

## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1. Pemeliharaan dan Pertumbuhan Tikus

Penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley* berumur sekitar delapan minggu sebagai hewan uji. Menurut Puspawati (2009) tikus galur ini merupakan tikus yang mudah didapat dan sering digunakan dalam pengujian imunitas. Tikus percobaan dipelihara dan diberikan perlakuan pencekokan selama 90 hari ditambah 3 hari masa adaptasi. Larutan cekok yang diberikan adalah ekstrak daun jelatang dengan menggunakan air sebagai pelarut. Berdasarkan dosis larutan cekok yang diberikan, tikus percobaan dibagi menjadi tiga kelompok yaitu kelompok dosis 0,1 g/kg BB/hari, kelompok dosis 1 g/kg BB/ hari, dan kelompok kontrol yang diberikan air minum. Hal dilakukan agar tikus kontrol juga menerima stress perlakuan yang sama dengan tikus kelompok lainnya. Penentuan dosis 0.1 g/kg BB/hari didasarkan pada hasil konversi dosis pemberian pada manusia (Lampiran 1). Volume larutan cekok yang diberikan berbeda-beda karena masing-masing tikus memiliki berat yang tidak sama. Contoh perhitungan volume larutan cekok dapat dilihat pada Lampiran 2. Tikus kontrol dicekok dengan air minum sebanyak 1 ml.

Ekstrak daun jelatang yang diberikan merupakan ekstrak kasar yang masih berupa suspensi karena adanya partikel-partikel yang tidak terlarut. Penggunaan ekstrak kasar sebagai larutan cekok diharapkan dapat memberikan hasil yang mendekati hasil pengujian jika daun jelatang diberikan secara langsung bersama pakan. Pemberian daun jelatang langsung bersama pakan sulit dilakukan mengingat konsumsi pakan dari masing-masing tikus berbeda-beda dan kemungkinan adanya karakteristik daun jelatang yang tidak disukai oleh tikus.

Pemberian substansi uji tertentu dengan cara tertentu pada hewan percobaan dapat mempengaruhi pola makan, tingkah laku dan pertumbuhan hewan tersebut. Selama periode pemeliharaan tikus percobaan ditemukan dua kasus kematian (mortalitas). Kasus pertama ditemukan pada kelompok tikus dosis 1 g/kg BB/hari setelah 42 hari masa perlakuan dan kasus kedua ditemukan pada kelompok tikus dosis 0.1 g/kg BB/hari setelah 73 hari masa perlakuan. Adanya gejala morbiditas (sakit/menderita) terlihat pada kedua tikus dalam waktu kurang dari 24 jam sebelum kematian. Selain itu, ditemukan juga banyak darah di sekitar hidung dan mata kedua tikus yang telah mati. Kedua kasus kematian ini diperkirakan terjadi karena penyimpangan irama jantung (*arrythmia*).

Menurut Peterson dan Talcott (2006), tanaman *Urtica spp* dapat memicu gejala-gejala klinis seperti salivasi, muntah, *arrythmia*, *dyspnea*, kelemahan, dan *collapse*. Mekanisme terjadinya *arrythmia* diduga terkait dengan sifat diuretik dari daun *Urtica dioica* L. Beberapa laporan menunjukkan bahwa diuretik, terutama yang tidak memiliki aktivitas menghemat kehilangan kalium dari tubuh (*non potassium sparing diuretic*), dapat meningkatkan risiko kematian *arrythmic* (kematian akibat penyimpangan denyut jantung) pada pasien-pasien hipertensif, yang diduga terjadi karena diuretik mengubah keseimbangan elektrolit (Cooper *et al.* 1999). Ditemukannya sedikit darah di sekitar mulut dan hidung tikus pada saat pemeriksaan diasumsikan akibat tikus menggosok-gosokkan hidung ke tutup kandang yang terbuat dari logam. Tingkah laku tersebut diperkirakan karena pemberian jelatang dapat memicu gatal, seperti yang disebutkan oleh Fragoso *et al.* (2008).

Mortalitas hanya terjadi pada satu dari 10 ekor tikus pada kelompok dosis 0.1 g/kg BB/hari dan satu dari sepuluh ekor tikus pada kelompok dosis 1 g/kg BB/hari. Mengingat hasil pemeriksaan fisik menunjukkan lebih banyak tikus yang tidak menunjukkan gejala morbiditas, maka diperkirakan tikus yang mati selama pengujian lebih sensitif dibandingkan tikus-tikus lainnya.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang  
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang meminumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

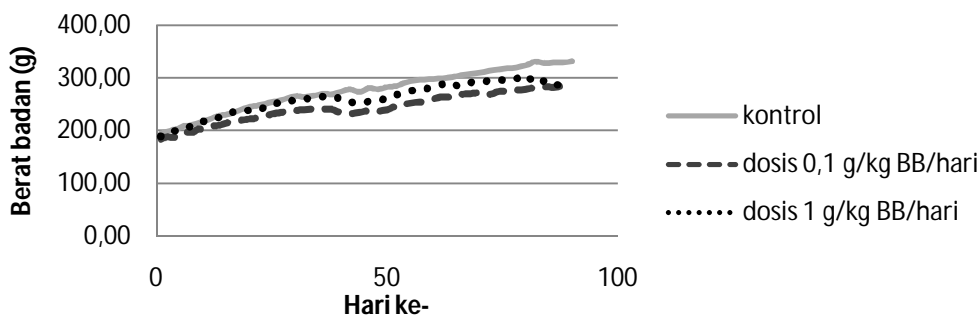
Penimbangan berat badan untuk memantau pertumbuhan tikus percobaan dilakukan dua hari sekali. Data berat badan tikus selama masa perlakuan tertera pada Lampiran 3. Tabel 6 menunjukkan data berat badan awal, berat badan akhir, kenaikan berat badan, serta rata-rata konsumsi pakan per hari setiap kelompok tikus. Setelah 90 hari masa percobaan, semua kelompok tikus mengalami kenaikan berat badan. Kenaikan berat badan tertinggi terjadi pada kelompok kontrol sebesar  $136.60 \pm 40.20$  g. Hal ini sesuai dengan rata-rata konsumsi pakan/hari kelompok kontrol yang lebih tinggi dibanding kelompok lain. Pemberian ekstrak daun jelatang pada dosis 0.1 g/kg BB/hari dan 1 g/kg BB/hari mempengaruhi konsumsi pakan/hari kelompok tikus tersebut menjadi lebih rendah. Walaupun demikian, hal tersebut tidak memberikan pengaruh negatif pada pertumbuhan tikus secara keseluruhan.

Hasil analisis uji sidik ragam terhadap berat badan awal tikus tertera pada Lampiran 5; berat badan akhir tikus pada Lampiran 6 dan kenaikan berat badan pada Lampiran 7. Berat badan kelompok tikus yang mendapat ekstrak daun jelatang, baik dosis 0.1 g/kg BB/hari maupun 1 g/kg BB/hari, tidak berbeda nyata dengan kontrol pada taraf kepercayaan 95%. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa kenaikan berat badan tidak berbeda nyata pada taraf kepercayaan 95% pada masing-masing kelompok tikus. Grafik pertumbuhan masing-masing kelompok tikus juga cenderung meningkat (gambar 4). Hal ini mengindikasikan bahwa selama masa perlakuan, semua kelompok tikus berada dalam keadaan pertumbuhan yang baik. Menurut National Research Council (1978), pertumbuhan dan perkembangan yang baik dari makhluk hidup ditandai dengan terjadinya kenaikan berat badan yang mengikuti bentuk kurva pertumbuhan yang sigmoid. Dalam kondisi diet seimbang (protein, energi, serta komponen-komponen lainnya), kenaikan berat badan akan terjadi sesuai dengan pola pertumbuhan yang seharusnya, dan akan menjadi lebih buruk bila hewan mendapatkan ransum yang tidak bergizi seimbang.

**Tabel 6.** Rata-rata dan standar deviasi berat badan, kenaikan berat badan, dan konsumsi pakan pada setiap kelompok tikus

Perlakuan	Berat badan (g)			Konsumsi pakan/hari (g)
	Awal	Akhir	Kenaikan	
Kontrol	$194.20 \pm 22.78^a$	$330.80 \pm 43.79^a$	$136.60 \pm 40.20^a$	$18.54 \pm 1.77^a$
Dosis 0.1 g/kg BB/hari	$183.60 \pm 14.28^a$	$287.33 \pm 47.02^a$	$104.11 \pm 39.40^a$	$16.80 \pm 1.84^b$
Dosis 1 g/kg BB/hari	$188.90 \pm 14.19^a$	$293.89 \pm 70.20^a$	$104.44 \pm 61.16^a$	$17.24 \pm 1.94^b$

Notasi huruf yang sama dalam kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan pada taraf kepercayaan 95%. Begitu pula sebaliknya (uji lanjut Tukey)



**Gambar 4.** Pertumbuhan tikus kontrol dan tikus yang diberi ekstrak daun jelatang dosis 0.1 g/kg BB/hari dan dosis 1 g/kg BB/hari

## 4.2. Proliferasi Sel Limfosit Limfa Tikus

Proliferasi limfosit merupakan suatu proses yang dapat mengindikasikan aktivitas respon imun spesifik yang berkaitan dengan suatu system imun. Menurut Kuby *et al.* (2007), sel limfosit yang dapat berproliferasi adalah sel B dan sel T yang merupakan bagian dari sistem imun spesifik. Sel B bertambah banyak dan berdiferensiasi menjadi sel plasma (efektor) dan sel memori pada awal proses proliferasi, sedangkan sel T berdiferensiasi menjadi sel *Thelper* (Th), *Tsuppresor* (Ts) dan *Tcytotoxic* (Tc). Sel B akan menghasilkan antibodi dari sel plasmanya unruk melawan benda asing (antigen) yang dapat merugikan bagi kesehatan. Sel T akan menghasilkan sitokin yang menginduksi sistem imun lain.

Pengujian aktivitas proliferasi sel limfosit limfa tikus setelah 90 hari masa perlakuan dilakukan melalui proses isolasi sel limfosit limfa, perhitungan dan pengkulturan suspensi sel limfosit limfa, serta penentuan indeks stimulasi sel limfosit limfa berdasarkan hasil pengujian dengan metode MTT. Sel limfosit yang diuji berasal dari organ limfa. Organ ini merupakan organ limfoid sekunder yang dirancang untuk menginisiasi respon imun terhadap antigen asal darah. Janeway *et al.* (2001) menyebutkan bahwa limfa merupakan organ yang mengumpulkan antigen dari darah serta mengumpulkan dan membuang sel darah merah (eritrosit) yang telah tua. Organ limfa mengandung kompartemen-kompartemen khusus yang merupakan tempat sel-sel imun berkumpul dan bekerja, dan berfungsi sebagai tempat pertemuan (konfrontasi) sistem imun dengan antigen (National Institute of Health 2003).

Sebelum dikultur, jumlah sel dalam suspensi sel limfosit dihitung menggunakan metode biru tripan. Hal ini dilakukan untuk mengetahui konsentrasi sel hidup dalam suspensi sel limfosit. Sel hidup memiliki membran sel yang masih utuh sehingga pewarna biru tripan yang diberikan tidak akan masuk ke dalam sel. Sel hidup tampak berbentuk bulat utuh dan bening pada pengamatan dengan mikroskop perbesaran 400x. Adapun sel yang telah mati tampak mengkerut dan berwarna kebiruan karena membran selnya telah rusak dan pewarna biru tripan dapat masuk ke dalam sel. Jumlah sel hidup dalam suspensi sel yang akan dikultur minimal sebesar 95% (Tejasari 2000).

Pengkulturan sel limfosit limfa dilakukan secara *in vitro* dengan media RPMI 1640 yang mengandung nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan sel. Dalam media kultur juga ditambahkan *fetal bovine serum* (FBS) sebesar 10%. Penambahan serum ini bertujuan untuk memberikan hormon-hormon penting pertumbuhan, protein, lipid, dan mineral-mineral yang penting untuk pertumbuhan, serta sebagai faktor penempel sel pada matrik tempat sel tumbuh (Freshney 1994). Antibiotik juga ditambahkan untuk mengatasi kontaminasi mikroorganisme. Selain itu ditambahkan juga  $\text{NaHCO}_3$  yang berfungsi sebagai buffer untuk mempertahankan pH yang diperlukan dalam pengkulturan sel limfosit (Freshney 1994).

Pada pengkulturan sel limfosit limfa ini juga ditambahkan senyawa mitogen dan senyawa yang bersifat toksik bagi tubuh yaitu rhodamin B dan karmoisin. Hal ini dilakukan untuk mengetahui respon proliferasi sel limfosit limfa terhadap senyawa-senyawa tersebut. Mitogen yang digunakan adalah lipopolisakarida (LPS) dari *Salmonella thyphii*. Penambahan LPS bertujuan memacu proliferasi karena LPS merupakan semacam antigen yang menginduksi terjadinya proliferasi. LPS umum digunakan untuk menstimulasi sel dan hal tersebut terjadi secara alami pada kasus infeksi. Menurut Watter *et al.* (2002), LPS adalah komponen membran luar bakteri gram negatif yang dapat meningkatkan aktivitas sel imun. Adapun karmoisin dan rhodamin B merupakan pewarna buatan sintesis yang dapat bersifat toksik bagi tubuh. Amin *et al.* (2010) menyimpulkan bahwa karmoisin dapat memberikan pengaruh negatif dan mengubah beberapa penanda biokimia pada organ-organ penting seperti hati dan ginjal, baik pada dosis tinggi ataupun rendah. Dan menurut EFSA (2005), rhodamin B berpotensi memiliki sifat karsinogenik dan genotoksik.

**Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang**

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang memungut dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Dalam proses pengkulturan sel sangat dibutuhkan kondisi yang steril untuk menghindari kontaminasi mikroorganisme. Tahapan-tahapan dalam pengkulturan sel limfosit dikerjakan secara aseptis dan sebagian besar dilakukan di dalam lemari steril. Inkubasi kultur sel limfosit dilakukan selama 72 jam dalam inkubator CO<sub>2</sub> dengan pengaturan suhu 37<sup>0</sup>C, kadar CO<sub>2</sub> 5%, udara 95%, dan RH 97%. Kondisi ini diupayakan untuk mendekati kondisi yang sama dengan kondisi tubuh. Menurut Freshney (1994), untuk melakukan kultur sel secara *in vitro* dibutuhkan kondisi pertumbuhan yang mirip dengan kondisi *in vivo* seperti pengaturan temperatur, konsentrasi O<sub>2</sub> dan CO<sub>2</sub>, pH, tekanan osmosis, dan kandungan nutrisi.

Di akhir masa inkubasi dilakukan pengujian proliferasi sel limfosit dengan metode MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide). Empat jam sebelum berakhirnya masa inkubasi, senyawa MTT yang berwarna kuning ditambahkan ke dalam kultur sel. Senyawa MTT akan bereaksi dengan enzim suksinat dehidrogenase yang ada dalam mitokondria sel hidup. Enzim ini dapat mengubah senyawa tetrazolium dari MTT untuk menghasilkan kristal formazan yang berwarna biru. Nilai absorbansi dari warna biru kristal formazan ini kemudian dijadikan indikator jumlah sel limfosit hidup. Penambahan HCl-isopropanol dilakukan pada akhir masa inkubasi atau sebelum dilakukan pengukuran nilai absorbansi. Hal ini dilakukan untuk menghentikan aktivitas proliferasi sel limfosit sehingga stabil selama pengukuran nilai absorbansi dan untuk melarutkan kristal formazan yang terbentuk (Puspawati 2009).

Pengukuran nilai absorbansi kultur sel limfosit dilakukan dengan ELISA *reader*. Kesalahan dapat terjadi pada proses pengukuran ini karena adanya kontaminasi bakteri maupun khamir. Mitokondria sel bakteri dan khamir juga mengandung enzim suksinat dehidrogenase yang dapat bereaksi dengan garam tetrazolium. Oleh karena itu, pelaksanaan analisis yang aseptis sangat diperlukan untuk menghindari adanya kontaminasi.

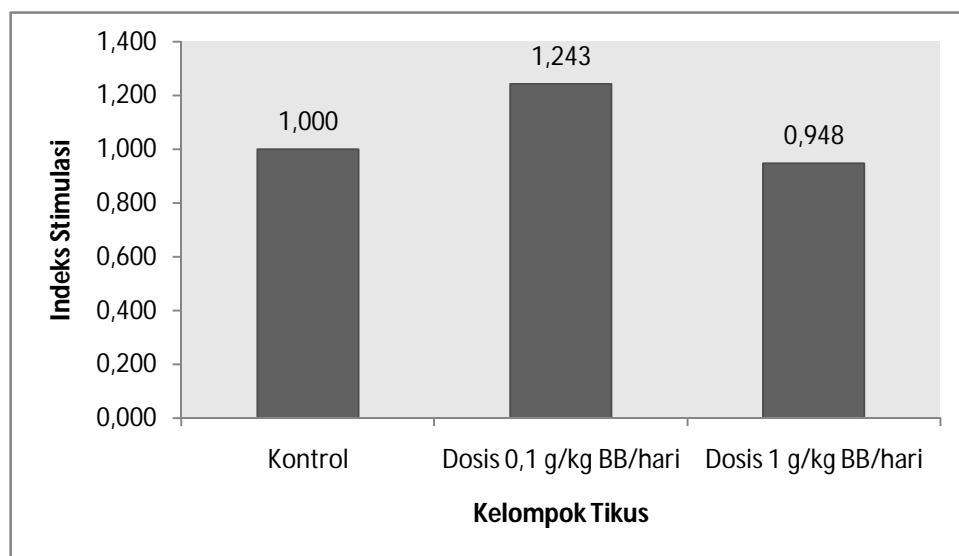
Aktivitas proliferasi sel limfosit limfa tikus ditentukan melalui perhitungan nilai indeks stimulasi (IS). Nilai ini merupakan perbandingan antara rata-rata absorbansi kultur yang diberi perlakuan (konsumsi daun jelatang, penambahan mitogen atau senyawa toksik) dengan rata-rata absorbansi kultur yang tidak diberi perlakuan (kontrol). Semakin tinggi nilai IS menandakan proliferasi limfosit semakin banyak atau aktivitas proliferasi limfosit semakin tinggi (Cambier 2000). Data rata-rata absorbansi kultur sel pada masing-masing perlakuan tertera pada Lampiran 8. Adapun rata-rata indeks stimulasi pada masing-masing perlakuan tertera pada Tabel 7.

**Tabel 7.** Rata-rata indeks stimulasi pada setiap perlakuan

Perlakuan	Kelompok Tikus		
	Kontrol	Dosis 0,1 g/kg BB/hari	Dosis 1 g/kg BB/hari
Spontan	1,000	1,243	0,948
LPS	1,140	0,988	1,020
Kar 48 µg/ml	0,511	0,893	1,183
Kar 96 µg/ml	0,555	1,005	1,067
Kar 144 µg/ml	0,583	1,020	1,124
Rho 12 µg/ml	0,481	0,936	0,915
Rho 24 µg/ml	0,504	0,953	0,950
Rho 36 µg/ml	0,522	0,950	1,011

#### 4.2.1. Proliferasi Limfosit Spontan

Gambar 5 menunjukkan rata-rata indeks stimulasi sel limfosit limfa tikus tanpa penambahan mitogen atau senyawa toksik (proliferasi limfosit spontan). Nilai indeks stimulasi ini merupakan hasil bagi antara nilai absorbansi kelompok tikus dosis 0.1 g/kg BB/hari atau dosis 1 g/kg BB/hari dengan nilai absorbansi kelompok tikus kontrol. Dengan demikian, kelompok tikus kontrol memiliki nilai indeks stimulasi 1. Terlihat bahwa kelompok tikus dengan pemberian daun jelatang dosis 0.1 g/kg BB/hari memiliki nilai IS yang paling tinggi yaitu 1.243. Adapun kelompok tikus dengan pemberian daun jelatang dosis 1 g/kg BB/hari memiliki nilai IS yang lebih rendah dari kontrol yaitu sebesar 0,948. Hasil analisis statistik dengan uji sidik ragam (Lampiran 9) menunjukkan bahwa rata-rata nilai indeks stimulasi kelompok tikus kontrol, dosis 0.1 g/kg BB/hari, dan dosis 1 g/kg BB/hari tidak berbeda secara signifikan pada tingkat kepercayaan 95%.

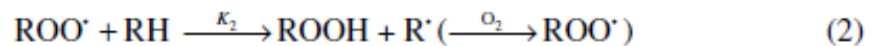
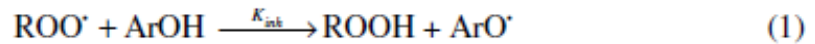


**Gambar 5.** Rata-rata indeks stimulasi proliferasi spontan pada setiap kelompok tikus

Hasil penelitian menunjukkan bahwa indeks stimulasi limfosit kelompok tikus dosis 0.1 g/kg BB/hari memiliki nilai yang paling tinggi. Hal ini dapat terjadi mengingat adanya kandungan komponen-komponen bioaktif pada daun jelatang seperti komponen fenolik yang memiliki sifat antioksidan. Gulcin *et al.* (2004) menyatakan bahwa komponen fenolik pada ekstrak air dari tanaman jelatang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan yang kuat dan mendeteksi kandungan fenol sebesar 25,3 µg *pyrocatechol equivalent* pada 1 mg ekstrak. Lebih jauh lagi, Gulcin *et al.* (2004) menunjukkan aktivitas antioksidan dari ekstrak air daun jelatang sebesar 39, 66, dan 98% inhibisi peroksidasi dalam emulsi asam linoleat masing-masing pada konsentrasi 50, 100, dan 250 µg. Adanya sifat antioksidan dari komponen fenolik dapat melindungi sel limfosit dari stress oksidatif yang dapat merusak sel limfosit sehingga proliferasi terhambat. Penelitian tentang sifat antioksidan senyawa fenolik yang menunjukkan peranan sebagai antiradikal atau antioksidan secara *in vivo* pada manusia juga telah dilakukan oleh Erniwati (2007) yang menyebutkan komponen bioaktif seperti polifenol pada bubuk kakao bebas lemak dapat meningkatkan sifat antiradikal bebas pada sel limfosit manusia.

Puspawati (2009) yang melakukan kajian aktivitas proliferasi limfosit dan kapasitas antioksidan sorgum dan jiwawut pada tikus *Sprague Dawley* menyebutkan bahwa terjadinya aktivitas antioksidan senyawa fenolik sorgum dan jiwawut diduga karena senyawa fenolik tersebut setelah mengalami metabolisme dalam tubuh dapat diserap oleh jaringan seperti organ limfa. Mekanisme

aktivitas antioksidan dari senyawa fenolik ini adalah kemampuan senyawa fenolik mendonorkan elektron atau mekanisme menangkap (*scavenger*) radikal bebas atau ROS menjadi produk yang non reaktif. Adapun menurut Damiani *et al.* (2008), penghambatan transfer hidrogen merupakan mekanisme yang umum terjadi pada antioksidan fenolik. Sebagian besar antioksidan sintesis ataupun alami merupakan senyawa fenolik (ArOH) yang paling sedikit memiliki satu grup hidroksil yang terikat pada cincin benzene. Efek antioksidan dari senyawa fenolik ini terjadi karena donasi atom hidrogen fenolik pada rantai yang mengandung radikal peroksil (1) merupakan reaksi yang terjadi lebih cepat dibandingkan penyerangan radikal peroksil terhadap substrat organik (2) yang merupakan tahap propagasi dari proses peroksidatif.



Selain itu, dugaan adanya komponen fenolik dari ekstrak daun jelatang yang berikatan dengan reseptor pada permukaan sel limfosit yang tersusun atas protein juga menjadi alasan tingginya proliferasi limfosit pada kelompok tikus dosis 0.1 g/kg BB/hari. Menurut Tejasari (2007) komponen fenolik dapat berikatan dengan reseptor sel limfosit karena komponen fenolik dapat berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen. Adanya ikatan ini secara tidak langsung mengaktifasi sel B untuk proliferasi (Tejasari dan Zakaria 2002).

Namun demikian, pada dosis yang lebih tinggi (1 g/kg BB/hari), pemberian ekstrak daun jelatang menunjukkan efek menurunkan proliferasi limfosit. Hal ini diduga akibat banyaknya komponen fenolik yang terakumulasi dalam sel. Fardiaz (1996) menyatakan bahwa salah satu karakteristik fenol adalah kemampuannya sebagai antioksidan namun pada konsentrasi tinggi fenol dapat bersifat prooksidan. Sejalan dengan itu, Damiani *et al.* (2008) menyebutkan bahwa setiap antioksidan selama beraktivitas dapat menghasilkan spesies yang mampu mendorong oksidasi, oleh karena itu setiap antioksidan baik secara langsung ataupun tidak langsung memiliki sifat prooksidan. Efek prooksidan dari antioksidan telah menjadi objek studi yang menunjukkan bahwa antioksidan menjadi berbahaya ketika diaplikasikan pada dosis tinggi pada diet biasa (Damiani *et al.* 2008).

#### 4.2.2. Proliferasi limfosit dengan penambahan LPS

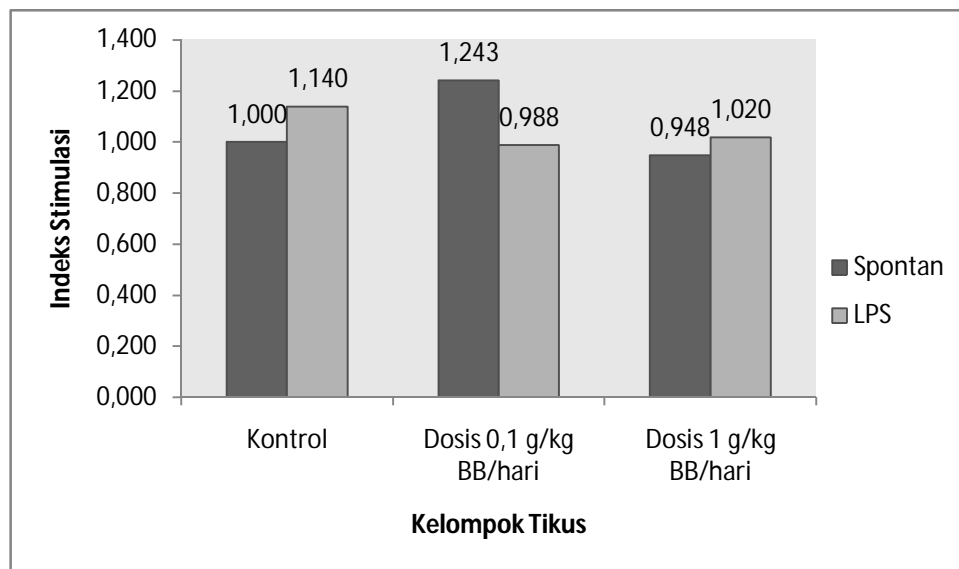
Proliferasi sel limfosit dapat diinduksi oleh senyawa yang disebut mitogen. Mitogen dapat memicu proliferasi karena dapat mengaktifasi hormon tirosin kinase yang merupakan faktor pertumbuhan. Hormon ini akan mengirimkan sinyal-sinyal yang berpengaruh terhadap faktor transkripsi dan aktivasi gen sehingga terjadi proliferasi sel (Decker 2001). Mitogen yang digunakan pada penelitian ini adalah lipopolisakarida (LPS). LPS merupakan komponen membran luar dari bakteri gram negatif seperti *Salmonella typhi* ataupun *E. coli*. LPS diketahui dapat memicu proliferasi sel limfosit B. Menurut Kuby *et al.* (2007), LPS merupakan contoh dari type 1 *thymus-dependent antigens* (antigen TI-1). Sebagian besar antigen TI-1 merupakan aktivator sel B poliklonal (mitogen) yang dapat mengaktifasi sel B tanpa mempedulikan spesifitas antigenik mereka. Pada konsentrasi tinggi, beberapa antigen TI-1 akan menstimulasi proliferasi dan sekresi antibodi sebanyak sepertiga dari keseluruhan sel B. LPS menstimulasi produksi antibodi spesifik untuk LPS pada konsentrasi rendah, sedangkan pada konsentrasi tinggi LPS merupakan aktivator sel B poliklonal. Rata-rata indeks stimulasi limfosit dengan perlakuan LPS serta % aktivitasnya tertera pada tabel 8. Pengaruh penambahan LPS terhadap aktivitas proliferasi dapat dilihat pada Gambar 6.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

**Tabel 8.** Rata-rata indeks stimulasi dan aktivitas proliferasi limfosit dengan penambahan LPS

Kelompok Tikus	Indeks stimulasi	Aktivitas (%)
Kontrol	1,140	14,02
Dosis 0,1 g/kg BB/hari	0,988	-20,50
Dosis 1 g/kg BB/hari	1,020	7,56



**Gambar 6.** Pengaruh penambahan LPS terhadap rata-rata indeks stimulasi

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kelompok tikus kontrol nilai indeks stimulasi dengan penambahan LPS lebih tinggi daripada nilai indeks stimulasi spontan. Berdasarkan perhitungan % aktivitas, kenaikan aktivitas proliferasi limfosit dengan penambahan LPS pada kelompok tikus kontrol adalah 14.02 %. Pada kelompok tikus dengan perlakuan ekstrak daun jelatang dosis 0.1 g/kg BB/hari, nilai indeks stimulasi dengan penambahan LPS lebih kecil dibanding indeks stimulasi spontan dengan penurunan aktivitas proliferasi sebesar 20.50%. Adapun kelompok tikus dengan perlakuan ekstrak daun jelatang dosis 1 g/kg BB/hari menunjukkan nilai indeks stimulasi dengan penambahan LPS lebih tinggi daripada nilai indeks stimulasi spontan dengan kenaikan aktivitas proliferasi sebesar 7.56%. Hasil analisis statistik dengan uji T berpasangan terhadap indeks stimulasi spontan dan perlakuan LPS tertera pada Lampiran 10. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa kenaikan aktivitas proliferasi karena penambahan LPS pada kelompok tikus kontrol dan kelompok tikus dosis 1 g/kg BB/hari merupakan kenaikan yang tidak signifikan pada taraf kepercayaan 95%. Begitu juga dengan penurunan aktivitas proliferasi pada kelompok tikus dosis 0.1 g/kg BB/hari, penurunan ini tidak signifikan pada taraf kepercayaan 95%.

Berdasarkan paparan data di atas, penambahan mitogen LPS mampu meningkatkan proliferasi pada kelompok tikus kontrol dan kelompok tikus dosis 1 g/kg BB/hari. Walaupun demikian peningkatan yang terjadi bersifat tidak signifikan. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh metode analisis uji MTT yang menggunakan pengukuran absorbansi. Keller *et al.* (2005) yang membandingkan dua metode pengujian proliferasi limfosit menemukan bahwa pengujian dengan radioaktif <sup>3</sup>H-thymidine secara signifikan menghasilkan nilai indeks stimulasi yang lebih tinggi dibandingkan pengujian dengan MTT. Lebih jauh lagi, Iwata dan Inoue (1993) menyebutkan bahwa

rendahnya nilai IS pada uji MTT disebabkan oleh nilai absorbansi sel yang tidak distimulasi (sel kontrol) secara relatif lebih tinggi karena metode pengujian ini tidak hanya mengukur viabilitas sel yang membelah secara aktif, tetapi juga sel yang sedang beristirahat.

Pada kelompok tikus dosis 0.1 g/kg BB/hari penambahan LPS mengakibatkan penurunan aktivitas proliferasi walaupun tidak signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa mitogen yang ditambahkan pada kultur sel limfosit tikus bersifat tidak sinergis dengan ekstrak daun jelatang dalam meningkatkan aktivitas proliferasi dan cenderung menghambat proliferasi pada perlakuan ekstrak daun jelatang dosis rendah. Penelitian yang dilakukan oleh Nora (2007) juga menunjukkan bahwa penambahan mitogen LPS pada kultur sel limfosit tikus yang telah diberi paparan ekstrak daun kumis kucing dan bunga kenop cenderung menghambat proliferasi, ditunjukkan dengan nilai indeks stimulasi lebih kecil dari 1. Walaupun demikian, pada pemberian dosis ekstrak daun jelatang yang lebih tinggi (1 g/kg BB/hari) proliferasi limfosit dengan penambahan LPS mengalami peningkatan. Hal ini kemungkinan terjadi karena efek stimulasi proliferasi oleh ekstrak daun jelatang lebih dominan daripada efek *unsinergis* LPS dan ekstrak daun jelatang dalam meningkatkan proliferasi. Namun perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk memastikan dan menjelaskan fenomena ini.

### 2.3. Proliferasi sel limfosit limfa dengan penambahan senyawa toksik

Senyawa toksik ditambahkan pada kultur sel limfosit untuk mengetahui sejauh mana ekstrak daun jelatang dapat menghambat efek toksik dari senyawa tersebut terhadap proliferasi limfosit. Senyawa toksik yang digunakan dalam penelitian ini adalah karmoisin dan rhodamin B. Karmoisin merupakan pewarna makanan sintetis yang pada kadar tertentu diketahui memiliki efek toksik bagi manusia sehingga penggunaannya dalam bahan pangan diatur dengan ketat. Hingga saat ini, karmoisin merupakan pewarna makanan sintetis yang diizinkan di Uni Eropa dengan level maksimal penggunaan yang diizinkan sebesar 50-500 mg/kg pangan untuk berbagai jenis bahan pangan dengan nilai *Acceptable Daily Intake* (ADI) sebesar 0-4 mg/kg BB/hari (EFSA 2009). Nilai ADI ini digunakan sebagai dasar penentuan konsentrasi karmoisin yang ditambahkan pada kultur. Adapun rhodamin B merupakan pewarna sintetis yang dilarang penggunaannya pada pangan namun masih sering disalahgunakan oleh produsen pangan. Menurut Inchem (2006) nilai  $LD_{50}$  rhodamin B adalah 89.5 mg/kg berat badan. Nilai  $LD_{50}$  digunakan sebagai dasar penentuan konsentrasi rhodamin B yang ditambahkan pada kultur. Rata-rata indeks stimulasi dengan perlakuan senyawa karmoisin dan rhodamin B dapat dilihat pada Tabel 7.

Paparan senyawa karmoisin yang diujikan pada penelitian ini adalah 48  $\mu\text{g/ml}$ , 96  $\mu\text{g/ml}$  dan 144  $\mu\text{g/ml}$  kultur. Tabel 9 menunjukkan % aktivitas proliferasi limfosit dengan perlakuan karmoisin pada setiap konsentrasi, sedangkan Gambar 7 menunjukkan perbandingan antara nilai indeks stimulasi spontan dan indeks stimulasi dengan paparan karmoisin 48  $\mu\text{g/ml}$ . Kelompok tikus kontrol menunjukkan penurunan nilai indeks stimulasi dengan penurunan aktivitas proliferasi sebesar 48.86%. Kelompok tikus dosis 0.1 g/kg BB/hari juga menunjukkan penurunan nilai indeks stimulasi dengan penurunan aktivitas proliferasi sebesar 28.17%. Adapun pada kelompok tikus 1 g/kg BB/hari terjadi kenaikan nilai indeks stimulasi dengan kenaikan aktivitas proliferasi sebesar 24.80%. Hasil analisis statistik dengan uji T berpasangan terhadap indeks stimulasi spontan dan perlakuan karmoisin 48  $\mu\text{g/ml}$  tertera pada Lampiran 11. Hasil analisis statistik yang telah dilakukan menunjukkan bahwa penurunan aktivitas proliferasi pada kelompok tikus kontrol dan kelompok tikus dosis 0.1 g/kg BB/hari merupakan penurunan yang signifikan pada taraf kepercayaan 95%. Sementara itu, kenaikan aktivitas proliferasi pada kelompok tikus dosis 1 g/kg BB/hari juga merupakan kenaikan yang signifikan pada taraf kepercayaan 95%.

#### Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

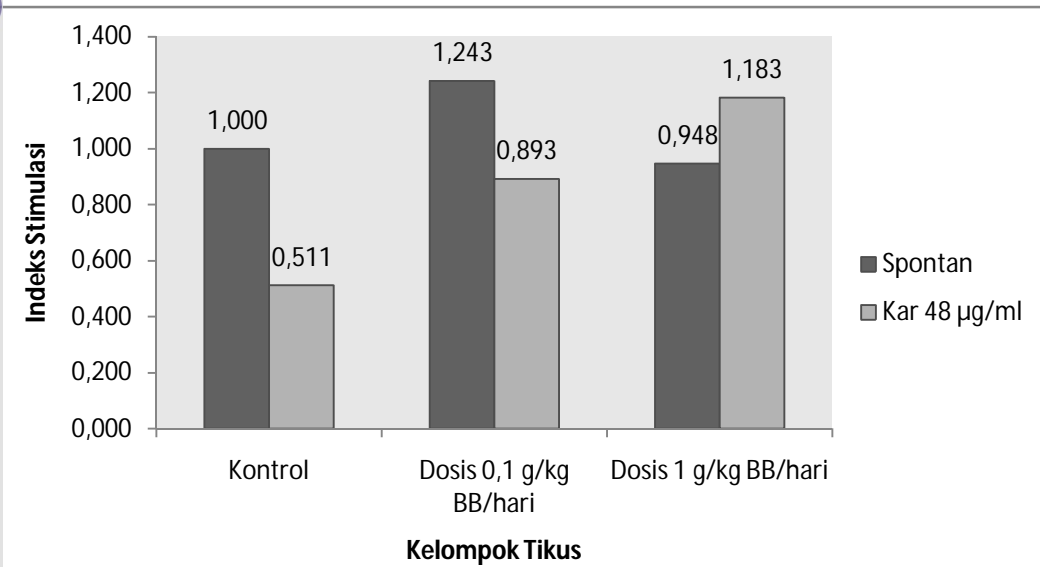
- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



**Tabel 9.** Nilai aktivitas proliferasi limfosit dengan perlakuan karmoisin (%)

Perlakuan	Kelompok Tikus		
	Kontrol	Dosis 0,1 g/kg BB/hari	Dosis 1 g/kg BB/hari
Kar 48 µg/ml	-48,86	-28,17	24,80
Kar 96 µg/ml	-44,47	-19,14	12,53
Kar 144 µg/ml	-41,70	-17,97	18,51



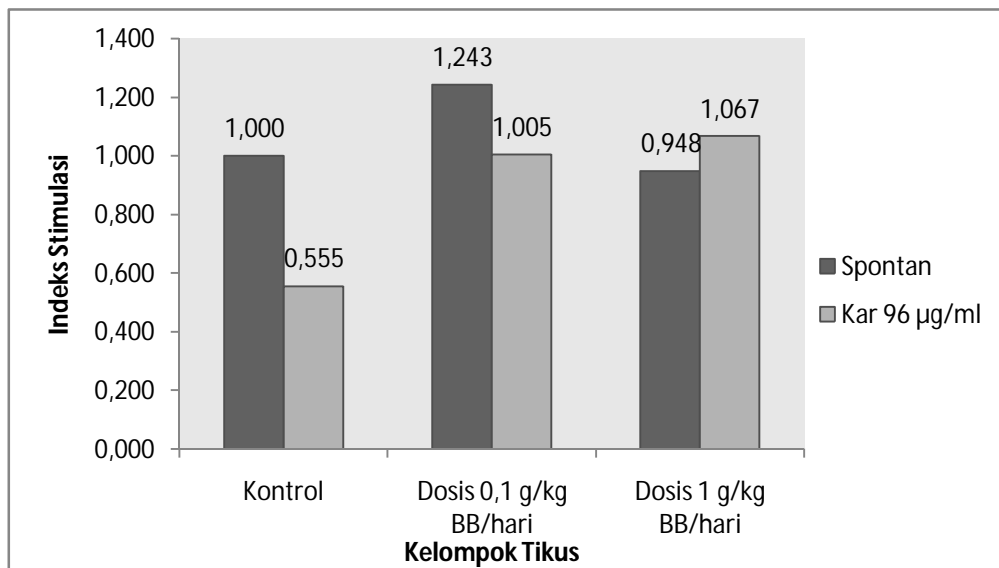
**Gambar 7.** Pengaruh penambahan karmoisin 48 µg/ml terhadap aktivitas proliferasi limfosit

Gambar 8 menunjukkan perbandingan antara nilai indeks stimulasi spontan dan indeks stimulasi pada paparan karmoisin 96 µg/ml. Kelompok tikus kontrol menunjukkan penurunan nilai indeks stimulasi dengan penurunan aktivitas proliferasi sebesar 44.47%. Kelompok tikus dosis 0.1 g/kg BB/hari juga menunjukkan penurunan nilai indeks stimulasi dengan penurunan aktivitas proliferasi sebesar 19.14%. Adapun pada kelompok tikus 1 g/kg BB/hari terjadi kenaikan nilai indeks stimulasi dengan kenaikan aktivitas proliferasi sebesar 12.53%. Hasil analisis statistik dengan uji T berpasangan terhadap indeks stimulasi spontan dan perlakuan karmoisin 96 µg/ml tertera pada Lampiran 12. Hasil analisis statistik yang telah dilakukan menunjukkan penurunan aktivitas proliferasi pada kelompok tikus kontrol dan dosis 0.1 g/kg BB/hari merupakan penurunan yang signifikan pada taraf kepercayaan 95%. Sementara itu, kenaikan aktivitas proliferasi pada kelompok tikus dosis 1 g/kg BB/hari merupakan kenaikan yang tidak signifikan pada taraf kepercayaan 95%.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

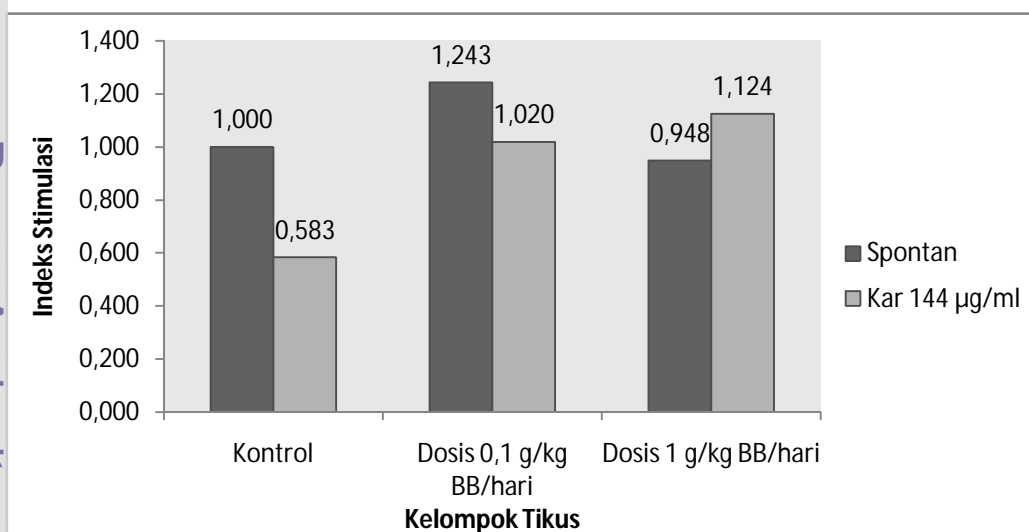
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Gambar 8. Pengaruh penambahan karmoisin 96 µg/ml terhadap aktivitas proliferasi limfosit

Gambar 9 menunjukkan perbandingan antara nilai indeks stimulasi spontan dan indeks stimulasi pada paparan karmoisin 144 µg/ml. Kelompok tikus kontrol menunjukkan penurunan nilai indeks stimulasi dengan penurunan aktivitas proliferasi sebesar 41.70%. Kelompok tikus dosis 0.1 g/kg BB/hari juga menunjukkan penurunan nilai indeks stimulasi dengan penurunan aktivitas proliferasi sebesar 17.97%. Adapun pada kelompok tikus 1 g/kg BB/hari terjadi kenaikan nilai indeks stimulasi dengan kenaikan aktivitas proliferasi sebesar 18.51%. Hasil analisis statistik dengan uji T berpasangan terhadap indeks stimulasi spontan dan perlakuan karmoisin 144 µg/ml tertera pada lampiran 13. Hasil analisis statistik yang telah dilakukan menunjukkan penurunan aktivitas proliferasi pada kelompok tikus kontrol merupakan penurunan yang signifikan pada taraf kepercayaan 95%. Adapun penurunan aktivitas proliferasi pada kelompok tikus dosis 0.1 g/kg BB/hari merupakan penurunan yang tidak signifikan pada taraf kepercayaan 95%. Sementara itu, kenaikan aktivitas proliferasi pada kelompok tikus dosis 1 g/kg BB/hari merupakan kenaikan yang signifikan pada taraf kepercayaan 95%.



Gambar 9. Pengaruh penambahan karmoisin 144 µg/ml terhadap aktivitas proliferasi limfosit

Pada ketiga nilai konsentrasi karmoisin yang diujikan, secara umum terlihat bahwa adanya paparan karmoisin menyebabkan penurunan aktivitas proliferasi secara signifikan pada kelompok tikus kontrol. Amin et al (2010) menyebutkan bahwa pada konsentrasi tinggi karmoisine dapat menginduksi stress oksidatif melalui pembentukan radikal bebas. Adanya stress oksidatif ini dapat merusak sel limfosit dan menghambat proliferasi. Tidak adanya mekanisme ataupun senyawa yang melindungi sel dari stress oksidatif ini menyebabkan aktivitas proliferasi limfosit pada kelompok tikus kontrol menurun cukup drastis hingga hampir 50%.

Sementara itu, pada kelompok tikus dosis 0.1 g/kg BB/hari, secara umum terjadi penurunan aktivitas proliferasi limfosit yang signifikan akibat adanya paparan karmoisin. Dengan demikian, pemberian ekstrak daun jelatang pada dosis 0.1 g/kg BB/hari tidak dapat menghambat efek toksik yang ditimbulkan karmoisin terhadap proliferasi limfosit tikus. Ekstrak daun jelatang yang diberikan pada dosis rendah diduga menyebabkan senyawa fenolik yang terserap oleh limfa tikus tidak cukup banyak sehingga efek antioksidan dari senyawa fenolik tersebut tidak maksimal. Adapun pada kelompok tikus dosis 1 g/kg BB/hari, aktivitas proliferasi meningkat secara signifikan pada ketiga konsentrasi paparan karmoisin yang diujikan. Pemberian ekstrak daun jelatang pada konsentrasi ini tidak hanya mampu menghambat efek toksik dari paparan karmoisin namun juga masih mampu menstimulasi proliferasi limfosit.

Daun jelatang sendiri diketahui memiliki kandungan komponen-komponen bioaktif yang memiliki aktivitas antioksidan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, Gulcin *et al.* (2004) menyimpulkan bahwa ekstrak air tanaman jelatang memiliki aktivitas antioksidan yang kuat terhadap berbagai system oksidatif secara *in vitro*. Beberapa mekanisme dari ekstrak air tanaman jelatang ini dapat disebabkan oleh kemampuan yang kuat untuk mendonasikan hidrogen, kemampuan mengkelat logam, dan kemampuannya secara efektif sebagai penangkap (*scavenger*) hidrogen peroksida, superoksida, dan radikal bebas. Aktivitas antioksidan ini dapat menanggulangi stress oksidatif yang diinduksi oleh adanya paparan senyawa karmoisin sehingga proliferasi limfosit tidak terhambat.

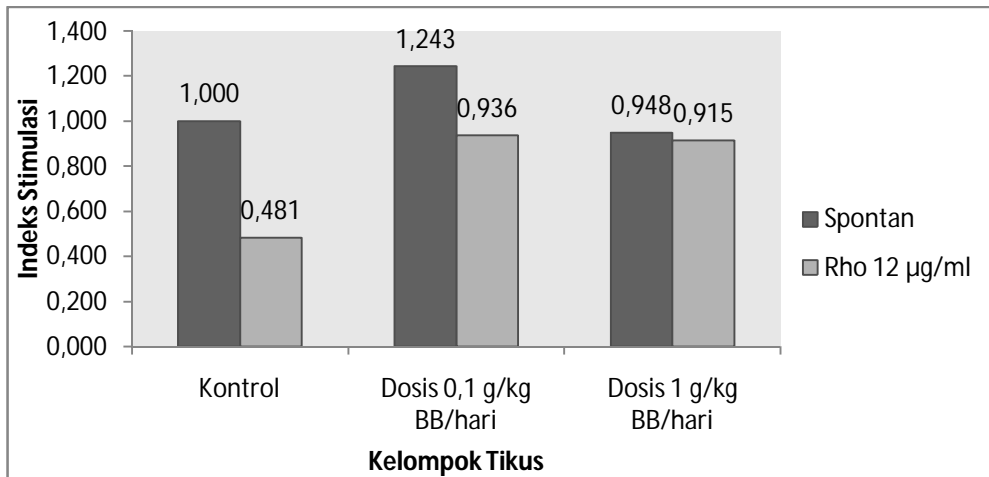
Pada penelitian ini juga digunakan senyawa rhodamin B yang ditambahkan ke dalam kultur sel pada konsentrasi 12 µg/ml, 24 µg/ml dan 36 µg/ml kultur. Tabel 10 menunjukkan % aktivitas proliferasi limfosit dengan perlakuan karmoisin pada setiap konsentrasi sedangkan Gambar 10 menunjukkan pengaruh paparan senyawa rhodamin B 12 µg/ml terhadap proliferasi limfosit pada masing-masing kelompok tikus. Kelompok tikus kontrol menunjukkan penurunan nilai indeks stimulasi dengan penurunan aktivitas proliferasi sebesar 51.86%. Kelompok tikus dosis 0.1 g/kg BB/hari juga menunjukkan penurunan nilai indeks stimulasi dengan penurunan aktivitas proliferasi sebesar 24.67%. Pada kelompok tikus 1 g/kg BB/hari juga terjadi penurunan nilai indeks stimulasi dengan penurunan aktivitas proliferasi sebesar 3.47%. Hasil analisis statistik dengan uji T berpasangan terhadap indeks stimulasi spontan dan perlakuan rhodamin B 12 µg/ml tertera pada lampiran 14. Hasil analisis statistik yang telah dilakukan menunjukkan penurunan aktivitas proliferasi pada kelompok tikus kontrol merupakan penurunan yang signifikan pada taraf kepercayaan 95%. Adapun penurunan aktivitas proliferasi pada kelompok tikus dosis 0.1 g/kg BB/hari merupakan penurunan yang signifikan pada taraf kepercayaan 95%. Sementara itu, penurunan aktivitas proliferasi pada kelompok tikus dosis 1 g/kg BB/hari merupakan penurunan yang tidak signifikan pada taraf kepercayaan 95%.

#### Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

**Tabel 10.** Nilai aktivitas proliferasi limfosit dengan perlakuan rhodamin B (%)

Perlakuan	Kelompok Tikus		
	Kontrol	Dosis 0,1 g/kg BB/hari	Dosis 1 g/kg BB/hari
Rho 12 µg/ml	-51,86	-24,67	-3,47
Rho 24 µg/ml	-49,60	-23,34	0,23
Rho 36 µg/ml	-47,80	-23,55	6,61



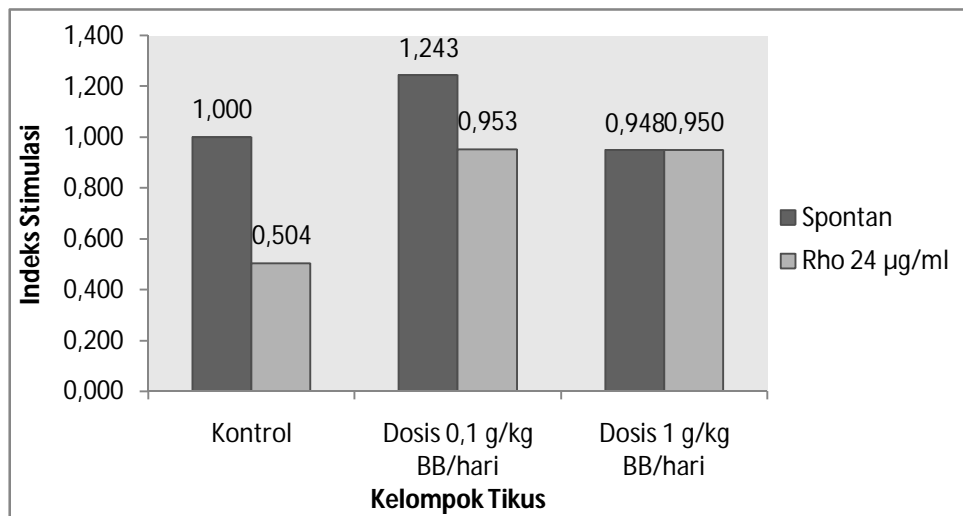
**Gambar 10.** Pengaruh penambahan rhodamin B 12 µg/ml terhadap aktivitas proliferasi limfosit

Gambar 11 menunjukkan pengaruh paparan senyawa rhodamin B 24 µg/ml terhadap proliferasi limfosit pada masing-masing kelompok tikus. Kelompok tikus kontrol menunjukkan penurunan nilai indeks stimulasi dengan penurunan aktivitas proliferasi sebesar 49.60%. Kelompok tikus dosis 0.1 g/kg BB/hari juga menunjukkan penurunan nilai indeks stimulasi dengan penurunan aktivitas proliferasi sebesar 23.34%. Pada kelompok tikus 1 g/kg BB/hari terjadi sedikit kenaikan nilai indeks stimulasi dengan peningkatan aktivitas proliferasi sebesar 0.23%. Hasil analisis statistik dengan uji T berpasangan terhadap indeks stimulasi spontan dan perlakuan rhodamin B 24 µg/ml tertera pada Lampiran 15. Hasil analisis statistik yang telah dilakukan menunjukkan penurunan aktivitas proliferasi pada kelompok tikus kontrol merupakan penurunan yang signifikan pada taraf kepercayaan 95%. Penurunan aktivitas proliferasi pada kelompok tikus dosis 0.1 g/kg BB/hari merupakan penurunan yang signifikan pada taraf kepercayaan 95%. Sementara itu, peningkatan aktivitas proliferasi pada kelompok tikus dosis 1 g/kg BB/hari merupakan peningkatan yang tidak signifikan pada taraf kepercayaan 95%.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

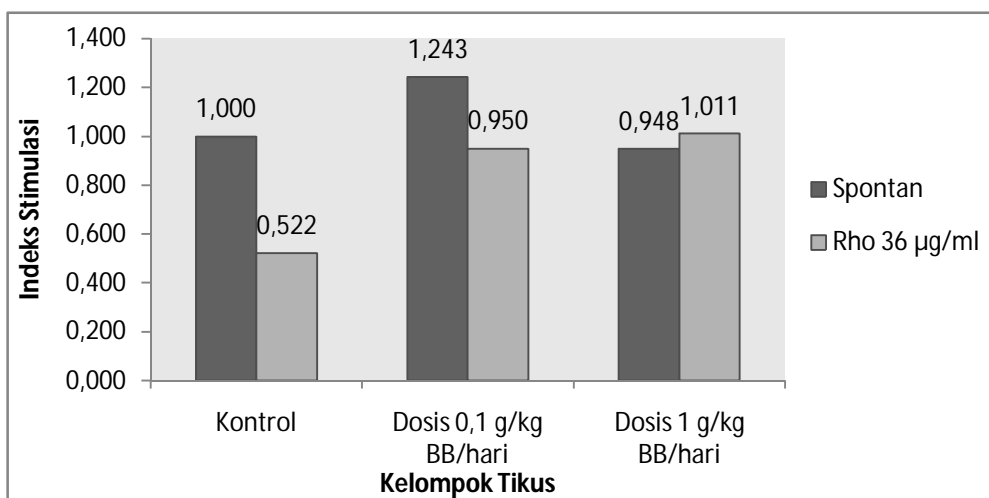
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



**Gambar 11.** Pengaruh penambahan rhodamin B 24 µg/ml terhadap aktivitas proliferasi limfosit

Gambar 12 menunjukkan pengaruh paparan senyawa rhodamin B 36 µg/ml terhadap proliferasi limfosit pada masing-masing kelompok tikus. Kelompok tikus kontrol menunjukkan penurunan nilai indeks stimulasi dengan penurunan aktivitas proliferasi sebesar 47.80%. Kelompok tikus dosis 0.1 g/kg BB/hari juga menunjukkan penurunan nilai indeks stimulasi dengan penurunan aktivitas proliferasi sebesar 23.55%. Pada kelompok tikus 1 g/kg BB/hari terjadi kenaikan nilai indeks stimulasi dengan peningkatan aktivitas proliferasi sebesar 6.61%. Hasil analisis statistik dengan uji T berpasangan terhadap indeks stimulasi spontan dan perlakuan rhodamin B 36 µg/ml tertera pada lampiran 16. Hasil analisis statistik yang telah dilakukan menunjukkan penurunan aktivitas proliferasi pada kelompok tikus kontrol merupakan penurunan yang signifikan pada taraf kepercayaan 95%. Penurunan aktivitas proliferasi pada kelompok tikus dosis 0.1 g/kg BB/hari merupakan penurunan yang signifikan pada taraf kepercayaan 95%. Sementara itu, peningkatan aktivitas proliferasi pada kelompok tikus dosis 1 g/kg BB/hari merupakan peningkatan yang tidak signifikan pada taraf kepercayaan 95%.



**Gambar 12.** Pengaruh penambahan rhodamin 36 µg/ml terhadap aktivitas proliferasi limfosit

Berdasarkan hasil penelitian, paparan rhodamin B baik pada konsentrasi 12 µg/ml, 24 µg/ml ataupun 36 µg/ml menyebabkan penurunan aktivitas proliferasi limfosit secara signifikan pada kelompok tikus kontrol. Kelompok tikus dosis 0.1 g/kg BB/hari secara umum juga mengalami penurunan aktivitas proliferasi secara signifikan. Namun lain halnya dengan kelompok tikus dosis 1 g/kg BB/hari, adanya paparan rhodamin B tidak mempengaruhi aktivitas proliferasi secara signifikan. Dengan kata lain, pada kelompok ini peningkatan atau penurunan aktivitas proliferasi yang terjadi bersifat tidak signifikan.

Penurunan aktivitas proliferasi pada limfosit yang terpapar rhodamin B diduga terjadi karena banyaknya sel yang mati. Berdasarkan studi yang dilakukan oleh Kaji *et al.* (1991), rhodamin B pada konsentrasi 25 µg/ml dan konsentrasi yang lebih tinggi, secara signifikan menurunkan jumlah sel KD (fibroblast) bibir manusia setelah dikultur selama 72 jam. Dan pada konsentrasi 50 µg/ml, rhodamin B mengakibatkan perubahan degeneratif pada nukleus dan bentuk sel menjadi tidak biasa. Selain itu, Pih dan Juli (2000) menyebutkan bahwa rhodamin B dapat menyebabkan terjadinya perubahan bentuk dan organisasi sel dalam jaringan hati mencit dari normal menjadi patologis, yaitu perubahan hati menjadi nekrosis dan jaringan di sekitarnya mengalami desintegrasi atau disorganisasi. Lockshin dan Zakeri (2004) menyebutkan bahwa nekrosis merupakan proses kematian sel yang tidak terkontrol dan terjadi ketika sel tidak mampu mengikuti jalur apoptosis (kematian sel yang terprogram). Nekrosis dapat terjadi ketika sel secara tiba-tiba mengalami stress yang ekstrim, seperti perubahan drastis pada konsentrasi ion atau pH dari medium ekstraseluler, hilangnya sumber energi secara tiba-tiba, ataupun penurunan atau peningkatan suhu yang menyebabkan keadaan homeostasis tidak mungkin dijaga. Keberadaan rhodamin B dalam kultur sel diduga mendorong sel limfosit untuk mengalami nekrosis.

Bagi organisme, selalu lebih baik untuk mengontrol kematian sel untuk menghindari lolosnya molekul-molekul destruktif seperti protease, sitokin yang memicu inflamasi serta organisme invasif seperti virus (Lockshin dan Zakeri 2004). Dengan demikian, ketika sel mengikuti jalur kematian sel yang tidak terkontrol (nekrosis), molekul-molekul destruktif ini akan terlepas dan menyerang sel-sel lain di sekitar sel yang mengalami nekrosis. Hal ini menyebabkan efek kerusakan atau kematian sel semakin meluas. Ketika terjadi pada sistem kultur sel limfosit, hal ini akan menyebabkan penghambatan aktivitas proliferasi yang cukup besar. Seperti yang terjadi pada kelompok tikus kontrol yang mengalami penurunan aktivitas proliferasi hingga lebih dari 50%.

Pada kelompok tikus dosis 0.1 g/kg BB/hari, efek penurunan aktivitas proliferasi karena paparan rhodamin B tidak sebesar kelompok tikus kontrol, yaitu hanya sekitar 20-25%. Hal ini berarti bahwa pemberian ekstrak daun jelatang pada dosis 0.1 g/kg BB/hari memiliki kemampuan dalam menghambat efek toksik yang ditimbulkan oleh rhodamin B terhadap aktivitas proliferasi. Namun, pada dosis ini efek penghambatan yang ditimbulkan tidak cukup besar karena diduga komponen-komponen bioaktif yang terserap tidak cukup banyak untuk memberikan efek yang maksimal. Terbukti pada pemberian ekstrak daun jelatang dengan dosis yang lebih tinggi, yaitu 1 g/kg BB/hari, adanya paparan rhodamin B secara umum tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap aktivitas proliferasi sel limfosit tikus.