

**PENGARUH PEMBERIAN KURKUMIN TERHADAP  
HITUNG LIMFOSIT DARAH TEPI PADA MENCIT *Balb/C*  
MODEL SEPSIS PAPARAN *CECAL INOCULUM***

**SKRIPSI**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**TAUFIQOH NUR KHAQIQI  
G 0006161**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
SURAKARTA  
2010**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

**Skripsi dengan judul : Pengaruh Pemberian Kurkumin terhadap Hitung  
Limfosit Darah Tepi pada Mencit *Balb/C* Model Sepsis Paparan *Cecal*  
*Inoculum***

Taufiqoh Nur Khaqiqi, NIM/Semester : G0006161/VIII, Tahun : 2010

Telah diuji dan sudah disahkan di hadapan Dewan Penguji Skripsi  
Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta  
Pada Hari Kamis, Tanggal 25 Maret 2010

**Pembimbing Utama**

Nama : Sri Hartati, Dra., Apt., SU .....  
NIP : 19490709 197903 2 001

**Pembimbing Pendamping**

Nama : Sarsono, Drs., M.Si .....  
NIP : 19581127 198601 1 001

**Penguji Utama**

Nama : Diding Heri Prasetyo, dr., M.Si .....  
NIP : 19680429 199903 1 001

**Anggota Penguji**

Nama : Ipop Syarifah, Dra., M.Si .....  
NIP : 19560328 198503 2 001

**Surakarta,**

**Ketua Tim Skripsi**

**Dekan FK UNS**

**Sri Wahjono, dr., M. Kes  
NIP : 19450824 197310 1 001**

**Prof. Dr. H. A. A. Subiyanto, dr., MS  
NIP : 19481107 197310 1 003**

## ABSTRAK

**Taufiqoh Nur Khaqiqi**, G0006161, 2010, PENGARUH PEMBERIAN KURKUMIN TERHADAP HITUNG LIMFOSIT DARAH TEPI PADA MENCIT *Balb/C* MODEL SEPSIS PAPAN *CECAL INOCULUM*, FAKULTAS KEDOKTERAN, UNIVERSITAS SEBELAS MARET, SURAKARTA.

**Tujuan** : Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kurkumin terhadap hitung limfosit darah tepi pada mencit *Balb/C* model sepsis paparan cecal inoculum

**Metode** : Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental murni dengan *post test only control group design*. Hewan uji yang digunakan adalah 27 ekor mencit *Balb/C* jantan, dengan berat 15-30 gram dan berumur 4-6 minggu. Mencit *Balb/C* dibagi dalam 3 kelompok, yang masing-masing terdiri dari 9 ekor. Kelompok K sebagai kontrol, kelompok K1 adalah model sepsis, dan kelompok K2 adalah model sepsis dengan pemberian kurkumin sebesar 1,3 mg *peroral*. Pada model sepsis digunakan *cecal inoculum* dengan dosis 0,1 ml *intraperitoneal*. Perlakuan dimulai hari ke-0 sampai hari ke-7. Pada hari ke-8 mencit diambil darahnya melalui sinus orbitalis untuk dilakukan hitung limfosit darah tepi menggunakan metode bilik ukur. Data dianalisis secara statistik dengan Uji Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan Uji Mann-Whitney, menggunakan program *SPSS for Windows Release 15*.

**Hasil** : Hasil penelitian menunjukkan rata-rata hitung limfosit untuk kelompok K  $6.094 \pm 923,51$  sel/mm<sup>3</sup>, K1  $6.056 \pm 119,43$  sel/mm<sup>3</sup>, dan K2  $5.747 \pm 1452,81$  sel/mm<sup>3</sup>. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan ( $p = 0,865$ ) pada seluruh kelompok perlakuan.

**Simpulan** : Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa kurkumin tidak berpengaruh terhadap jumlah limfosit darah tepi mencit *Balb/C* paparan *cecal inoculum*.

---

**Kata kunci** : kurkumin, sepsis, limfosit

## ABSTRACT

**Taufiqoh Nur Khaqiqi, G0006161, 2010, THE EFFECT OF CURCUMIN ON LYMPHOCYTE COUNT AT PERIPHERAL BLOOD IN Balb/C MICE INDUCED CECAL INOCULUM, MEDICAL FACULTY, SEBELAS MARET UNIVERSITY, SURAKARTA.**

**Objective :** This research aims for finding out the effect of curcumin on lymphocyte count at peripheral blood in Balb/C mice with sepsis induced cecal inoculum.

**Methods :** The research is a laboratory experimental study using post test only control group design. The research object is a number of 30 male Balb/C mice, 15-30 grams of weight and aged between 4-6 weeks. They were divided into three treatment groups, each consist of nine mice. K group was a control, K1 was a sepsis model, and K2 was a sepsis model given 1,3 mg curcumin by oral. Septic animals at 0 to 7 days received 0,1 ml cecal inoculum intraperitoneally (i.p). On day 8 blood samples of subjects were taken from sinus orbitalis for lymphocyte counting with chamber counting method. Data was analyzed with Kruskal-Wallis and continued by Mann-Whitney and performed by SPSS for Windows Release 15.

**Results :** The data showed that lymphocyte count rate is detailed as following group K  $6.094 \pm 923,51 \text{ cell/mm}^3$ , K1  $6.056 \pm 119,43 \text{ cell/mm}^3$ , dan K2  $5.747 \pm 1452,81 \text{ cell/mm}^3$ . Results of statistic calculation using Kruskal-Wallis is not significantly different among group K, K1, and K2 ( $p = 0,865$ ).

**Conclusion :** This experiment concludes that curcumin does not have any effect in lymphocyte count at peripheral blood in Balb/C mice induced by cecal inoculum.

---

**Keywords :** curcumin, sepsis, lymphocyte

## PRAKATA

Alhamdulillah, puji syukur ke hadirat Allah 'Azza wa Jalla yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi dengan judul "Pengaruh Pemberian Kurkumin terhadap Hitung Limfosit Darah Tepi pada Mencit *Balb/C* Model Sepsis Paparan *Cecal Inoculum*".

Dalam penyusunan skripsi ini penulis tidak lepas dari berbagai hambatan dan kesulitan. Namun berkat bimbingan dan bantuan berbagai pihak, penulis dapat menyelesaikannya. Untuk itu penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. H. A. A. Subijanto, dr., MS selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Sri Wahjono, dr., M. Kes, DAF (K) selaku Ketua Tim Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
3. Sri Hartati, Dra., Apt., SU selaku Pembimbing Utama yang dengan penuh kesabaran meluangkan waktunya, bimbingan, saran, koreksi dan nasihat kepada penulis.
4. Sarsono, Drs., M.Si. selaku Pembimbing Pendamping yang telah memberikan saran, bimbingan, dan koreksi kepada penulis.
5. Diding Heri Prasetyo, dr., MSi. selaku Penguji Utama yang telah berkenan menguji sekaligus memberikan saran dan juga koreksi bagi penulis.
6. Ipop Syarifah, Dra., MSi selaku Penguji Pendamping yang telah berkenan menguji dan memberikan saran yang berarti bagi penulisan skripsi ini.
7. Segenap staf skripsi, staf Laboratorium Biokimia FK UNS dan staf Laboratorium Histologi FK UNS .

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi ilmu kedokteran pada khususnya dan masyarakat pada umumnya.

Surakarta, Mei 2010

Penulis

**DAFTAR ISI**

PRAKATA .....	v
DAFTAR ISI .....	vi
DAFTAR GAMBAR .....	viii
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR LAMPIRAN .....	x
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang Masalah .....	1
B. Perumusan Masalah .....	3
C. Tujuan Penelitian .....	3
D. Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB II LANDASAN TEORI .....</b>	<b>5</b>
A. Tinjauan Pustaka .....	5
1. Sepsis .....	5
2. Kurkumin .....	10
3. Limfosit .....	13
a. Limfosit T .....	15
b. Limfosit B .....	16
B. Kerangka Pemikiran .....	18
1. Kerangka Pemikiran Konseptual .....	18
2. Kerangka Pemikiran Teoritis .....	19
C. Hipotesis.....	20

BAB III METODE PENELITIAN .....	21
A. Jenis Penelitian .....	21
B. Lokasi Penelitian .....	21
C. Subjek Penelitian .....	21
D. Teknik Sampling .....	22
E. Variabel Penelitian .....	22
F. Skala Variabel .....	22
G. Definisi Operasional Variabel .....	23
H. Pembuatan Mencit Model Sepsis.....	24
I. Rancangan Penelitian .....	25
J. Alat dan Bahan .....	25
K. Cara Kerja .....	26
L. Analisis Data .....	28
BAB IV HASIL PENELITIAN .....	29
A. Data Hasil Penelitian .....	29
B. Analisis Hasil .....	30
BAB V PEMBAHASAN .....	32
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN .....	37
A. Simpulan .....	37
B. Saran .....	37
DAFTAR PUSTAKA .....	38
LAMPIRAN	

## DAFTAR GAMBAR

- Gambar 2.1.** Struktur kimia kurkumin
- Gambar 3.1.** Limfosit
- Gambar 3.2.** Skema rancangan penelitian
- Gambar 4.1.** Diagram rata-rata hitung limfosit darah tepi mencit setelah perlakuan





## DAFTAR TABEL

**Tabel 4.1.** Rata-rata persentase hitung limfosit darah tepi masing-masing kelompok hewan coba

**Tabel 4.2.** Ringkasan hasil uji Mann-Whitney ( $\alpha = 0,05$ ) antar kelompok



## DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1.** Jadwal Penelitian
- Lampiran 2.** Tabel Konversi Dosis Manusia Dan Hewan
- Lampiran 3.** Daftar Volume Maksimum Larutan Obat yang dapat Diberikan pada Berbagai Hewan
- Lampiran 4.** Tabel Penghitungan Rata-Rata Hitung Limfosit Hewan Coba
- Lampiran 5.** Tabel Hasil Uji Normalitas Data
- Lampiran 6.** Tabel Hasil Transformasi Data
- Lampiran 7.** Tabel Uji Normalitas Data Hasil Transformasi
- Lampiran 8.** Tabel Hasil Uji Kruskal-Wallis
- Lampiran 9.** Tabel Hasil Uji Mann-Whitney
- Lampiran 10.** Foto Alat dan Bahan yang Digunakan dalam Penelitian
- Lampiran 11.** Foto Mencit dan Kegiatan Penelitian
- Lampiran 12.** Ethical Klirens
- Lampiran 13.** Lembar Hitung Limfosit dari Budi Sehat

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. Latar Belakang Masalah

Sepsis adalah penyakit yang sering terjadi dan merupakan salah satu penyebab utama kematian pasien di rumah sakit (Ferrer, 2009) yang kejadiannya terus meningkat selama 20 tahun terakhir (Chopra dan Sharma, 2007). Sepsis banyak dijumpai pada penderita rawat inap rumah sakit di Indonesia dan secara keseluruhan lebih dari 25% penderita sepsis meninggal (Anonim, 2002). Berdasarkan penelitian yang dilakukan selama bulan Januari-Desember 2007 di bagian PICU/NICU di Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Moewardi Surakarta, angka kejadian sepsis 33,5% dengan angka mortalitas sebesar 50,2% (Pudjiastuti, 2008).

Sepsis paling banyak disebabkan oleh bakteri gram negatif dengan persentase 60-70% kasus (Guntur, 2006). Bakteri gram negatif yang sering menyebabkan sepsis antara lain *E. coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Enterobacter spp.* dan *P. aeruginosa* (Anonim, 2002). *Staphylococci*, *Pneumonococci*, *Streptococci* dan bakteri gram positif lainnya jarang menyebabkan sepsis dengan angka kejadian 20-40% dari keseluruhan kasus. Jamur oportunistik dan protozoa dapat menyebabkan sepsis meskipun kasusnya jarang ditemukan (Guntur, 2006).

Komponen utama dalam sepsis adalah mekanisme inflamasi yang memegang peranan penting dalam perubahan fisiologi tubuh dan dikenal

dengan SIRS (*Systemic Inflammation Response Syndrome*). Inflamasi merupakan respon terhadap benda asing yang menyerang tubuh seperti pada kejadian infeksi. Apabila respon inflamasi berhasil mengeliminasi penyebaran mikroorganisme maka tubuh tidak akan mengalami kerusakan.

Sepsis terjadi bila respon host terhadap infeksi meningkat tapi kemudian menyimpang sehingga menimbulkan efek merugikan dan merusak jaringan tubuh (Abbas dan Litchman, 2005). Sepsis ditandai dengan meningkatnya produksi molekul proinflamasi, sebaliknya terjadi penurunan sitokin antiinflamasi. Meningkatnya sitokin proinflamasi adalah hasil dari aktivasi *nuclear factor- $\kappa$ B* (NF- $\kappa$ B). Hal ini akan menyebabkan aktivasi respon sistemik terutama pada paru, hati, ginjal, usus, dan organ lainnya, mempengaruhi permeabilitas vaskuler dan menginduksi perubahan metabolik sehingga terjadi apoptosis maupun nekrosis jaringan, *multiple organ failure* (MOF), syok septik dan kematian (Elena *et al.*, 2006; Guntur, 2006). Dalam sistem hematologi terjadi perubahan berbagai komponen darah salah satunya adalah perubahan fungsi leukosit (Gao *et al.*, 2008). Perubahan ini dimulai dari peningkatan jumlah limfosit pada sepsis fase awal dan penurunan jumlah limfosit pada sepsis fase akhir, hingga terjadi apoptosis limfosit. Proses patologik yang utama pada sepsis adalah apoptosis sel-sel sistem imun termasuk limfosit dan sel dendrit (Doreen *et al.*, 2005; Hotchkiss *et al.*, 1999).

Pengobatan terhadap sepsis terutama didasarkan pada pemberian antibiotik, pengembalian perfusi jaringan dan terapi cairan untuk mencegah disfungsi organ (Oscar *et al.*, 2006; Djoko, 2006). Konsep modulasi respon

inflamasi sistemik menuju sepsis berat menyebabkan banyaknya obat-obatan antiinflamasi yang digunakan dalam uji coba klinis (Guntur, 2008). Salah satu agen antiinflamasi adalah kurkumin (Begum *et al.*, 2008; Akpolat, 2008; Wang *et al.*, 2009). Kurkumin juga dipercaya sebagai antimikroba, antitumor, dan antioksidan (Weir *et al.*, 2007; Takahashi, 2007). Kurkumin dapat menurunkan ekspresi kemokin, berpengaruh terhadap reaksi kinase seperti MAP kinase. Lebih jauh lagi, kurkumin dilaporkan dapat menghambat aktivitas NF- $\kappa$ B sebagai faktor transkripsi (Takahashi, 2007). Penghambatan NF- $\kappa$ B dan sitokin proinflamasi oleh kurkumin melalui mekanisme penghambatan terhadap aktivitas kinase faktor I- $\kappa$ B (Kohli *et al.*, 2005).

## **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

“Adakah pengaruh pemberian kurkumin terhadap hitung limfosit darah tepi pada mencit *Balb/C* model sepsis paparan *cecal inoculum*?”

## **C. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kurkumin terhadap hitung limfosit darah tepi pada mencit *Balb/C* model sepsis paparan *cecal inoculum*.

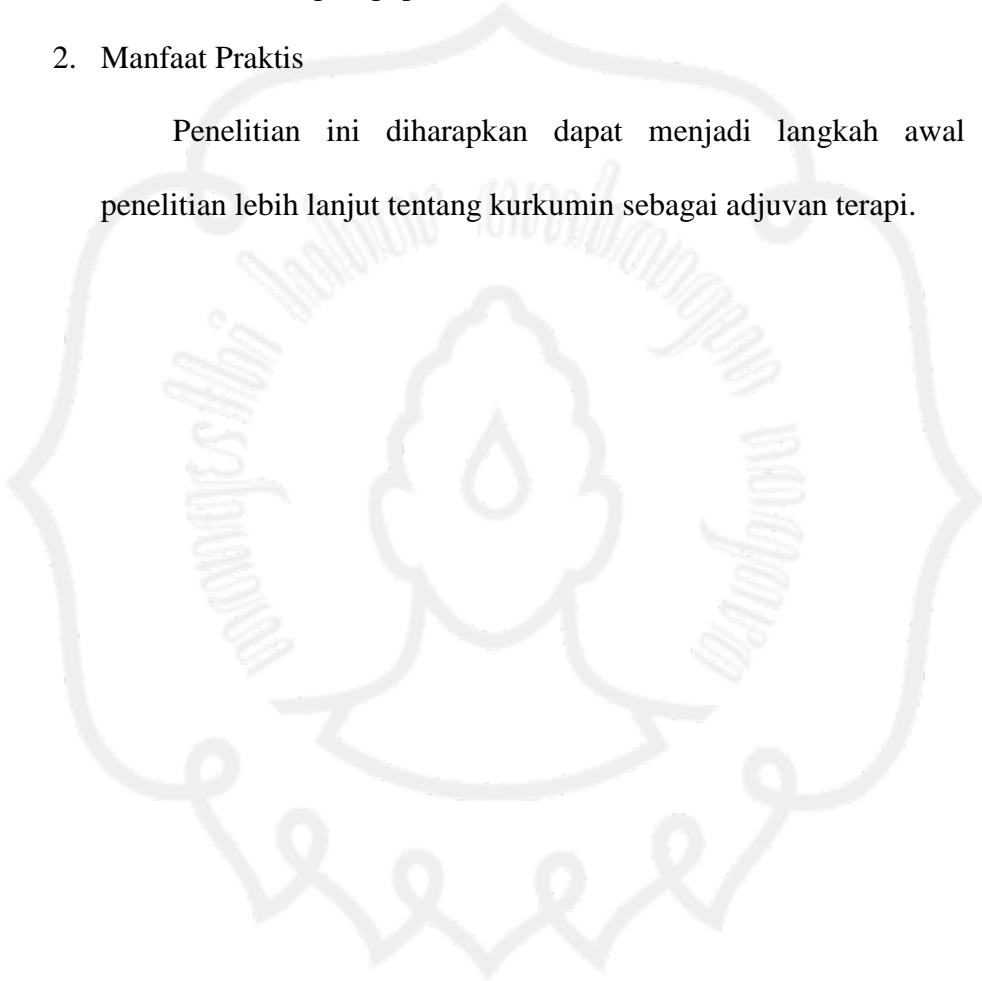
## D. Manfaat Penelitian

### 1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan tentang pengaruh kurkumin terhadap hitung limfosit darah tepi pada mencit *Balb/C* model sepsis paparan *cecal inoculum*.

### 2. Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi langkah awal untuk penelitian lebih lanjut tentang kurkumin sebagai adjuvan terapi.



## BAB II

### LANDASAN TEORI

#### A. Tinjauan Pustaka

##### 1. Sepsis

Sepsis adalah suatu sindrom dengan manifestasi sistemik disertai dengan adanya dan bertahannya mikroorganisme patogen atau toksinnya dalam darah (Dorland, 2006), ditandai dengan peningkatan suhu  $> 38^{\circ}\text{C}$  atau  $< 36^{\circ}\text{C}$ , denyut jantung  $> 90$  kali permenit, respirasi  $> 20$  kali permenit atau  $\text{Pa CO}_2 < 32$  mmHg, leukositosis ( $> 12000/\text{mm}^3$ ) atau leukopenia ( $< 4000/\text{mm}^3$ ) dengan atau tanpa ditemukannya bakteri dalam darah (Guntur, 2006).

Berikut ini adalah terminologi dan beberapa pengertian yang berhubungan dengan sepsis:

- a. Infeksi, proses patologik berupa respon inflamasi yang disebabkan invasi mikroorganisme ke dalam jaringan tubuh yang seharusnya steril.
- b. *Systemic Inflammatory Respons Syndrome*, reaksi inflamasi masif akibat lepasnya berbagai mediator secara sistemik dan dapat terjadi disfungsi organ dengan gambaran klinis:
  - 1) temperatur  $> 38,3^{\circ}\text{C}$  atau  $< 35,6^{\circ}\text{C}$
  - 2) denyut jantung  $> 90$  kali permenit
  - 3) frekuensi napas  $> 20$  kali permenit atau  $\text{Pa CO}_2 < 2$  torr ( $< 4,3$  kPa)

- 4) hitung leukosit  $> 12.000 \text{ sel/mm}^3$  atau  $< 4000 \text{ sel/mm}^3$  atau ditemukan  $> 10\%$  sel immatur
- c. Sepsis, *SIRS* yang disebabkan oleh infeksi.
- d. Sepsis berat (*severe sepsis*), sepsis disertai satu disfungsi organ.
- e. Syok septik, sepsis dengan hipotensi walau sudah dilakukan resusitasi cairan yang adekuat, tetapi masih didapatkan gangguan perfusi jaringan atau sepanjang penderita menunjukkan perfusi yang abnormal.

(Eny, 2004; Gao *et al.*, 2008)

Sepsis paling banyak disebabkan oleh bakteri gram negatif dengan persentase 60%-70% kasus. Bakteri ini mengeluarkan endotoksin atau lipopolisakarida (LPS) yang merupakan glikoprotein kompleks di membran terluar bakteri gram negatif (Guntur, 2006). Sepsis juga disebabkan oleh bakteri gram positif yang mengeluarkan eksotoksin, jamur oportunistik, virus, dan protozoa (Anonim, 2002). Eksotoksin, virus, dan parasit berperan sebagai superantigen. Setelah difagosit oleh monosit atau makrofag yang berperan sebagai *Antigen Processing Cell*, kemudian ditampilkan sebagai *Antigen Presenting Cell* (APC). Antigen ini membawa muatan polipeptida spesifik yang berasal dari *Major Histocompatibility Complex* (MHC). Antigen yang bermuatan peptida MHC kelas I akan berikatan dengan CD4 dengan perantaraan TCR (*T cell Receptor*) (Guntur, 2006).



Sepsis ditandai dengan meningkatnya produksi molekul proinflamasi antara lain *Tumor Necrosis Factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ), IL-1, IL-6, IL-8, enzim lisosom, radikal bebas superoksida, substansi vasoaktif seperti *Platelet Activating Factor* (PAF), *Tissue Factor* (TF), dan *Plasminogen Activator Inhibitor-1* (PAI-1). Sebaliknya terjadi penurunan sitokin antiinflamasi, seperti IL-1 reseptor antagonis (IL-1ra), IL-4, dan IL-10. Ketidakseimbangan sitokin proinflamasi dan antiinflamasi merupakan karakteristik dalam sepsis. Meningkatnya sitokin inflamasi adalah hasil dari aktivasi NF- $\kappa$ B dan akan menyebabkan aktivasi respon sistemik terutama pada paru, hati, ginjal, usus, dan organ lainnya, mempengaruhi permeabilitas vaskuler dan menginduksi perubahan metabolik sehingga terjadi apoptosis maupun nekrosis jaringan, *multiple organ failure* (MOF), syok septik dan kematian (Elena *et al.*, 2006; Guntur, 2006). NF- $\kappa$ B berperan penting dalam patofisiologi dari penyakit-penyakit kritis dengan mengatur ekspresi gen (sitokin, kemokin, reseptor, dll) kemudian bersama-sama menentukan respon host (Clark dan Coopersmith, 2007). NF- $\kappa$ B mempunyai fungsi proapoptosis dan antiapoptosis yang tergantung pada stimuli dan jenis selnya (Li *et al.*, 2001).

Pada kejadian sepsis rasio TNF dan IL-10 menurun sebagai kompensasi respon inflamasi. Hal ini terlihat pada monosit dan limfosit T (Gao *et al.*, 2008). Limfosit T bereaksi terhadap sepsis dengan mengeluarkan substansi dari Th1 yang berfungsi sebagai imunomodulator yaitu IFN- $\gamma$ , IL-2, dan M-CSF (*Macrophag Colony Stimulating Factor*).

Limfosit Th2 akan mengekspresikan IL-4, IL-5, IL-6, dan IL-10. Antibodi tersebut menginduksi aktivasi dari sel NK (*Natural Killer*), yang berperan dalam eliminasi mikroorganisme dan kejadian inflamasi. IFN- $\gamma$  merangsang makrofag mengeluarkan IL-1 $\beta$  dan TNF- $\alpha$ . Tingkat IL-1 $\beta$  dan TNF- $\alpha$  berkorelasi dengan keparahan penyakit dan kematian. IL-1 $\beta$  sebagai imunoregulator utama juga mempunyai efek pada sel endotelial termasuk pembentukan prostaglandin E2 dan merangsang *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1). Kemudian ICAM-1 akan menyebabkan adhesi neutrofil yang tersensitisasi *granulocyte-macrophage colony stimulating factor* (GM-CSF) (Guntur, 2006).

Respon imun *innate* terhadap infeksi menimbulkan banyak gejala pada sepsis, termasuk sistem hemodinamik dan kerusakan organ (Aird, 2003; Chopra dan Sharma, 2007). Peningkatan mediator inflamasi mengaktifasi respon sistemik yang dikenal dengan nama *SIRS*. Sepsis adalah *SIRS* dengan infeksi (Guntur, 2006; Kerschen *et al.*, 2007; Gao *et al.*, 2008). Sistem imun ini mengaktifasi protein fase akut dan dihubungkan dengan sistem komplemen dan koagulasi yang menyebabkan kerusakan vaskular (Aird, 2003). LPS bakteri gram negatif akan diikat oleh *LPS-binding protein* (LBP). Ikatan LPS-LBP akan menuju reseptor CD14 yang berada pada permukaan sel. Kemudian akan berinteraksi dengan TLR4 untuk menginduksi NF- $\kappa$ B sebagai sinyal serta transkripsi sitokin proinflamasi (Hongwei *et al.*, 2005; Kristine *et al.*, 2007).

Sepsis menginduksi apoptosis limfosit yang luas dan memegang peranan penting terhadap immunosupresi dan kematian. Apoptosis adalah proses kematian yang terprogram untuk membatasi kerusakan jaringan. Mekanisme di dalamnya termasuk perubahan morfogenesis, *remodelling* jaringan, dan juga berhubungan dengan resolusi sistem imun (Wesche *et al.*, 2005). Mediator apoptosis tersebut adalah *cystein aspartate specific proteases (caspase)* yang akan membelah dan menghancurkan sejumlah struktur protein dan mengaktifkan enzim tersembunyi yang membongkar asam nukleat (*caspase activated DNAase*) (Strasser *et al.*, 2008).

Sepsis dibagi menjadi dua fase yaitu sepsis fase awal dan sepsis fase lanjut. Pada sepsis fase awal (fase hiperdinamik) ditandai dengan meningkatnya pompa jantung, meningkatnya perfusi jaringan, dan menurunnya resistensi pembuluh darah. Semua respon ini diperankan oleh mediator proinflamasi. Pada sepsis fase lanjut (fase hipodinamik) ditandai dengan menurunnya aliran darah vaskuler dan perifer sehingga terjadi kegagalan sistem imun untuk mempresentasikan antigen, kehilangan fungsi fagositosis, dan terutama penurunan jumlah limfosit sebagai pertahanan tubuh yang spesifik (Wesche *et al.*, 2005). Pada sepsis awal (4 jam setelah pemaparan mikroba) apoptosis limfosit pada timus terjadi. Sedangkan setelah 12 jam akan terlihat apoptosis limfosit pada timus, lien, dan *gut associated lymphoid tissues (GALT)* (Chung *et al.*, 2000). Menurut Hotchkiss (1999) berdasarkan penelitian pada mencit model sepsis menyatakan bahwa terjadi peningkatan apoptosis limfosit pada lien,

yang akan meningkatkan resiko mortalitas. Apoptosis limfosit mungkin dihubungkan dengan disfungsi sistem imun akibat penurunan proliferasi dan kemampuannya dalam melepaskan interferon- $\gamma$  (Wesche *et al.*, 2005).

## 2. Kurkumin

Kurkumin adalah salah satu senyawa metabolit sekunder yang banyak terdapat pada tanaman famili *Zingiberaceae*, khususnya kunyit dan temulawak. Kurkumin (*17-bis (4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione*) diekstraksi dari kunyit (*Curcuma longa* L.) dan biasa digunakan sebagai bumbu dan pewarna makanan (Takahashi *et al.*, 2007; Akpolat *et al.*, 2008). Kunyit merupakan tanaman yang cukup dikenal masyarakat.

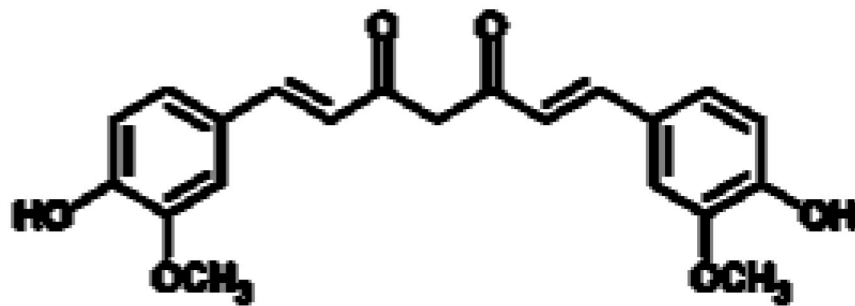
### Taksonomi Tanaman

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Liliopsida</i>
Subkelas	: <i>Zingiberidae</i>
Ordo	: <i>Zingiberales</i>
Familia	: <i>Zingiberaceae</i>
Genus	: <i>Curcuma</i>
Jenis	: <i>Curcuma longa</i> L.

( Sinaga, 2002)

Kunyit mempunyai tiga macam kurkuminoid yaitu kurkumin, *desmethoxycurcumin* dan *bis-desmethoxycurcumin*. Kurkuminoid adalah

kelompok senyawa fenolik yang terkandung dalam rimpang famili *Zingiberaceae*. Kurkuminoid bermanfaat untuk mencegah timbulnya infeksi berbagai penyakit. Kurkumin adalah kurkuminoid utama yang berwarna kuning. Kandungan kurkumin dalam kunyit berkisar 3-4% (Joe *et al.*, 2004). Kurkumin tidak dapat larut dalam air, tetapi larut dalam etanol dan aseton (Joe *et al.*, 2004; Chattopadhyay *et al.*, 2004).



**Gambar 2.1.** Struktur kimia kurkumin (Wahyuni, 2004)

Kurkumin mempunyai efek antiinflamasi, antimikroba, antitumor, dan antioksidan (Weir *et al.*, 2007; Takahashi *et al.*, 2007; Begum *et al.*, 2008; Akpolat *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2009). Efek antiproliferatif kurkumin adalah akibat induksi apoptosis pada *mitochondria-dependent manner* melalui aktivasi *caspase 3*. Selain itu, kurkumin dapat mempengaruhi proliferasi seluler melalui mekanisme modulasi sinyal dari berbagai jalur sel termasuk NF- $\kappa$ B, reseptor kinase pada *growth factor* dan mitogen yang diaktivasi kinase (Santel *et al.*, 2008). Kurkumin juga dapat menurunkan ekspresi kemokin sebagai sel-sel inflamasi. Kurkumin menyebabkan reaksi kinase seperti *Mitogen Activated Protein kinase* (MAP kinase) juga dapat memblok aktivitas NF- $\kappa$ B sebagai faktor

transkripsi. Mekanisme molekular penghambatan NF- $\kappa$ B adalah melalui blok fosforilasi I- $\kappa$ B pada sel epitel nontransformasi. Walaupun efek penghambatan kurkumin pada proses inflamasi sudah cukup jelas, tetapi pengaruh kurkumin sebagai sinyal transduksi pada sitokin proinflamasi masih belum jelas (Takahashi *et al.*, 2007). Kurkumin memblok endotoksin yang merupakan hasil dari aktivasi NF- $\kappa$ B dan menekan sitokin, kemokin *Cyclooxygenase-2 (COX-2)*, dan *inducible Nitrit Oxydase Synthetase (iNOS)*, sehingga mencegah kerusakan hati. Efek antiinflamasi kurkumin juga terdapat pada sel darah yang terstimulasi LPS. LPS menstimulasi sel darah untuk mengeluarkan sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-8 (Santel *et al.*, 2008).

Ekstrak *curcuma* juga dapat mencegah hepatotoksisitas yang diinduksi senyawa kimia CCl<sub>4</sub> (karbontetraklorida) dengan mekanisme ikatan dengan protein dan reseptor pada permukaan membran sel menggantikan senyawa toksik sehingga dapat mencegah kerusakan sel (Wang *et al.*, 2009).

Banyak hasil penelitian menunjukkan bahwa kurkumin aman dan tidak toksik bila dikonsumsi. Kurkumin adalah salah satu kandidat terapi preventif. Pada uji klinik fase I dosis kurkumin hingga 3600-8000 mg perhari selama 4 bulan tidak menimbulkan toksisitas, kecuali diare. Bioavailabilitas sistemik kurkumin relatif rendah. Konsentrasi kurkumin pada plasma manusia meningkat hingga 2  $\mu$ M setelah intake oral kurkumin dalam jumlah besar (Lin dan Chen, 2008).

### 3. Limfosit

Limfosit adalah leukosit mononuklear dalam darah perifer, nonfagositik, ditemukan di dalam darah, limfe, dan jaringan limfoid yang merupakan sel imunologi tubuh yang kompeten dan prekusornya (Dorland, 2006). Jumlah limfosit berkisar 5.000-10.000 sel/mm<sup>3</sup> darah (Guyton dan Hall, 1997). Limfosit memiliki inti bulat atau oval yang dikelilingi oleh sitoplasma berwarna biru yang mengandung sedikit granula (Sylvia dan Wilson, 2006). Berdasarkan ukurannya, limfosit dibedakan menjadi dua yaitu limfosit berukuran kecil (*small lymphocyte*) dengan diameter 7-10  $\mu\text{M}$ , memiliki inti heterokromatik yang bulat atau sedikit cekung dan hampir memenuhi sitoplasma basofilik yang tipis dan mengandung beberapa granula. Sedangkan limfosit berukuran besar (*large lymphocytes* atau *lymphoblast*) adalah limfosit kecil yang telah aktif melalui kontak antigen, sitoplasmanya hampir mencapai 10-30  $\mu\text{M}$  (Dorland, 2006).

Limfosit merupakan sel darah yang penting terhadap sistem imun didapat. Di dalam tubuh imunitas didapat dibagi menjadi dua yaitu imunitas seluler dan imunitas humoral atau imunitas sel B yang terjadi karena limfosit B memproduksi antibodi. Pada proses infeksi, respon imun humoral berperan untuk menetralkan dan mengeliminasi mikroorganisme ekstrasel dan toksinnya, tetapi respon imun humoral ini tidak efektif melawan mikroorganisme yang mampu hidup dan bereplikasi intrasel. Di sinilah peran respon imun seluler sebagai tipe kedua imunitas didapat

untuk melengkapi respon imun humoral yaitu dengan mengenali mikroorganisme intrasel tersebut melalui reseptor permukaannya dan kemudian mengeliminasinya. Jenis imunitas ini disebut imunitas yang diperantarai sel T atau imunitas sel T (Guyton dan Hall, 1997; Abbas dan Litchman, 2005).

Ketika mikroorganisme pertama kali memasuki tubuh, maka tubuh merespon dengan memacu sistem pertahanan nonspesifik seperti makrofag dan *Natural Cell Killer (NK Cell)*. Makrofag akan memfagositosis dan mencerna organisme tersebut dan produk antigeniknya dilepaskan ke dalam sitosol makrofag. Makrofag melewati antigen tersebut dengan cara kontak sel-ke-sel langsung ke limfosit. Selain itu, makrofag juga mensekresi bahan pengaktivasi khusus yang meningkatkan pertumbuhan dan reproduksi limfosit spesifik yang disebut interleukin-1 (Guyton dan Hall, 1997). Apabila imunitas nonspesifik inadkuat karena berbagai hal, maka respon imun spesifik yang akan memegang kendali sistem imun dalam tubuh. Sistem imun spesifik diperankan oleh limfosit melalui perantara APC. Mikroorganisme yang ditangkap APC akan dibawa ke jaringan limfoid untuk dipresentasikan kepada limfosit *naive* untuk memperbanyak diri dengan stimulasi IL-15 oleh APC atau IL-2 yang diproduksi sel *naive* sendiri. Limfosit kemudian berdiferensiasi menjadi sel efektor dan sel memori. Sel efektor akan menyerang mikroorganisme dan sel memori akan menyimpan respon spesifik terhadap agen infeksi jika terjadi infeksi ulang. Kemudian sel limfosit akan memasuki sirkulasi



sehingga terjadi peningkatan jumlah sel limfosit. Limfosit akan mengeliminasi mikroorganisme dan mensekresi mediator inflamasi seperti TNF dan limfotoksin di jaringan perifer (Abbas dan Litchman, 2005).

#### a. Limfosit T

Limfosit T termasuk sel CD4 adalah pengatur utama dalam sistem imun. Fungsi pengatur tersebut tergantung pada molekul permukaan kedua sel tersebut, seperti *gp 39* (Paul, 1993; Ronald *et al.*, 2000 ). Bila antigen spesifik melakukan kontak dengan limfosit T di jaringan limfoid, maka limfosit T tertentu teraktivasi untuk membentuk sel T teraktivasi. Setelah ditemukan adanya beberapa tipe sel T, sel-sel ini digolongkan dalam tiga kelompok utama:

##### 1) Sel T pembantu (Th)

Sel T pembantu sejauh ini merupakan sel T yang jumlahnya paling banyak. Fungsi sel ini adalah membantu melakukan fungsi sistem imun. Pada kenyataannya sel ini bertindak sebagai pengatur utama bagi seluruh sistem imun. Dalam melaksanakan fungsi ini sel Th mengeluarkan mediator protein (limfokin) antara lain IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IFN- $\gamma$ , dan faktor perangsang koloni monosit-granulosit. IL-2 memiliki umpan balik positif langsung yang merangsang aktivasi Th sendiri (Guyton dan Hall, 1997).

##### 2) Sel T sitotoksik (Tc)

Sel T sitotoksik adalah sel penyerang yang langsung dapat membunuh mikroorganisme dan bahkan pada suatu saat bisa

membunuh dirinya sendiri. Pada permukaan sel ini didapatkan reseptor protein yang akan berikatan dengan antigen spesifik organisme. Setelah berikatan dengan antigen, sel Tc mensekresi protein pembentuk lubang (perforin) dan mengeluarkan sitotoksiknya ke dalam sel yang diserang. Kemudian sel membengkak dan terlarut. Salah satu sel yang memiliki aktivitas sitotoksik adalah sel TCD8 (Paul, 1993; Guyton dan Hall, 1997).

### 3) Sel T supresor (Ts)

Sel ini mempunyai kemampuan untuk menekan fungsi sel T sitotoksik dan sel T pembantu. Sel ini juga berfungsi mengatur aktivitas sel lain, menjaganya agar tidak bereaksi secara berlebihan. Oleh karena itu, sel Ts dan Th digolongkan sebagai sel T regulator. Sel Ts dimungkinkan berperan penting dalam membatasi kemampuan sistem imun untuk menyerang jaringan tubuh host yang disebut toleransi imun (Guyton dan Hall, 1997).

### b. Limfosit B

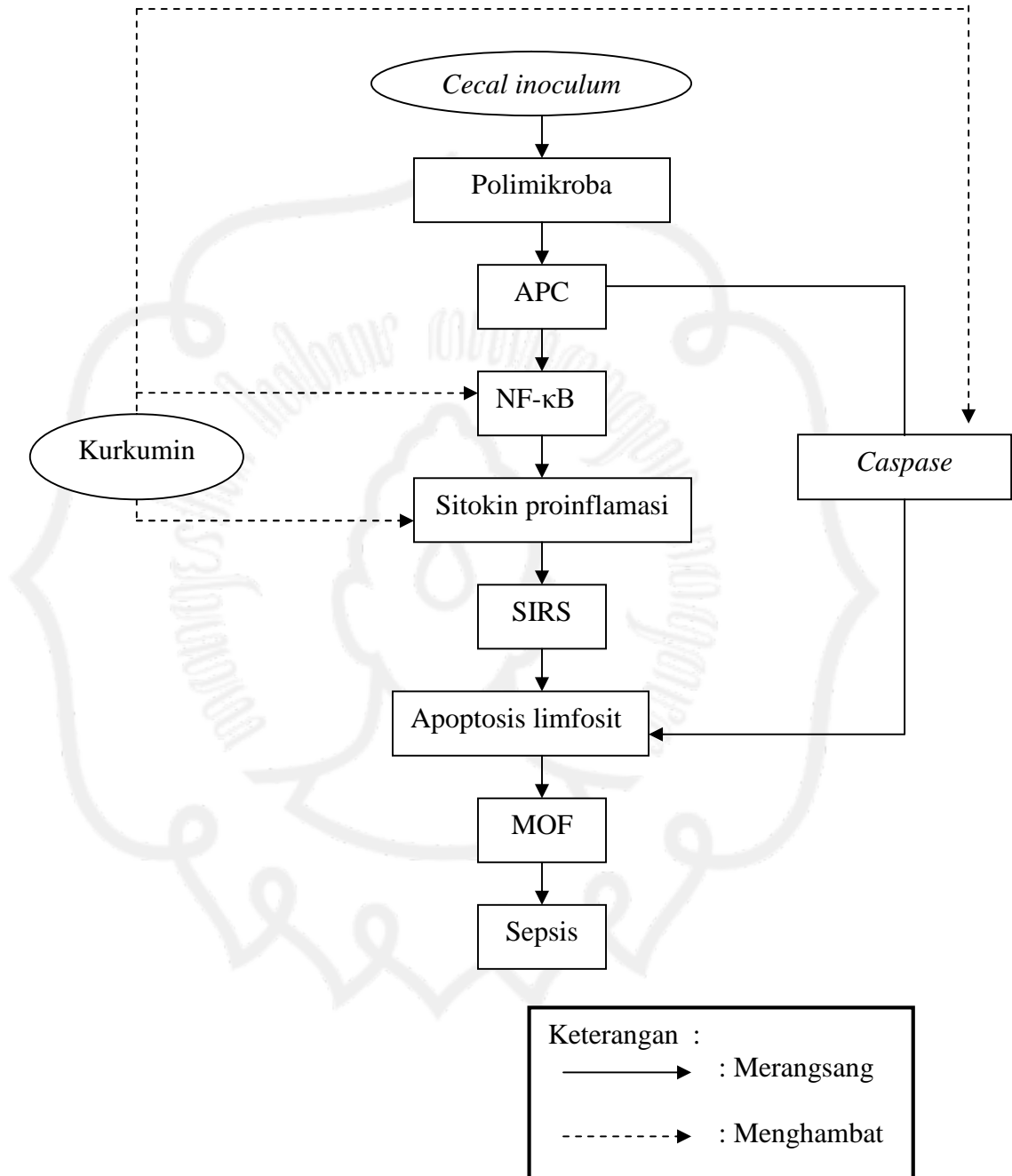
Limfosit berperan dalam imunitas humoral dan pembentukan antibodi. Sebelum berikatan dengan antigen spesifik, sel B berada dalam keadaan dorman dalam jaringan limfoid. Saat antigen dikenali dan dibawa pada sel T secara bersamaan, sel Th teraktivasi dan mengaktifkan sel B. Limfosit B yang bereaksi secara spesifik terhadap antigen segera membesar dan membentuk gambaran limfoblas. Beberapa limfoblas berdiferensiasi membentuk plasmablas yang merupakan

prekursor dari sel plasma. Beberapa limfoblas tidak berdiferensiasi menjadi sel plasma, tetapi membentuk limfosit baru dengan jumlah cukup yang serupa dengan klon asal. Limfosit ini akan beredar di sirkulasi dan tetap dalam keadaan dorman hingga diaktifkan oleh antigen baru. Sel ini disebut sel memori. Sel plasma merupakan turunan sel B yang mensintesis dan mensekresikan imunoglobulin atau antibodi ke dalam plasma sebagai respon terhadap pajanan berbagai macam antigen (Robert *et al.*, 2003; Guyton dan Hall, 1997).

Antibodi adalah globulin gamma yang disebut imunoglobulin dengan berat molekul antara 160.000 hingga 970.000. Imunoglobulin biasanya merupakan 20% dari protein plasma. Imunoglobulin terdiri atas kombinasi rantai polipeptida ringan dan berat. Setiap antibodi bersifat spesifik untuk antigen tertentu. Terdapat lima golongan umum antibodi, masing-masing diberi nama Ig M, Ig A, Ig D, Ig G, dan Ig E. Ig G merupakan antibodi yang sangat penting dengan struktur bivalen dan kira-kira 75% dari seluruh antibodi pada orang normal. Ig E adalah antibodi lain yang juga sangat penting dalam proses alergi. Antibodi bekerja dengan dua cara yaitu dengan langsung menyerang agen infeksi dan dengan mengaktifkan sistem komplemen (Guyton dan Hall, 1997).

## B. Kerangka Pemikiran

### 1. Kerangka Berpikir Konseptual



## 2. Kerangka Berpikir Teoritis

Ketika mikroorganisme pertama kali memasuki tubuh, maka tubuh meresponnya dengan imunitas nonspesifik misalnya oleh makrofag yang akan memfagositosis mikroorganisme tersebut (Guyton dan Hall, 1997). Apabila sistem imun nonspesifik tidak berhasil mengeliminasi mikroorganisme maka sinyal tersebut akan disampaikan kepada sistem imun spesifik dengan perantara APC. APC akan mempresentasikan antigen pada limfosit di jaringan limfoid dan akan mengeluarkan sitokin inflamasi seperti IL-15, IL-12 dan IL-2. IL-2 akan menginduksi limfosit itu sendiri untuk berdiferensiasi menjadi sel efektor kemudian sel efektor memasuki sistem vaskuler (Abbas dan Litchman, 2005). Sel efektor tersebut mengeluarkan mediator proinflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, dan IFN- $\gamma$ . Meningkatnya mediator proinflamasi tidak diimbangi oleh mediator antiinflamasi seperti IL-1ra, IL-4, dan IL-10. Meningkatnya sitokin proinflamasi adalah hasil dari aktivasi NF- $\kappa$ B. Ketidakseimbangan ini menyebabkan keadaan hiperinflamasi terutama pada paru, hati, ginjal, usus, dan organ lainnya yang disebut SIRS. Keadaan di atas terjadi pada sepsis fase awal (Elena *et al.*, 2006; Guntur, 2006).

Pada fase sepsis selanjutnya sistem imun tidak dapat bereaksi terhadap antigen yang menyerang tubuh. Hal tersebut ditandai dengan apoptosis limfosit yang luas yang akan memicu terjadinya MOF (Wesche *et al.*, 2005). Apoptosis limfosit dapat terjadi melalui jalur kematian reseptor maupun jalur mitokondria (Doreen *et al.*, 2005). Mediator

apoptosis tersebut adalah *cystein aspartate specific proteases (caspase)* yang akan membelah dan menghancurkan sejumlah struktur protein (Strasser et al, 2008).

Kurkumin mempunyai efek antiinflamasi, antimikroba, antitumor, dan antioksidan (Weir *et al.*, 2007; Takahashi *et al.*, 2007; Begum *et al.*, 2008; Akpolat *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2009). Kurkumin memblok endotoksin yang merupakan hasil dari aktivasi NF- $\kappa$ B dan menekan sitokin, kemokin *Cyclooxygenase-2 (COX-2)*, dan *inducible Nitrit Oxydase Synthetase (iNOS)*, sehingga mencegah kerusakan hati. Mekanisme penghambatan kurkumin terhadap produksi sitokin adalah dengan menghambat TNF- $\alpha$ , yang menginduksi ekspresi molekul-molekul adhesi (ICAM-1, VCAM-1). Kurkumin juga menghambat produksi sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IL-8 (Kohli *et al.*, 2004), dan mekanisme molekular penghambatan NF- $\kappa$ B adalah melalui blok fosforilasi dan aktivitas kinase I $\kappa$ B pada sel epitel nontransformasi (Takahashi *et al.*, 2007), sedangkan efek antiproliferatif kurkumin adalah dengan menghambat induksi apoptosis pada *mitokondria-dependent manner* melalui aktivasi *caspase 3* (Santel *et al.*, 2008).

### C. Hipotesis

Ada pengaruh pemberian kurkumin terhadap hitung limfosit darah tepi pada mencit *Balb/C* model sepsis paparan *cecal inoculum*.

### **BAB III**

#### **METODE PENELITIAN**

##### **A. Jenis Penelitian**

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik dengan *post test only control group design* karena pengukuran hanya dilakukan pada waktu tertentu setelah perlakuan pada hewan uji. Jenis penelitian ini ekonomis dan secara teknis mudah dilakukan (Taufiqurrahman, 2004).

##### **B. Lokasi penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Histologi Universitas Sebelas Maret Surakarta.

##### **C. Subjek Penelitian**

Subjek penelitian berupa 27 ekor mencit *Balb/C* jantan dengan berat badan  $\pm$  17-20 gram, dan berumur 4-6 minggu. Sampel dibagi menjadi 3 kelompok. Mencit *Balb/C* diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Bahan makanan mencit digunakan pakan mencit Pellet.

Besar sampel ditentukan dengan rumus Federer (Arkeman dan David, 2006).

$$(n-1) (t-1) > 15$$

$$(n-1) (3-1) > 15$$

$$(n-1) 2 > 15$$

$$2n-2 > 15$$

$$2n > 17$$

$$n > 8,5$$

Keterangan : n = besar jumlah sampel

t = banyaknya perlakuan pada sampel

#### D. Teknik Sampling

Untuk pengambilan sampel digunakan teknik *random sampling* sederhana.

#### E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas : Kurkumin
2. Variabel Terikat : Hitung limfosit
3. Variabel Luar
  - a. Dapat dikendalikan
    - 1) Genetik
    - 2) Berat badan
    - 3) Makanan
    - 4) Umur
  - b. Tidak dapat dikendalikan

Variasi kepekaan mencit terhadap suatu zat

#### F. Skala Variabel

1. Kurkumin : skala nominal
2. Hitung limfosit : skala rasio



## G. Definisi Operasional

### 1. Pemberian Kurkumin

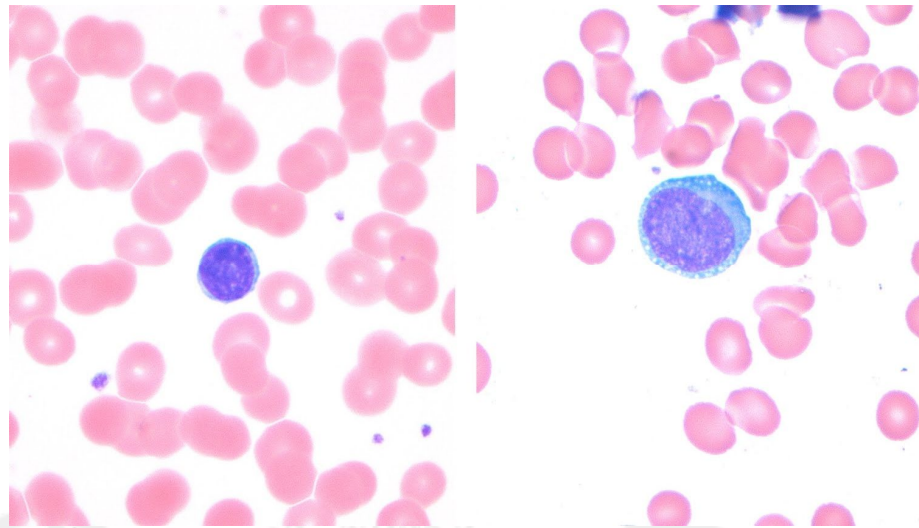
Kurkumin yang diberikan dalam bentuk tablet Biocurliv® 500 mg. Tablet Biocurliv® mengandung ekstrak *Curcuma longa rhizome* (Curcuminoid complex 95% I Bio-Curcumin/BCM-95™) 150 mg, *Sylimarin phytosome* 35 mg, ekstrak *Schizandrae Fructus* 135 mg, *Liquiritae Radix* 135 mg, *Choline Bitartrate* 150 mg, dan vitamin B6 2 mg. Bio-Curcumin adalah ekstrak *Curcuma longa* yang mengandung kurkuminoid yang dikombinasi dengan *volatile oil*. Kandungan 1 tablet Biocurliv® sebesar 500 mg. Dosis obat pada mencit 0,0026 kali dosis pada manusia (Suhardjono, 1995).

$$\begin{aligned}\text{Dosis kurkumin pada mencit} &= 500 \times 0,0026 \\ &= 1,3 \text{ mg}/20 \text{ gram BB mencit}\end{aligned}$$

Volume Biocurliv® yang akan diberikan untuk tiap mencit sebesar 0,1 ml, sehingga Biocurliv® seberat 500 mg akan diencerkan dengan aquades sebanyak 38,5 ml.

### 2. Hitung Limfosit

Darah mencit diambil dari sinus orbitalis, kemudian dilakukan hitung limfosit secara *computerized* di Pusat Diagnostik Budi Sehat. Pada pewarnaan Wright limfosit tidak memiliki granul sitoplasma dengan inti bulat sampai berbentuk tapal kuda (Gandasoebrata, 2001).

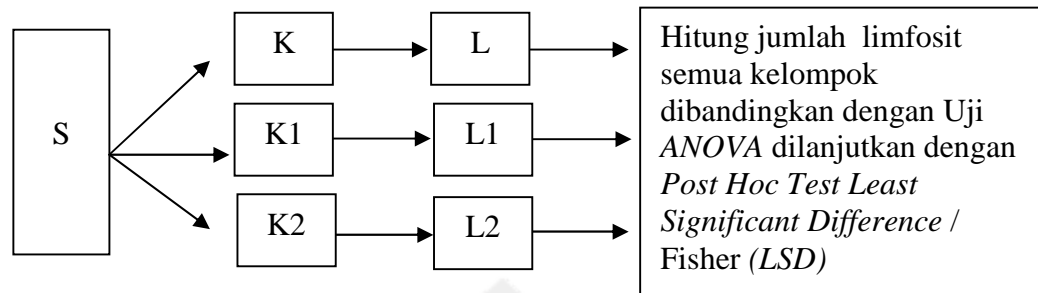


**Gambar 3.1.** Limfosit (Ardianto, 2002)

#### H. Pembuatan Mencit Model Sepsis

Pembuatan sepsis pada mencit dibuat dengan cara injeksi *cecal inoculum* secara *intraperitoneal* (200 mg/kg) seperti disebutkan pada penelitian sebelumnya. *Cecal inoculum* dibuat dengan melarutkan 200 mg material *cecal* dalam 5 ml larutan *dekstrose* 5% steril (D5W). Material *cecal* diperoleh dari mencit donor yang sehat dan sebelumnya telah dianestesi dengan eter dosis letal. *Cecal inoculum* disiapkan setiap hari dan material *cecal* dari satu donor dapat diberikan dalam waktu paling lama 2 jam pada 3-5 ekor mencit (Chopra dan Sharma, 2007). Masing-masing hewan coba model sepsis diinjeksi *cecal inoculum* (0,1 ml/mencit) secara *intraperitoneal* (i.p.). Tanda-tanda mencit sepsis adalah letargi, piloreksi, diare, demam, dan lemah (Elena *et al.*, 2006; Nemzek *et al.*, 2007).

## I. Rancangan Penelitian



**Gambar 3.2.** Skema rancangan penelitian

### Keterangan :

- S : Sampel mencit  
 K : Kelompok kontrol  
 K1 : Kelompok sepsis  
 K2 : Kelompok sepsis + 1,3 mg Biocurliv® peroral  
 L : Hitung limfosit kelompok kontrol  
 L1 : Hitung limfosit kelompok sepsis  
 L2 : Hitung limfosit kelompok sepsis + 1,3 mg Biocurliv® peroral

## J. Alat dan Bahan

1. Alat penelitian
  - a. Kandang hewan percobaan
  - b. Timbangan hewan Mettler Toledo
  - c. Spuit injeksi Terumo
  - d. Sonde
  - e. Pipet ukur
  - f. Labu takar
  - g. *Beaker glass*
  - h. Timbangan obat
  - i. Mikroskop cahaya Olympus
  - j. *Needle holder*

k. *Minor set*

l. Pinset

o. *Object glass*

2. Bahan penelitian

a. Biocurliv® 500 mg

b. Hewan uji (27 ekor Mencit *Balb/C*)

c. Makanan standar hewan uji

d. Alkohol

e. Pewarna Wright

f. Pewarna Giemsa

### **K. Cara Kerja**

1. Sebelum perlakuan

a. Hewan uji diadaptasi dengan kondisi laboratorium tempat penelitian. Adaptasi dilakukan selama kurang lebih 1 minggu.

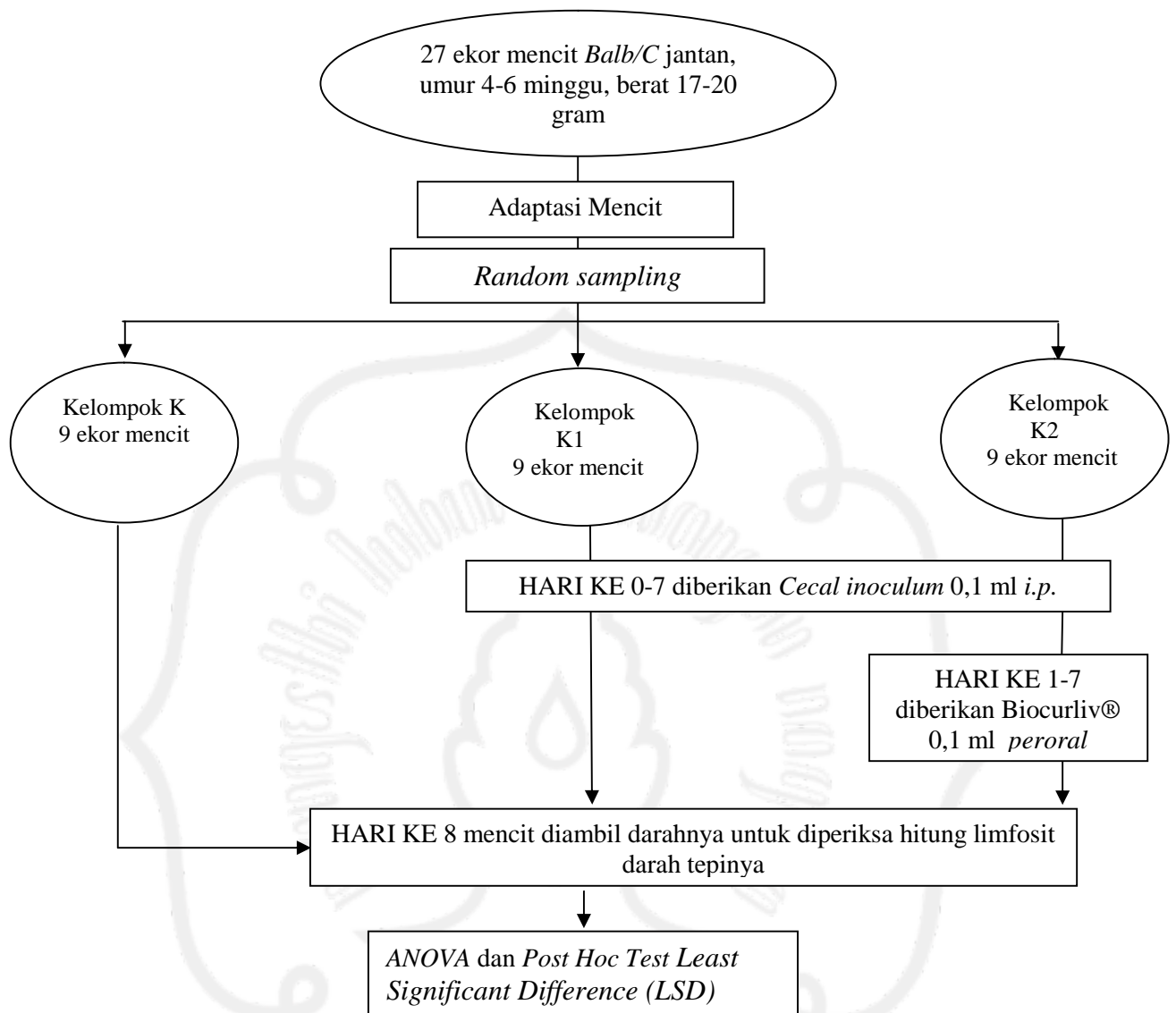
b. Hewan uji dikelompokkan secara acak menjadi tiga kelompok. Masing masing kelompok terdiri dari 9 ekor mencit.

2. Pemberian perlakuan

Sejak hari ke-0 sampai dengan hari ke-7.

Kelompok K, K1, dan K2 diberi diet standar.

Masing-masing kelompok diberi perlakuan yang berbeda.



**Keterangan :**

- a. Kelompok K1 : Kelompok sepsis
- b. Kelompok K2 : Kelompok sepsis + 0,1 ml Biocurliv® peroral

3. Setelah perlakuan

Mencit diambil darahnya pada hari ke-8 dari sinus orbitalis, kemudian dilakukan penghitungan jumlah sel limfosit secara *computerized* di Apotek Budi Sehat.

## L. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji ANOVA dan dilanjutkan dengan *Post Hoc Test Least Significant Difference/Fisher (LSD)* menggunakan program *SPSS for windows release 15.0*.

Uji ANOVA adalah uji parametrik untuk membandingkan perbedaan mean pada lebih dari dua kelompok dengan sebaran data normal. Apabila sebaran data tidak normal maka data ditransformasi. Jika sesudah ditransformasi data tetap tidak normal maka data dianalisis menggunakan uji alternatifnya yaitu uji nonparametrik untuk lebih dari dua kelompok yaitu Uji Kruskal-Wallis. *Post Hoc Test* adalah uji hipotesis untuk membandingkan dua kelompok, yang dilakukan bila  $p < 0,05$ .

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN

#### A. Data Hasil Penelitian

Setelah dilakukan pemeriksaan hitung limfosit dengan metode bilik hitung didapatkan data kelompok kontrol memperlihatkan rata-rata persentase hitung limfosit sebesar 77,14%. Pemberian *cecal inoculum* memperlihatkan persentase hitung limfosit yang lebih kecil pada kelompok sepsis sebesar 76,66%. Pemberian kurkumin pada kelompok sepsis memperlihatkan persentase hitung limfosit yang lebih kecil yaitu 72,75%. Data selengkapnya persentase nilai rerata hitung limfosit masing-masing kelompok hewan coba disajikan pada tabel 4.1.

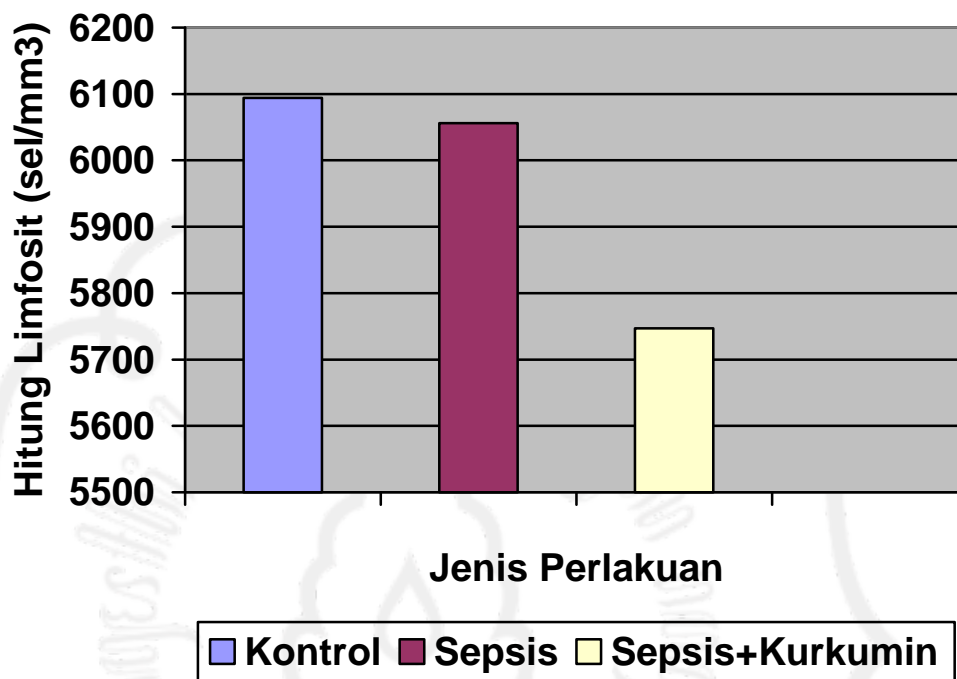
**Tabel 4.1.** Persentase nilai rerata hitung limfosit darah tepi masing-masing kelompok hewan coba

Kelompok Hewan Coba	Rerata ± Standar Deviasi
Kontrol	77,14 ± 11,69
Sepsis	76,66 ± 14,17
Sepsis + Kurkumin	72,75 ± 18,39

Sumber : Data Primer, 2009

Berdasarkan Shrivastava (2005) jumlah leukosit mencit normal sebesar  $(7 \pm 0.9) \times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup> sehingga didapatkan rata-rata hitung limfosit kelompok kontrol sebesar 6.094 sel/mm<sup>3</sup>, kelompok sepsis sebesar 6.056 sel/mm<sup>3</sup>, dan kelompok sepsis dengan pemberian kurkumin sebesar 5.747 sel/mm<sup>3</sup>. Diagram

rata-rata hitung limfosit masing-masing kelompok hewan coba disajikan pada gambar 4.1.



Gambar 4.1. Nilai rerata hitung limfosit darah tepi mencit setelah perlakuan

## B. Analisis Data

Data yang diperoleh dilakukan uji statistik menggunakan uji *One Way Anova* dengan *software* program *SPSS For Windows Release 15*. Syarat uji *One Way Anova*, yaitu :

1. Sebaran data harus normal yang dianalisis menggunakan uji Shapiro-Wilk.
2. Varians data harus sama yang dianalisis menggunakan uji homogenitas.

Untuk mengetahui sebaran data normal atau tidak maka data diuji dengan uji normalitas Shapiro-Wilk. Sebaran data normal diperoleh jika nilai  $p > 0,05$ . Dari uji normalitas Shapiro-Wilk diperoleh  $p = 0,000$  yang berarti bahwa sebaran data tidak normal. Oleh karena itu, dilakukan transformasi



data. Hasil transformasi data diperoleh  $p = 0,000$ . Hal ini menunjukkan bahwa sebaran data tetap tidak normal sehingga syarat analisis *One way Anova* tidak terpenuhi maka data akan dianalisis menggunakan uji alternatifnya yaitu uji Kruskal-Wallis.

Uji Kruskal-Wallis bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan di antara lebih dari dua kelompok. Uji Kruskal-Wallis dianggap terdapat perbedaan secara signifikan menurut statistik jika nilai  $p < 0,05$ . Dari analisis data diperoleh nilai  $p = 0,865$  yang berarti bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan diantara lebih dari dua kelompok yang dibandingkan.

Dari hasil uji Mann-Whitney ( $\alpha = 0,05$ ) tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok K dan K1, K dan K2, K1 dan K2. Data ringkasan hasil perhitungan dengan uji Mann-Whitney ( $\alpha = 0,05$ ) disajikan pada tabel 4.2. Adapun data mengenai perhitungan uji Mann-Whitney dengan program *SPSS For Windows Release 15* dapat dilihat pada lampiran 4.

**Tabel 4.2.** Ringkasan hasil uji Mann-Whitney ( $\alpha = 0,05$ ) antar kelompok

Kelompok	p	Keterangan
K-K1	0,791	Tidak bermakna
K-K2	0,817	Tidak bermakna
K1-K2	0,530	Tidak bermakna

Sumber : Data Primer, 2009

Keterangan :

K : Kelompok kontrol

K1 : Kelompok sepsis

K2 : Kelompok sepsis dengan pemberian kurkumin

## BAB V

### PEMBAHASAN

Dari penelitian ini diperoleh hasil bahwa kelompok sepsis menunjukkan jumlah rata-rata limfosit yang lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Hal ini sesuai dengan pendapat Stasser (2008) yang menyatakan bahwa sepsis menginduksi apoptosis limfosit yang luas dan memegang peranan penting terhadap immunosupresi dan kematian. Mediator apoptosis ini adalah *cystein aspartate specific proteases (caspase)* yang akan membelah dan menghancurkan sejumlah struktur protein dan mengaktifkan enzim tersembunyi yang membongkar asam nukleat (*caspase activated DNAase* atau CAD) atau struktur sel lainnya termasuk limfosit. Menurut penelitian Chopra dan Sharma (2007) pada kelompok sepsis hari ke-3 dan ke-7 terjadi peningkatan ekspresi *myocardial TRADD*, *cystosolic active caspase-3*, rasio Bax/Bcl2 dan sitokrom C. Peningkatan faktor-faktor tersebut menyebabkan peningkatan apoptosis limfosit yang luas pada sepsis. Peningkatan apoptosis limfosit menurut Rittirsch (2007) berhubungan dengan immunoparalisis sehingga terjadi proses supresi sistem imun. Proses apoptosis ini berbeda-beda pada tiap sel sistem imun.

Apoptosis adalah penyebab utama *death receptor* pada sel limfosit. Apoptosis sel ini dapat diinduksi antara lain oleh sitokin (TNF- $\alpha$ , IL-1, dan IL-6), *Fas ligand* (FasL), radikal bebas oksigen, *nitric oxide* (NO). Mediator-mediator tersebut terutama akan menyebabkan apoptosis sel dendritik, *Gut associated lymphoid tissue* (GALT) dan limfosit. Menurut Soldato *et al.* (2007) adanya

disregulasi apoptosis pada sel-sel imun tampak pada sel-sel limfosit. Setelah 12 jam dari timbulnya sepsis karena polimikroba, apoptosis terlihat di timus, limpa, dan GALT. Apoptosis limfosit di timus tampak pada sepsis onset awal (4 jam) yang disebabkan oleh efek endotoksin atau *death receptors*. Limfosit membatasi ekspresi Bcl-2 agar tidak berlebihan. Di sisi lain kehilangan limfosit secara berlebihan dapat meningkatkan mortalitas pada keadaan sepsis.

Meskipun terdapat perbedaan jumlah limfosit antara kelompok kontrol dan kelompok sepsis, tetapi perbedaan tersebut tidak signifikan. Kemungkinan penyebab perbedaan tidak signifikan antara lain:

1. Dosis kurang imunogenik

Menurut Chopra dan Sharma (2007) pembuatan mencit model sepsis dengan cara injeksi *cecal inoculum* (0,1 ml/ mencit) secara *intraperitoneal* (i.p.). Dalam hal ini kita tidak dapat mengetahui tingkat antigenitas dari bakteri yang terkandung pada material *cecal*. Antigenitas bakteri menentukan onset dan derajat keparahan sepsis. Kemampuan bakteri menimbulkan sakit salah satunya dipengaruhi oleh struktur bakteri.

2. Kerentanan mencit

Kerentanan mencit dipengaruhi oleh faktor lingkungan, misalnya kepadatan populasi dan kebersihan lingkungan, stress psikologis, dan makanan yang dikonsumsi. Beberapa makanan mencit seperti BR1 mengandung banyak lemak sehingga lipid dalam darah meningkat dan produksi sitokin inflamasi juga makin meningkat.

Pada kelompok sepsis dan sepsis dengan pemberian kurkumin tidak ada perbedaan yang signifikan. Hasil ini berbeda dengan teori yang diungkapkan oleh Santel *et al.* (2008) yang menyatakan bahwa kurkumin mampu menghambat produksi sitokin melalui mekanisme penghambatan terhadap TNF- $\alpha$ , yang akan menginduksi ekspresi molekul-molekul adhesi (ICAM-1, VCAM-1). Kurkumin juga menghambat produksi sitokin proinflamasi lain seperti IL-1 $\beta$ , IL-8 melalui mekanisme penghambatan NF- $\kappa$ B. Penghambatan NF- $\kappa$ B melalui blok fosforilasi dan aktivitas kinase I $\kappa$ B pada sel epitel nontransformasi. Sedangkan efek antiproliferatif kurkumin adalah dengan menghambat induksi apoptosis pada *mitochondria-dependent manner* melalui aktivasi *caspase 3*. Sedangkan menurut Wang *et al.* (2009) kurkumin menurunkan rasio Bcl-2/Bax and Bcl-xL/Bad yang diikuti dengan aktivasi *caspase-3* dan pelepasan sitokrom C.

Dari hasil analisis data tidak diperoleh hasil yang signifikan dari seluruh kelompok hewan coba. Faktor-faktor yang mungkin mempengaruhi hasil penelitian menjadi tidak signifikan dapat dijelaskan sebagai berikut.

#### 1. Kurkumin

Penghambatan kurkumin terhadap proliferasi sel biasanya diikuti dengan apoptosis sel (Miller, 2008). Kurkumin dapat menginduksi jalur *mitochondrial-dependent apoptotic* dengan pelepasan sitokrom C dan faktor-faktor proapoptogenik mitokondrial lain seperti AIF yang terlihat pada sel yang diterapi kurkumin. Apoptosis yang diinduksi kurkumin dilaporkan sebagai *p53-dependent*. Peran famili Bcl-2 pada apoptosis yang diinduksi kurkumin mungkin terabaikan. Sebaliknya peran *reactive oxygen species*

(ROS) pada apoptosis yang diinduksi kurkumin masih kontroversial karena kurkumin mempunyai efek prooksidan dan antioksidan. Di satu sisi, banyaknya efek kurkumin dapat dijelaskan melalui aktivitas pleiotropiknya, dan di sisi lain dijelaskan melalui aktivitas pengaturan transkripsi gen. Kurkumin menghambat faktor transkripsi AP-1 yang dilibatkan pada program apoptosis dan regulasi proliferasi sel. Hal ini mirip dengan penghambatan kurkumin terhadap NF- $\kappa$ B (Salvioli *et al.*, 2007).

Selain itu, bioavailabilitas kurkumin kemungkinan berpengaruh terhadap hasil penelitian. Kurkumin tidak larut dalam air sehingga absorpsinya juga kurang baik. Struktur kimia kurkumin menyebabkan kurkumin tidak stabil dalam pH alkalis.

2. Apoptosis membutuhkan waktu yang lebih cepat dibandingkan waktu kurkumin mencapai kadar optimal dalam darah.

Menurut Lin dan Chen (2008) bioavailabilitas sistemik kurkumin relatif rendah. Konsentrasi kurkumin dalam darah sangat dipengaruhi oleh komposisi makanan yang dikonsumsi dan berdasarkan penelitian sebelumnya hanya beberapa mikromolar kurkumin yang bisa ditemukan dalam darah. Sedangkan menurut Doreen *et al.* (2007) apoptosis limfosit terlihat setelah 12 jam dari mulainya peristiwa sepsis.

3. Penurunan jumlah limfosit mungkin tidak signifikan, tetapi kualitas limfosit mungkin mengalami penurunan.

Salah satu indikator kualitas limfosit adalah masa hidupnya. Dalam keadaan normal limfosit terus-menerus memasuki sistem sirkulasi bersama

dengan pengaliran limfe dari nodus limfe dan jaringan limfoid lain. Setelah beberapa jam limfosit kembali ke jaringan secara diapedesis dan selanjutnya kembali memasuki limfe dan kembali ke jaringan limfoid atau ke darah lagi. Limfosit memiliki masa hidup berminggu-minggu, berbulan-bulan atau bahkan bertahun-tahun, tetapi hal ini bergantung pada kebutuhan tubuh akan sel-sel tersebut (Guyton dan Hall, 1997).

#### 4. Proses imunosupresi pada peristiwa sepsis.

Menurut Park dan Shimaoka (2009) pada sepsis fase awal terjadi peningkatan sitokin proinflamasi yaitu TNF- $\alpha$  dan IL-1. Seiring dengan perkembangan sepsis menjadi fase lanjut terjadi perubahan jumlah sitokin antiinflamasi, yang ditandai dengan peningkatan jumlah TNF- $\alpha$ . Peningkatan jumlah sitokin TNF- $\alpha$  pada sepsis fase lanjut inilah yang dipercaya sebagai proses imunosupresi. Proses imunosupresi ini akan mempersulit terapi sepsis.

## BAB VI

### SIMPULAN DAN SARAN

#### A. Simpulan

Kurkumin tidak berpengaruh terhadap hitung limfosit darah tepi mencit Balb/C model sepsis paparan *cecal inoculum*.

#### B. Saran

1. Dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kualitas limfosit pada hewan coba model sepsis.
2. Dilakukan variasi dosis kurkumin untuk mengetahui dosis yang paling efektif pada hewan coba.
3. Penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh kurkumin pada sepsis menggunakan parameter lain misalnya biomarker sepsis, sitokin-sitokin proinflamasi dan antiinflamasi, serta marker-marker apoptosis lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Lichtman AH. 2005. *Cellular and Molecular Immunology*. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia:Elsevier Saunders, pp : 295-343.
- Aird WC. 2003. The hematologic system as a marker of organ dysfunction in sepsis. *Mayo Clin Proc* 78: 869-881.
- Akpolat M, Kanter M, Uzal M. 2008. Protective effects of curcumin against gamma radiation-induced ileal mucosal damage. *PubMed Central* 83(6): 609–617.
- Anonim. 2002. *Sepsis*. <http://www.rasional.com/2002> (diunduh tanggal 24 Agustus 2009)
- Arief TM. 2004. *Pengantar Metodologi Penelitian Untuk Ilmu Kesehatan*. Klaten: Penerbit CSGF, pp:8-10.
- Begum AN, Jones MR, Lim GP, Morihara T, Heath DD, Rock CL, Pruitt MA, Yang F, Hudspeth B, Hu S, Faull KF, Teter B, Cole GM, Frautschy SA. 2008. Curcumin structure-function, bioavailability, and efficacy in models of neuroinflammation and Alzheimer’s Disease. *PubMed Central* 326(1): 196-208.
- Chattopadhyay I, Biswas K, Bandyopadhyay U, Banerjee RK. 2004. Tumeric and Curcumin : Biological actions and medicinal applications. *Current Science* 87 (1) : 44 - 53.
- Chopra M, Sharma AC. 2007. Distinct Cardiodynamic and molecular characteristics during early and late stages of sepsis-induced myocardial dysfunction. *PubMed Central* 81(4): 306-316.
- Commandeur JN, Vermeulen NP. 1996. Cytotoxicity and cytoprotective activities of natural compounds. The case of curcumin. *Xenobiotica* 26: 667 - 680.
- Chung CS, Chaudry IH, Ayala A. 2000. The apoptotic response of the lymphoid immune system to trauma, shock and sepsis. In: Vincent, J-L., editor. *Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine* Spinger-Verlag: Berlin, pp: 27-40.
- Clark JA, Coopersmith CM. Just the right amount of JNK – how NF-KB and downstreams mediators prevent burn-induced intestinal injury. *Crit Care Med* 35(5): 1433-1434.



- Djoko W, Arya G. 2006. Penanganan Sepsis. *Dexa Media* 19 (2) April-Juni, pp: 110-115.
- Doreen WE, Joanne L, Lomas-Neira, Mario P, Shiang CC, Alfred A. 2005. Leukocyte Apoptosis And Its Significance In Sepsis And Shock. *Journal of Leukocyte Biology* 78:325-337
- Dorland WA. 2002. *Kamus Kedokteran Dorland*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, p : 1265.
- Elena G, Alejo C, Gema R, Mario D. 2006. Cortistatin, a new antiinflammatory peptide with therapeutic effect on lethal endotoxemia. *J Exp Med* 203(2): 563-571.
- Eny DW. 2004. Sepsis di ruang rawat inap tipe kelas dan paviliun bangsal penyakit dalam RSUD Dr Moewardi Surakarta tahun 2002. Skripsi FK UNS. Surakarta.
- Ferrer R, Artigas A, Levy MM. 2009. Improvement in process of care and outcome after a multicenter severe sepsis educational program in Spain. *JAMA* 299(19):2294-2303.
- Gandasoebrata R. 2001. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Jakarta:Dian Rakyat, pp:32-33.
- Gao F, Linhartova L, Johnston AM, Thickett DR. 2008. Statins and sepsis. *British Journal of Anaesthesia* 100(3): 288-98.
- Guntur HA. 2006. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam jilid III Edisi IV*.In:Sudoyo *et al.* (Eds). Penyakit Tropik Dan Infeksi:Sepsis. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI, pp:1840-1843.
- Guntur HA. 2008. Clinical Observation of IVIG in Management of Sepsis. *Proseding of National Symposium : The Second Indonesia SEPSIS Forum*. Surakarta:PETRI, pp:106-113.
- Guyton and Hall. 1997. "Resistensi Tubuh terhadap infeksi: Leukosit, Granulosit, Sistem Makrofag-monosit, dan Inflamasi". Dalam : *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 9*. Penerbit EGC, Jakarta, pp: 556-566.
- Hongwei Q, Cynthia AW, Sun JL, Xueyan Z, and Ety NB. 2005. LPS induces CD40 genes expression through the activation of NF-Kb and STAT-1 $\alpha$  in macrofag and macroglia. *Blood* 106(9): 3114-3122.

- Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson KC, Coob JP, Buchman TG, Karl IE. 1999. Prevention of Lymphocyte Cell Death In Sepsis Improves Survival In Mice. *J Medical Science* 96 :14541-14546.
- Joe B, Vijaykumar, Lokesh. 2004. Biological properties of curcumin-cellular and molecular mechanisms of action. *Critical Review in Food Science and Nutrition* 44 (2) : 97 - 112.
- Jones DO. 2007. *Crash course pathology. 2th Ed.* St Louis: C.V. Mosby Co, p:17.
- Kee J. 2008. *Pedoman Pemeriksaan Laboratorium dan Diagnostik.* Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, p: 317.
- Kerschen E, Fernandez J, Cooley B, Yang X, Sood R, Mosnier LO, Castellino F, Mackman N, Griffin J., Weiler H. 2007. Endotoxemia and sepsis mortality reduction by non-anticoagulant-activated protein C. *PubMed Central* 204(10): 2439–2448.
- Kohli K, Ali J, Ansari MJ, Raheman Z. 2005. Curcumin : a natural anti-inflammatory agent. *Indian J Pharmacol Vol 37* (3):141-147.
- Kristine MJ, Sarah BL, Anncatrine LP, Jesper EO, Thomas B. 2007. Common TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , PAI-1, Upa, CD14, and TLR4 polymorphisme are not associated with disease severity or outcome from gram negative sepsis. *BMC Infect Dis* 7:108.
- Li L, Rao JN, Bass BL. 2001. NF-Kb activation and susceptibility to apoptosis after polyamine depletion in intestinal epithelial cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 280: G992-G1004.
- Lin J and Chen A. 2008. Activation of peroxisome proliferators-activated receptor- $\gamma$  by curcumin blocks the signaling pathways for PDGF and EGF in hepatic stellate cells. *PubMed Central* 88(5): 529-540.
- Miller M, Chen S, Woodliff J, Kansra S. 2008. Curcumin (Diferuloylmethane) Inhibits Cell Proliferation, Induces Apoptosis, and Decreases Hormone Levels and Secretion in Pituitary Tumor Cells. *PubMed Central* 149(8): 4158–4167.
- Nemzek JA, Hugunin K, Opp M. Modeling Sepsis in the Laboratory: Merging Sound Science with Animal Well-Being. *PubMed Central* 58(2): 120–128.
- Oscar C, Andrea G, Roberto G, Cristina B, Fiorenza O, Carmela S, Federico M, Alberto L, Barbara S, Marco R, Vittorio S, Margherita S, and Giorgio S. 2006. LL-37 Protects rats against lethal sepsis caused by gram negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 50(5): 1672-1679.

- Shimaoka M and Park EJ. 2009. Advances in understanding sepsis. *PubMed Central* 42: 146–153.
- Paul. 2003. *Fundamental Immunology* Third Edition. USA: Raven Press, pp: 111.
- Pudjiastuti. 2008. Imunoglobulin Intravena Pada Anak dan Bayi Dengan Sepsis. *Prosiding of National Symposium : The Second Indonesia SEPSIS Forum*.Surakarta:PETRI, pp:100-105.
- Rittirsch D, Flier M, Ward P. 2008. Harmful molecular mechanisms in sepsis. *Nat Rev Immunol* 8(10): 776–787.
- Robert MK, Granner KD, Mayes AP, Rodwell WV. 2003. *Biokimia Harper*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, p :711.
- Ronald L, Cisneros MS, Onderdonk AB. 2003. Antimicrobial efficacy testing of moxifloxacin during the peritonitis and abscess formation stages of intra-abdominal sepsis: A controlled trial in the rat model. *Current Therapeutic Research*, pp: 821-827.
- Ronald SA, Mcpherson AR. 2000. *Tinjauan Klinis atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium edisi sebelas*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, p :58.
- Salvioli S, Sikora E, Cooper EL, Franceschi C. 2007. Curcumin in Cell Death Processes: A Challenge for CAM of Age-Related Pathologies. *PubMed Central* 4(2): 181–190.
- Santel T, Pflug G, Hemdan N, Schäfer A, Hollenbach M, Buchold M, Hintersdorf A, Lindner I, Otto A, Bigl M, Oerlecke I, Hutschenreuter A, Sack U, Huse K, Groth M, Birkemeyer C, Schellenberger W, Gebhardt R, Platzer M, Weiss T, Vijayalakshmi MA, Krüger M, Birkenmeier G. 2008. Curcumin inhibits glyoxalase 1—A possible link to its antiinflammatory and antitumor activity. *PubMed Central* 3(10): e3508.
- Shrivastava R, Srivastava S, Upreti RK, Chaturvedi UC. 2005. Effects of dengue virus infection on peripheral blood cells of mice exposed to hexavalent chromium with drinking water. *Indian Journal of Medical Research*.
- Sinaga E. 2002. Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat Indonesia *Curcuma domestica*, <http://www.iptek.apjii.unas.or.id> (diunduh tanggal 8 Oktober 2009)
- Soldato, Chung C, Gregory S, Mather T, Ayala C, Ayala A. 2007. CD8<sup>+</sup> T Cells Promote Inflammation and Apoptosis in the Liver after Sepsis. *PubMed Central* 171(1): 87–96.

- Strasser A, Puthalakath H, O'Reilly LA, Boullet P. 2008. What do we know about mechanisms of elimination of autoreactive T and B cells and what challenges remain. *Immunology and Cell Biology* 86: 57-66.
- Suhardjono D. 1995. *Percobaan Hewan Laboratorium*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, hal: 207.
- Sylvia AP dan Lorraine MW. 1995. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit edisi keempat*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, pp:62-9;133-5.
- Takahashi M, Ishiko T, Kamohara H, Hidaka H, Ikeda O, Ogawa M, Baba H. 2007. Curcumin (1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1, 6-heptadiene-3,5-dione) Blocks the Chemotaxis of Neutrophils by Inhibiting Signal Transduction through IL-8 Receptors. *PubMed Central* 28: 10767.
- Wang J, Qi L, Zheng S, Wu T. 2009. Curcumin induces apoptosis through the mitochondria-mediated apoptotic pathway in HT-29 cells. *PubMed Central* 10(2): 93-102.
- Weir NM, Selvendiran K, Kutala VK, Tong L, Vishwanath S, Rajaram M, Tridandapani S, Anant S, Kuppusamy P. 2007. Curcumin induces G<sub>2</sub>/M arrest and apoptosis in cisplatin-resistant human ovarian cancer cells by modulating akt and p38 MAPK. *PubMed Central* 6(2): 178-184.
- Wesche ED, Joanne L, Lomas-Neira, Perl M, Chung C, Ayala A. 2005. Leukocyte Apoptosis And Its Significance In Sepsis And Shock. *Journal of Leukocyte Biology* 78:325-337.
- Zukesti E. 2003. Peranan Leukosit Sebagai Anti Inflamasi Alergik Dalam Tubuh. *USU Digital Library*.