dengan pemberian agen imunomodulator. Agen imunomodulator dapat berupa imunomodulator biologik seperti bahan asal tanaman, jamur, dan bakteri (Baratawidjaya & Rengganis, 2012).

Teh kombucha merupakan hasil fermentasi larutan teh, gula oleh kultur kombucha. Penelitian tentang aktivitas imunomodulator teh kombucha telah dilakukan oleh Ulfah (2005) menggunakan metode ELISA tidak langsung. Hasil penelitiannya menyebutkan bahwa teh kombucha mampu meningkatkan sistem imun. Hal ini dilihat dengan dihasilkannya titer antibodi imunoglobulin M (IgM) dan meningkatnya berat organ limpa. Berat organ limpa menggambarkan kemungkinan terjadinya proliferasi sel limfosit di dalam organ limpa. Ulfah dan Arifin (2013), juga melakukan penelitian tentang aktivitas imunomodulator teh hijau jamur kombucha dengan menggunakan metode MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) Assay. Hasil penelitiannya menyebutkan bahwa teh hijau jamur kombucha mempunyai aktivitas

imunomodulator tertinggi terhadap proliferasi sel limfosit mencit pada konsentrasi 100 µg/mL fermentasi hari ke-10.

Seduhan teh hitam dapat meningkatkan proliferasi sel limfosit mencit Balb/C yang diinokulasi *Salmonella typhimarium* (Arnas, 2009). Kandungan flavonoid seperti *quercetin* dan *epigallocatechin 3-gallate* (EGCG) dalam teh hitam dapat meningkatkan sistem pertahanan tubuh melalui mekanisme peningkatan Interleukin-6 (IL-6) dan IL-10 yang berpengaruh terhadap aktivasi sel limfosit T dan B (Neiman *et al.*, 2009).

Menurut Jayabalan *et al.* (2007), jamur kombucha dapat difermentasi dalam seduhan teh hitam selama 18 hari. Proses fermentasi tidak menghilangkan senyawa kimia yang ada di dalam teh yaitu polifenol dan flavonoid (Suprijono *et al.*, 2012). Hasil fermentasi lainnya berupa asam glukoronat, asam laktat, asam asetat dan asam askorbat (Jayabalan *et al.*, 2007). Senyawa asam tersebut dapat memperkuat sistem kekebalan tubuh (Dufrense & Franworth, 2000).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas imunomodulator fermentasi teh hitam jamur kombucha (FTHJK) terhadap proliferasi sel limfosit mencit galur Balb/C secara *in vitro* untuk memberikan tambahan bukti ilmiah mengenai manfaat FTHJK terhadap sistem imun.

2. METODE PENELITIAN

2.a. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah bibit jamur kombucha diperoleh dari pembibitan jamur kombucha Karanganyar, Jawa Tengah. Bahan untuk fermentasi adalah gula pasir, serbuk kering teh hitam (merk X) dan aquadest. Bahan untuk uji aktivitas imunomodulator antara lain: organ limpa dari mencit jantan galur Balb/C berumur 2 bulan, etanol 70% (Merck), Medium *Rosewell Park Memorial Institute* (RPMI) 1640 (Gibco), RPMI 1640 media komplet berisi FBS (*Fetal Bovine Serum*) 10% (v/v) (Caisson), PBS (*Phosfat Buffer Saline*) (Gibco). Vaksin hepatitis B (Engerix[®]), PHA (*Phytohemagglutinin*, Gibco), MTT (*3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide*, Sigma), stopper 10% SDS (*sodium dodecyl sulphate*, Merck), HCl (Merck) 0.01 N, penicillin-streptomycin (Gibco), fungizon/amphoterasin B (Gibco).

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian adalah seperangkat alat-alat gelas (Pyrex), stoples kaca, kompor listrik, thermometer, dan timbangan elektrik (Ohaus). Alat-alat bedah steril (Smicss), tabung mikropipet (Gibco), *eppendorf tube* (Extragen), sentrifugator (Sorvall), pipet pastur (Brand), petri dish steril 50 mm (Costar), spuit injeksi 10 mL (Terumo), tabung sentrifugasi 15 mL (Nunc), *vortex* (Bio-Rad), *laminar air flow* (Nuair), *Hemocytometer* (Neubauer), *inverted microscope* (Olympus), inkubator CO₂ 5% (Heraeus[®]), mikrolate 96 (Costar), ELISA reader (Bio-Rad), mikropipet (Gibson), *eppendorf tube* (Extragen), *vortex* (Brandstead), *laminar air flow* (Nuair), *white tip*, *yellow tip* dan *blue tip* (Brand) dan timbangan elektrik (Mettler Toledo).

2.b. Jalannya penelitian

1. Fermentasi Teh Hitam Jamur Kombucha

Sebanyak 8 gram teh hitam dimasukkan ke dalam 1 L air mendidih (100°C) dan teh dibiarkan mengembang selama 15 menit. Setelah suhu air turun menjadi 45-50°C, kemudian air seduhan teh disaring. Gula pasir sebanyak 100 gram ditambahkan dalam seduhan teh tersebut, dan diaduk hingga larut sempurna. Seduhan teh tersebut dimasukkan dalam stoples kaca dan suhu ditunggu hingga sesuai dengan suhu ruang. Jamur kombucha ditambahkan dalam stoples yang telah berisi seduhan teh. Stoples ditutup dengan kain kasa bersih kemudian diikat dengan

karet gelang. Pembuatan teh hitam jamur kombucha dilakukan 3 kali dengan menggunakan stopless yang berbeda, ditandai sesuai lama waktu fermentasi 5, 10 dan 15 hari. Air seduhan teh yang sudah bercampur dengan jamur kombucha disimpan dalam suhu ruang sesuai dengan lama fermentasi yang sudah ditentukan. Setelah fermentasi, jamur kombucha dipisahkan dari seduhan teh tersebut, kemudian disaring. Filtrat tersebut diuji aktivitas imunomodulator terhadap proliferasi sel limfosit mencit.

2.c. Uji Aktivitas Imunostimulator

a. Pembuatan Larutan Uji dan Kontrol Positif PHA

Larutan uji berupa filtrat yang diperoleh dari hasil fermentasi teh hitam jamur kombucha selama 5, 10, dan 15 hari yang telah disaring. Masing-masing filtrat dibuat menjadi lima seri konsentrasi yaitu 6,25; 12,5; 25; 50 dan 100 μ g/mL, yang selanjutnya akan dilakukan uji aktivitas imunomodulator terhadap proliferasi sel limfosit. *Phytohemagglutinin* (PHA) sebagai kontrol positif dibuat dari stok induk 1 mg/mL yang dilarutkan dalam larutan buffer fosfat, kemudian dibuat pengenceran sehingga konsentrasi 10 μ g/mL.

b. Isolasi Sel Limfosit

Isolasi sel limfosit diperoleh dari organ limpa mencit galur Balb/C. Tahap pertama, mencit dikorbankan dengan menggunakan eter, kemudian mencit dibedah dan diambil jaringan limpanya. Jaringan limpa tersebut disolasi secara aseptis dan diletakkan dalam petri *dish* berdiameter 50 mm yang berisi 10 mL medium RPMI. Jaringan limpa dilisiskan dengan cara media RPMI dipompakan ke dalam limpa sehingga limfosit ikut keluar bersama media. Suspensi sel dimasukkan dalam tabung sentrifugasi 10 mL dan disentrifus pada 3000 rpm 4°C selama 5 menit. Pellet yang didapat disuspensikan dalam 5 mL buffer tris ammonium klorida untuk melisiskan eritrosit. Sel dicampur hingga homogen dan didiamkan pada suhu ruang selama 15 menit atau sampai warnanya berubah menjadi agak kekuningan. Kemudian ditambahkan RPMI ad 10 mL, disentrifugasi pada 3000 rpm 4°C selama 5 menit dan supernatan dibuang. Pelet yang didapat dicuci 2 kali dengan RPMI. Sel dihitung dengan *hemocytometer*. Selanjutnya sel limfosit siap untuk dikultur dalam inkubator CO₂ 5% pada suhu 37°C dan siap untuk diuji aktivitasnya (Hay & Westwood, 2002).

c. Uji Proliferasi Sel Limfosit dengan Metode MTT Assay

Sel limfosit ($1,5 \times 10^6$ sel/mL) sebanyak 100 μ L didistribusikan ke dalam sumuran *microplate* 96-wells dan ditambahkan vaksin hepatitis B sebanyak 10 μ L tiap sumuran, kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator dengan aliran 5% CO₂ pada suhu 37°C, setelah inkubasi 24 jam ditambahkan 100 μ L filtrat teh hitam jamur kombucha yang telah diinkubasi selama 5, 10 dan 15 hari dengan konsentrasi 6,25; 12,5; 25; 50 dan 100 μ g/mL dan PHA sebagai kontrol positif dengan konsentrasi 10 μ g/mL ditambahkan sebanyak 100 μ L. Semua perlakuan tersebut diinkubasi lagi selama 48 jam. Setelah inkubasi 48 jam, masing-masing sumuran ditambahkan larutan 10 μ L MTT 5 mg/mL, kemudian diinkubasi lagi 4 jam pada suhu 37°C. Sel limfosit yang hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk warna ungu. Reaksi dengan MTT dihentikan dengan menambah reagen stopper yaitu larutan *Sodium Dodecyl Sulphate* (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 panjang gelombang 550 nm (Hay & Westwood, 2002)

2. Analisis Data

Data yang didapat dari hasil pembacaan senyawa formazan oleh ELISA *reader* berupa absorbansi atau *Optical Density* (OD). Nilai OD yang terbaca menggambarkan aktivitas proliferasi sel limfosit. Nilai OD yang diperoleh dianalisis dengan program SPSS 16 for windows menggunakan perhitungan statistik non parametrik *Friedman Test* dilanjutkan *Mann-Whitney Test* dengan taraf kepercayaan 95%.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.a. Fermentasi Teh Hitam Jamur Kombucha

Pembuatan teh jamur kombucha menggunakan metode fermentasi. Proses fermentasi akan berlangsung oleh adanya simbiosis antara bakteri dan *yeast* dalam seduhan teh dan gula. Seduhan teh hitam berfungsi sebagai sumber mineral bagi bakteri dan *yeast* (Jayabalan *et al.*, 2014). Nutrisi sebagai sumber karbon diperlukan untuk kelangsungan hidup kombucha. Nutrisi tersebut diperoleh dari gula yang ditambahkan sebanyak 10% (b/v). Selama fermentasi terjadi pemecahan glukosa menghasilkan alkohol dan senyawa asam seperti asam asetat dan asam laktat, secara terus menerus sampai gula yang terdapat dalam larutan habis. Fermentasi dilakukan pada suhu kamar dan kondisi anaerob.

Lama proses fermentasi berpengaruh pada pH larutan teh kombucha, total asam dan ketebalan nata dari kombucha. Lama fermentasi yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu fermentasi selama 5, 10 dan 15 hari. Pemilihan lamanya hari berdasarkan proses pematangan dan pematangan dari kombucha yaitu pada 8-18 hari (Jayabalan *et al.*, 2007). Tujuan fermentasi dilakukan pada hari ke-5, 10 dan 15 untuk dibandingkan aktivitas imunomodulatornya dengan seri konsentrasinya yaitu, 6,25; 12,5; 25; 50 dan 100 µg/mL terhadap proliferasi sel limfosit mencit Balb/C.

3.b. Uji Aktivitas Imunomodulator

Aktivitas imunomodulator diketahui melalui respon imun FTHJK terhadap proliferasi sel limfosit mencit galur Balb/C. Proliferasi merupakan fungsi biologis mendasar limfosit yaitu proses diferensiasi dan pembelahan (mitosis) sel. Respon proliferasi pada kultur limfosit digunakan untuk menggambarkan fungsi limfosit dan status imun tubuh (Roitt & Delves, 2001). Sel limfosit diisolasi dari jaringan limpa mencit galur Balb/C. Mencit yang dipilih adalah mencit Balb/C karena responsif terhadap rangsangan eksogen. Limpa digunakan karena merupakan organ limfoid sekunder utama yang berisi sel T dan sel B (Abbas *et al.*, 2007).

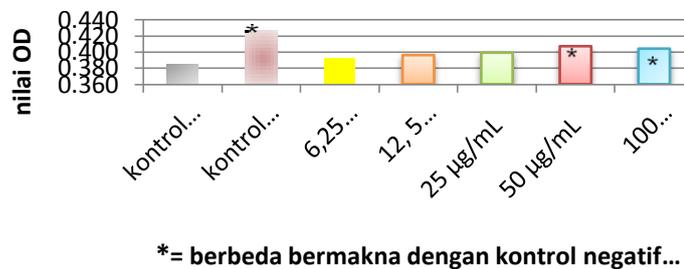
Penentuan aktivitas imunomodulator terhadap proliferasi sel limfosit dilakukan inkubasi selama 48 jam. Hal tersebut berkaitan dengan kandungan nutrisi dalam media yang menjadi asupan sel limfosit selama proses pengkulturan. *Rosewell Park Memorial Institute* (RPMI 1640) merupakan media yang baik untuk kultur sel limfosit karena mengandung garam-garam organik, asam amino, vitamin dan glukosa. Penggunaan glukosa yang terbatas pada sel limfosit selama lebih dari 48 jam mengakibatkan sel limfosit tidak dapat berproliferasi secara optimal (Maclever *et al.*, 2008).

Pengujian aktivitas imunomodulator sampel uji FTHJK terhadap proliferasi sel limfosit dilakukan dengan menggunakan metode *MTT Assay*. Metode ini merupakan metode kolorimetri yang umum digunakan untuk mengamati proliferasi dan pertumbuhan sel. Dimana garam tetrazolium MTT yang berwarna kuning akan direduksi oleh enzim suksinat dehidrogenase dalam mitokondria sel limfosit yang hidup, menjadi kristal formazan berwarna ungu (Mosmann, 1983). Intensitas warna kristal formazan yang terbaca pada ELISA *reader* setara dengan jumlah sel limfosit yang mengalami proliferasi,

sehingga pengukuran aktivitas proliferasi sel limfosit dapat diketahui dari nilai *Optical Density* (OD).

Nilai OD dari sampel uji FTHJK akan dibandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol positif (*Phytohemagglutinin* (PHA)). Kontrol negatif yang digunakan adalah sel limfosit ditambah vaksin hepatitis B. Penambahan vaksin hepatitis B ditujukan untuk menginduksi respon imun sebelum diberikan pelakuan sampel uji. Suatu agen imunomodulator dapat mengarah ke imunostimulator jika senyawa tersebut mampu meningkatkan respon imun, berupa peningkatan aktivitas proliferasi sel limfosit akibat pemberian vaksin. Semakin tinggi aktivitas proliferasi sel limfosit akibat pemberian mitogen maka nilai OD yang diperoleh akan semakin tinggi.

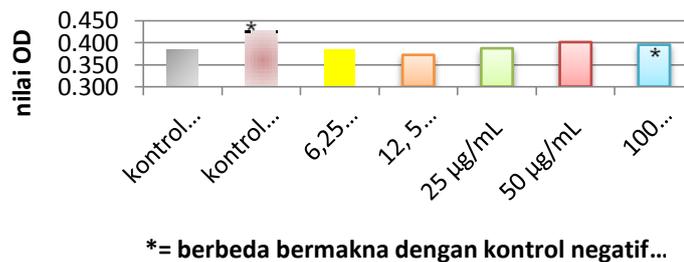
Hasil perhitungan uji *Mann Whitney* nilai OD dari sampel uji FTHJK fermentasi hari ke-5 tersaji dalam grafik mean \pm SD nilai OD kontrol negatif, kontrol positif dan sampel uji FTHJK terdapat dalam Gambar 1.



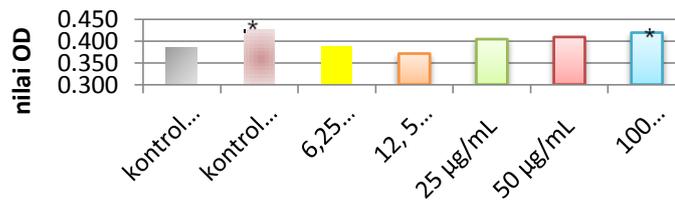
Gambar 1. Grafik Mean \pm SD Nilai OD Kontrol Negatif (Sel limfosit ditambah vaksin), Kontrol Positif (PHA), dan Sampel Uji FTHJK Fermentasi hari ke-5

Hasil analisa menunjukkan terdapat perbedaan bermakna kelompok sampel uji FTHJK (hari ke-5) terhadap kontrol negatif pada konsentrasi 50 dan 100 $\mu\text{g/mL}$. Konsentrasi tersebut menunjukkan adanya aktivitas imunostimulator. Aktivitas imunostimulator yang ada pada sampel uji FTHJK (hari ke-5) karena kadar polifenol dan flavonoid dalam teh masih banyak dan khasiatnya sebagai imunostimulator ditingkatkan dengan mulai dihasilkannya senyawa hasil fermentasi seperti asam asetat, asam glukoronat, asam laktat dan asam askorbat.

Grafik mean \pm SD nilai OD kontrol negatif, kontrol positif dan sampel uji FTHJK fermentasi hari ke-10 dan 15 terdapat dalam Gambar 2 dan 3.



Gambar 2. Grafik Mean \pm SD Nilai OD Kontrol Negatif (Sel limfosit ditambah vaksin), Kontrol Positif (PHA), dan Sampel Uji FTHJK Fermentasi hari ke-10



*= berbeda bermakna dengan kontrol negatif...

Gambar 3. Grafik Mean ± SD Nilai OD Kontrol Negatif (Sel limfosit ditambah vaksin), Kontrol Positif (PHA), dan Sampel Uji FTHJK Fermentasi hari ke-15

Pada Gambar 2, menunjukkan ada perbedaan bermakna dari sampel uji dan kontrol negatif adalah konsentrasi 100 µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok sampel uji FTHJK fermentasi hari ke-10 yang memiliki aktivitas imunostimulator pada konsentrasi 100 µg/mL. Sesuai penelitian Jayabalan *et al.*, (2007) meskipun terjadi penurunan kadar polifenol dan flavonoid dalam sampel uji FTHJK, tetapi hasil fermentasi berupa asam-asam organik kadarnya meningkat. Adanya aktivitas imunostimulator pada sampel uji FTHJK hari ke-10 lebih banyak berasal dari asam asetat, asam glukoronat, asam laktat dan asam askorbat.

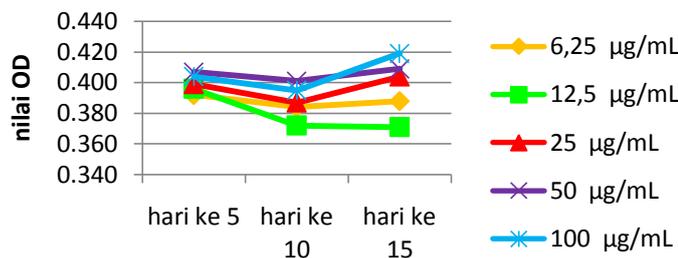
Hasil analisa pada Gambar 3, menunjukkan terdapat perbedaan bermakna terlihat pada kontrol positif terhadap kelompok kontrol negatif (sel limfosit dengan vaksin). Perbandingan nilai OD antara kelompok sampel uji dan kontrol negatif, yang memberikan perbedaan bermakna pada konsentrasi 100 µg/mL dengan nilai OD yang lebih tinggi dari kontrol negatif. Hal ini menunjukkan sampel uji FTHJK memiliki aktivitas imunostimulator pada konsentrasi 100µg/mL.

Hasil analisis semua kelompok sampel uji FTHJK dari masing-masing lama waktu fermentasi menunjukkan aktivitas imunostimulator tertinggi pada konsentrasi 100 µg/mL fermentasi hari ke-15, namun dalam penelitian ini belum didapatkan konsentrasi optimal dari sampel uji FTHJK yang memberikan aktivitas proliferasi sel limfosit, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap sampel uji FTHJK dengan seri konsentrasi diatas 100 µg/mL pada fermentasi hari ke-15. Konsentrasi optimal pemberian imunostimulator dapat ditentukan dengan melihat konsentrasi dimana sampel uji memberikan aktivitas tertinggi (batas konsentrasi tertentu), yang kemudian pada pemberian beberapa konsentrasi lebih tinggi terjadi penurunan aktivitas imunostimulator terhadap proliferasi sel limfosit.

Besarnya potensi aktivitas imunostimulator sampel uji FTHJK dibandingkan dengan kontrol positif. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian adalah PHA. Hasil analisa menunjukkan kontrol positif memiliki perbedaan bermakna terhadap kontrol negatif, ini berarti PHA merupakan mitogen yang poten dalam menginduksi proliferasi sel limfosit. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Schroecksadel *et al.* (2011).

Konsentrasi sampel uji FTHJK tertinggi yaitu konsentrasi 100 µg/mL pada fermentasi hari ke-15 menunjukkan hasil perbedaan bermakna dengan nilai rata-rata OD lebih rendah dari kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa FTHJK pada konsentrasi tersebut memiliki efek imunostimulator yang lebih kecil daripada kontrol positif yang digunakan.

Lama fermentasi yang mempengaruhi aktivitas imunostimulator sampel uji FTHJK, terlihat pada grafik nilai OD berdasarkan lama fermentasi dalam Gambar 4.



Gambar 4. Grafik Perbandingan Nilai OD dari Sampel Uji FTHJK Berdasarkan Lama Fermentasi

Berdasarkan Gambar 4, Semua kelompok konsentrasi menunjukkan penurunan aktivitas imunostimulator pada fermentasi hari ke-10. Hal ini dapat dikarenakan adanya penurunan dari kadar senyawa polifenol, flavonoid dan asam laktat, terdapat sedikit asam asetat, asam askorbat (vitamin C) dan zat besi dalam sampel uji FTHJK sesuai dengan penelitian Jayabalan *et al.*, (2007) dan Loncar *et al.*, (2002), senyawa yang digunakan sebagai agen imunostimulator diperoleh lebih banyak dari asam glukoronat yang dapat memperbaiki sistem imun.

Peningkatan aktivitas imunostimulator terjadi pada fermentasi hari ke-15, dengan konsentrasi tertinggi 100 µg/mL. Peningkatan aktivitas ini kemungkinan karena kadar polifenol, flavonoid, asam laktat, asam asetat dan asam askorbat. Peningkatan senyawa asam ini dapat menginduksi sistem imun seluler, diantaranya adalah asam laktat dapat meningkatkan respon sel limfosit T (Scholtfeldt *et al.*, 1995), asam asetat, asam glukoronat dapat memperbaiki sistem imun (Loncar *et al.*, 2000), asam askorbat (vitamin C) hasil fermentasi teh hitam oleh *yeast* dapat meningkatkan proliferasi sel limfosit (Pasha & Reddy, 2005). Polifenol dan flavonoid seperti yang terdapat dalam teh hitam yang tidak hilang oleh proses fermentasi ini, mampu merangsang proliferasi sel limfosit (Arnas, 2009).

Mekanisme umum terjadinya proses proliferasi sel limfosit dikarenakan terikatnya suatu senyawa aktif (antigen) pada permukaan sel T dan sel B. Pengikatan antigen pada reseptor permukaan sel T bersama interleukin 1 (IL-1) dari APC (*Antigen Presenting Cell*) dapat mengaktifasi G-protein yang kemudian memproduksi fosfolipase C. Enzim ini menghidrolisis fosfatidil inositol bifosfat (PIP2) menjadi produk reaktif diasil gliserol (DAG) dan inositol trifosfat (IP3). Reaksi tersebut berlangsung dalam membran plasma. IP3 kemudian menstimulasi pelepasan Ca^{2+} ke dalam sitoplasma sehingga konsentrasi Ca^{2+} meningkat. Peningkatan Ca^{2+} ini berperan penting dalam menstimulasi kerja enzim protein kinase C dan 5-lipoxygenase. Protein kinase C menstimulasi produksi interleukin-2 (IL-2), IL-2 ini kemudian mengaktifasi sel B maupun sel T untuk berproliferasi (Roitt & Delves, 2001).

Pengujian secara *in vitro* pada penelitian ini menunjukkan bahwa perbedaan jenis teh sebagai media fermentasi dapat mempengaruhi hasil aktivitas proliferasi sel limfosit pada variasi konsentrasi dan lama fermentasi. Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian Ulfah dan Arifin (2013), dimana dengan jenis teh hijau dan seri konsentrasi yang sama (6,25; 12,5; 25; 50 dan 100 µg/mL) memiliki aktivitas proliferasi sel limfosit tertinggi pada konsentrasi 100 µg/mL dan lama fermentasi hari ke-10.

Beberapa hasil fermentasi juga telah diteliti sebagai peningkat sistem imun tubuh, diantaranya efek imunomodulator dari fermentasi teh kombucha yang diteliti secara *in vivo* dapat memberikan efek titer antibodi IgM pada mencit setelah diimunisasi vaksin hepatitis A (Ulfah, 2005). Antibodi tersebut merupakan salah satu hasil dari diferensiasi dan proliferasi sel limfosit B. Hasil pengujian FTHJK secara *in vitro* ini diharapkan dapat

memberikan gambaran mengenai potensi teh hitam kombucha sebagai agen imunomodulator.

4. KESIMPULAN

1. Hasil fermentasi teh hitam jamur kombucha (FTHJK) memiliki aktivitas imunomodulator terhadap peningkatan proliferasi sel limfosit mencit galur Balb/C secara *in vitro* pada konsentrasi 50 dan 100 µg/mL fermentasi hari ke5 dan konsentrasi 100 µg/mL pada fermentasi hari ke-10 dan 15.
2. Fermentasi teh hitam jamur kombucha mempunyai aktivitas imunomodulator yang tinggi pada konsentrasi 100 µg/mL pada fermentasi hari ke-15.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Arnas, Y., 2009, Pengaruh Pemberian Seduhan Teh Hitam (*Camellia sinensis*) Dengan Dosis Bertingkat Terhadap Proliferasi Limfosit Mencit Balb/c yang Diinokulasi *Salmonella typhimurium*, *Skripsi*, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Baratawidjaja, K.G., & Rengganis, I., 2012, *Imunologi Dasar*, edisi ke-10, Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta. 29-32, 39, 93-147.
- Dufresne, C., & E. Farnworth, 2000, *Tea Kombucha and Health: a Review*. *Food Research International*, **33**, 409-421.
- Jayabalan, R., Marimthu, S., & Swaminathan, K., 2007, Changes in Content of Organic Acid and Tea Polyphenols during Kombucha Tea Fermentation, *Food Chemistry*, **102**, 392-398.
- Jayabalan, R., Malbasa, R.V., Loncar, E.S., Vitas, J.S., & Sathiskumar, M., 2014, Review on Kombucha Tea-Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **13**, 538-550.
- Loncar, E.S., Petrovic, S.E., Malbasa R.V., & Verac, R.M., 2000, Biosynthesis of Glucuronic Acid by Means of Tea Fungus, *Nahrung*, **44**, 138-139.
- Maclever, N.J., Jacobs, S.R., Wieman, Wofford, J.A., Coloff, J.L., and Rathmell, J.C., 2008, Glucose Metabolism In Lymphocytes Is A Regulated Process With Significant Effects On Immune Cell Function And Survival, *Journal of Leukocyte Biology*, **84**, 949-957.
- Mosmann, T., 1983, Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival, *Journal of Immunological Method*, 55-63.
- Neiman, D.C., Henson, U.A., Maxwell, K.R., Williams, S.R.M., Mcanulty, S.R., Jin, F., Shanely, R.A., & Lines, T.C., 2009, Effects of Quercetin and EGCG on Mitochondrial Biogenesis and Immunity, *Medicine & Science In Sports and Exercise*, **9**, 1467-1475.
- Pasha, C., & Reddy, G., 2005, Nutritional and Medicinal Improvement of Black Tea by Yeast Fermentation, *Food Chemistry*, **89**, 449-453.
- Roitt, I. M. & P. J. Delves. 2001. *Essential Immunology*. 10th edition. Blackwell Science Ltd. London, 17-25, 75-81.
- Schlottfeldt, J., Blazina, L.R., Wannmacher, M.D., & Wajner, M., 1995, The Effect of Organic Acid On Phytohaemagglutinin-Activated Proliferation of Human Lymphocyte In Vitro, *International Society for Immunopharmacology*, **17**, 175
- Schroecksadel, S., Sucher, R., Kurz, K., Fucks, D., and Brandacher, G., 2011, Influence of immunosuppressive agents on tryptophan degradation and neopterin production in human peripheral blood mononuclear cells, *Transplant Immunology*, **25**, 119-123.
- Suprijono, A., Putri, G.K.P., & Susanti, E., 2012, Pengaruh Fermentasi Kultur Kombucha terhadap Aktivitas Antioksidan Infus Daun Teh Hitam *Camellia sinensis* O.K. var. *assamica* (mast) dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Media Farmasi Indonesia*, **6**, 2.

- Ulfah, M., 2005, Pengaruh Pemberian Teh Jamur Kombucha Terhadap Titer Antibodi Imunoglobulin M (IgM) Pada Mencit Setelah Divaksinasi Hepatitis A, *Skripsi*, Universitas Wahid Hasyim, Semarang.
- Ulfah, M., & Arifin, I., 2013, Teh Jamur Kombucha Sebagai Imunomodulator Terhadap Proliferasi Sel Limfosit Mencit Galur Balb/c Secara *In Vitro*, *Prosiding ‘Simposium Nasional Peluang dan Tantangan Obat Tradisional dalam Pelayanan Kesehatan Formal*, Yogyakarta, 95-1001.