

# UJI AKTIVITAS IMUNOMODULATOR FERMENTASI TEH HITAM JAMUR KOMBUCHA TERHADAP FAGOSITOSIS MAKROFAG MENCIT GALUR BALB/C SECARA *IN VITRO*

Amalia Nurul 'Ulum<sup>1)</sup>, Maria Ulfah<sup>1)</sup>, Ediati Sasmito<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang

<sup>2)</sup> Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

---

## INTISARI

Teh hitam dan kombucha adalah minuman kesehatan yang diketahui mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan aktivitas imunomodulator fermentasi teh hitam jamur kombucha (FTHJK) terhadap fagositosis makrofag mencit galur Balb/C secara *in vitro*.

Fermentasi kombucha dilakukan selama 5, 10 dan 15 hari menggunakan media seduhan teh hitam yang telah ditambahkan gula. Hasil FTHJK dibuat beberapa seri konsentrasi yaitu 6,25; 12,5; 25; 50, 100 µg/mL dan sebagai kontrol positif digunakan lipopolisakarida (LPS) 10 µg/mL untuk diujikan aktivitas fagositosis makrofag secara *in vitro* pada mencit jantan galur Balb/C usia 2 bulan. Data yang diperoleh berupa nilai Indeks Fagositosis (IF) (jumlah lateks yang dimakan oleh 100 sel makrofag) dan Kapasitas Fagositosis (jumlah sel makrofag yang memakan lateks). Hasil IF dan kapasitas dianalisis secara statistik menggunakan *SPSS 16 for windows* metode *Friedman test*, dilanjutkan uji *Mann Withney*.

Hasil penelitian menunjukkan, FTHJK memiliki aktivitas imunomodulator terhadap peningkatan fagositosis makrofag pada konsentrasi 6,25; 12,5; 25; 50 dan 100 µg/mL dengan lama fermentasi 5, 10 dan 15 hari. Aktivitas imunostimulator tertinggi ditunjukkan pada konsentrasi 100 µg/mL dengan lama fermentasi 10 hari berdasarkan nilai IF.

**Kata kunci:** Imunomodulator, IF (*Indeks Fagositosis*), Kapasitas Fagositosis, Fermentasi teh hitam jamur kombucha.

## ABSTRACT

*Black tea and kombucha is beverage drink was known that can increase immunity. This study aims to not only determine the fermented black tea kombucha as an immunomodulatory against macrophages cell phagocytic of mice strains Balb/C in vitro, but also to determine concentration with duration fermentation that produces the highest activity*

*Fermentation kombucha was carried out for 5, 10 and 15 days with steeping black tea has been given sugar. Fermented black tea kombucha was made to any series concentrations of 6,25; 12,5; 25; 50 and 100 µg/mL, as a positive control used lipopolysaccharide (LPS) 10 mg/mL there were tested in vitro on activity phagocytic macrophage cell of mice strains Balb/C. Value of Phagocytic Index (phagocytic of latex in 100 macrophage) and phagocytic capacity (amount of macrophage that phagocytic latex) were analyzed using SPSS 16 for windows with methode Friedman test followed by Mann Withney test.*

*The results showed that fermented black tea kombucha has the highest as immunostimulatory activity on macrophage phagocytic at the concentration of 100 µg/mL and 10 days duration fermentation.*

**Keywords:** *Immunomodulatory, Phagocytic Index, Phagocytic Capacity, Fermented black tea kombucha.*

## PENDAHULUAN

Sistem kekebalan tubuh berperan penting dalam menghadapi paparan antigen. Ketika sistem imun tidak bekerja optimum

dan gagal mempertahankan keseimbangannya, tubuh akan rentan terhadap penyakit (Suhirman dan Christina, 2011). Upaya untuk mempertahankan

keseimbangan dilakukan oleh sistem imun spesifik dan non spesifik. Makrofag sebagai sistem imun non spesifik berperan sebagai mekanisme pertahanan tubuh saat pertama kali terpapar antigen seperti bakteri, virus, parasit atau zat-zat yang berbahaya bagi tubuh (Smit *et al.*, 2009). Agen imunomodulator diperlukan untuk mengatasi keadaan ketidakseimbangan sistem imun akibat paparan antigen (Baratawidjaja, 2002). Agen imunomodulator dapat merangsang bahkan meningkatkan fagositosis sel makrofag. Agen imunomodulator dapat berasal dari alam seperti tanaman yang mengandung senyawa flavonoid, seperti teh.

Teh hitam mengandung senyawa katekin yang dioksidasi secara enzimatik menjadi theaflavin dan thearubigin (Hartoyo, 2003). Theflavin merupakan senyawa polifenol, yang dapat meningkatkan sistem pertahanan tubuh melalui mekanisme peningkatan fagositosis makrofag (Susilaningih *et al.*, 2005). Mengonsumsi teh hitam dapat dengan berbagai cara dan membuatnya menjadi lebih awet melalui metode fermentasi. Fermentasi teh dapat dilakukan dengan menambahkan agen fermentasi dari bahan alam seperti jamur kombucha. Kombucha dihasilkan dari simbiosis antara *yeast* dan bakteri-bakteri yang berkoloni (Naland, 2008). Proses fermentasi kombucha paling baik dilakukan selama 8 hari (Goh *et al.*, 2012). Dan selama 10 hari tetap mengandung senyawa polifenol yang berperan sebagai agen imunomodulator (Suprijono dkk., 2012).

Bakteri-bakteri yang ada pada kombucha juga berperan dalam memodulasi sistem imun (Kozyrovska *et al.*, 2012) seperti bakteri asam laktat yang mampu meningkatkan sistem imun seluler dan humoral melalui peningkatan produksi beberapa sitokin seperti IFN- $\gamma$  dan IL-12 (Gackowska *et al.*, 2006) yang dapat mengaktifkan makrofag (Abbas *et al.*, 2007).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui mekanisme imunomodulator fermentasi teh hitam jamur kombucha melalui pengamatan fagositosis makrofag. Penelitian Ulfah dan Arifin (2013) terbukti bahwa teh hijau mampu meningkatkan fagositosis makrofag dan proliferasi sel

limfosit. Seduhan teh hitam juga telah diteliti oleh Pantas (2009) hasilnya terbukti mampu meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag. Perbedaan metode pengolahan teh dan metode penelitian menggunakan kontrol inokulasi dari bakteri *Salmonella thypimurium* yang mendasari penelitian uji aktivitas imunomodulator fermentasi teh hitam jamur kombucha terhadap fagositosis makrofag mencit galur Balb/C secara *in vitro* dengan kontrol positif Lipopolisakarida guna menjadikannya sebagai tambahan bukti ilmiah mengenai manfaat teh hitam dalam bidang imunoterapi.

## **METODE PENELITIAN**

### **A. Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan adalah serbuk kering teh hitam merk X dan Jamur Kombucha, diperoleh dari pembibitan jamur kombucha Karanganyar, Jawa Tengah, aquadestilata, gula pasir, mencit jantan galur Balb/c usia 2 bulan, etanol 70%(Merck), Medium *Rosewell Park Memorial Institute* (RPMI) 1640 (Gibco), RPMI 1640 media komplet berisi FBS (*Fetal Bovine Serum*) 10% (v/v) (Caisson), metanol(Brataco), 2% Giemsa (v/v)(Merck), LPS (*Lipopolysaccharide*, Merck), penicillin-streptomycin(Gibco), fungizon/amphoterasin B (Gibco).

Alat yang digunakan adalah toples gelas, kompor listrik dan termometer suhu, timbangan elektrik (Mettler Toledo), alat-alat bedah steril (Smicss), tabung mikropipet (Gibco), *ependrof tube* (Extragen), sentrifugase (Sorvall), pipet pasteur (Brand), petri dish steril 50 mm (Costar), spuit injeksi 10 ml (Terumo), tabung sentrifugasi 15 ml (Nunc), *vortex* (Bio-Rad), *Laminar Air Flow* (LAF) (Nuair). *Haemocytometer* (Neubauer), *inverted microscope* (Olympus), inkubator CO<sub>2</sub>5% (Heracus<sup>®</sup>), *microplate* 24 *well* (Costar), *coverslip*, mikropipet (Gibson), *ependrof tube* (Extragen), *vortex* (Bio-Rad), *Laminar Air Flow* (Nuair), *yellow tip* (Brand), dan *blue tip* (Brand).

### **B. Jalannya penelitian**

#### **1. Pembuatan Teh Hitam Jamur Kombucha**

Sebanyak 4 kantong teh hitam dibuka, lalu ditimbang sebanyak 8 gram dan tambahkan 1L air mendidih dan diamkan selama 15 menit. Setelah suhu menjadi hangat disaring, dan tambahkan 100 gram

gula pasir diaduk hingga bercampur rata. Kemudian Air seduhan dimasukan ke dalam stoples gelas steril dan tunggu hingga suhu ruang. Dan tambahkan 1 lapis jamur kombucha pada ke-3 stoples gelas steril tersebut lalu ditutup dengan kain kasa bersih kemudian diikat dengan karet gelang. Dan disimpan dalam suhu ruang selama 5, 10, dan 15 hari. Setelah hari yang ditentukan dipisahkan “jamur” yang berkembang biak di dalam media air teh hasil fermentasi kemudian disaring. Fermentasi Teh Hitam Jamur Kombucha (FTHJK).

## 2. Uji Aktivitas Imunomodulator

### a. Pembuatan Larutan Uji dan Kontrol Positif (LPS)

Larutan uji (FTHJK) dengan stok konsentrasi 8 mg/mL. Kemudian dibuat seri konsentrasi yaitu 6,25; 12,5; 25; 50 dan 100 µg/mL. Larutan stok LPS konsentrasi 1 mg/mL dibuat dengan cara melarutkannya dalam larutan *phosphate buffer saline* hingga konsentrasi yang diinginkan (10 µg/mL).

### b. Tahap Isolasi dan Inkubasi Sel Makrofag

Sel makrofag diisolasi secara aseptis dari mencit jantan galur Balb/C. Mencit dikorbankan menggunakan eter. Kulit bagian abdomen disemprot etanol 70%. Dan dibuat irisan kecil menggunakan gunting, lalu dirobek ke arah dada dan paha dibantu dengan ditarik menggunakan pinset sehingga kulit terlepas dan bagian peritoneum mencit terlihat. Media RPMI 10mL diinjeksikan dalam rongga peritoneum dengan ujung jarum menghadap ke ventral dan jangan sampai melukai organ lain. Setelah itu bagian perut ditepuk-tepuk ± 3 menit agar seluruh makrofag tersuspensi di dalam media RPMI. Cairan dalam rongga peritoneum kemudian disedot kembali lalu dimasukkan ke dalam konikel dan disentrifuge 1.200 rpm suhu 4°C selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh dibuang dan ditambahkan 3 ml medium RPMI komplit yang berisi RPMI, *penicillin*, *streptomycin*, *fungizon*, dan FBS. Jumlah sel dihitung dengan

hemositometer, dan diresuspensikan dengan RPMI komplit sehingga diperoleh suspensi sel kepadatan  $2,5 \times 10^6$ /ml. Suspensi sel dimasukkan dalam *plate* 24 sumuran yang telah diberi *coverslip* bulat. Setiap sumuran berisi 200 µl ( $5 \times 10^5$  sel). Kemudian diinkubasi dengan incubator CO<sub>2</sub> 5% suhu 37°C selama 30 menit, lalu dicuci 3 kali dengan 250 µl medium komplit dan diinkubasi selama 2 jam. Sel yang didapat dicuci dengan RPMI 2 kali, dan ditambahkan medium RPMI komplit 1 ml/sumuran dan inkubasi dilanjutkan sampai 24 jam.

### c. Tahap Uji Fagositosis Lateks

disuspensikan dalam PBS dengan konsentrasi  $2,5 \times 10^6$ /mL. Sel makrofag yang telah dikultur selama 24 jam sebelumnya, media diambil menggunakan pipet tetes kemudian sel dicuci 2 kali dengan RPMI. FTHJK sebanyak 100 µL ditambahkan ke tiap-tiap sumuran dan direplikasi 3 kali untuk setiap konsentrasi, dan diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5% suhu 37°C selama 4 jam. Lateks yang telah diresuspensikan dengan RPMI ditambahkan ke dalam tiap-tiap sumuran sebanyak 200 µl dan inkubasi dilanjutkan dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5% suhu 37°C selama 1 jam, Sel kemudian dicuci dengan PBS sebanyak 3 kali dan dikeringkan pada suhu ruangan dan difiksasi dengan metanol selama 30 detik. Selanjutnya metanol dibuang dan *coverslip* didiamkan sampai kering. Setelah kering, *coverslip* dipulas dengan giemsa 2% (v/v) selama 20 menit, dicuci dengan aquadest, diangkat dari sumuran kultur dan dikeringkan pada suhu kamar. Seratus sel makrofag diamati dan dihitung jumlah makrofag yang memfagositosis partikel lateks diamati dan dihitung dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x (Leijh dkk (1986). Hasil perhitungan jumlah latek digunakan untuk menghitung nilai Indeks Fagositosis (IF) dan kapasitas fagositosis. menggunakan rumus berikut: (Jensch-Junior *et al.*, 2006).

$$\text{Kapasitas Fagositosis} = \frac{\text{jumlah makrofag yang memfagositosis}}{\text{Jumlah makrofag yang dihitung}(100)} \times 100\%$$

$$\text{Indeks Fagositosis} = \frac{\text{jumlah partikel yang terfagositosis}}{\text{Jumlah makrofag yang aktif (100)}}$$

### 3. Analisis Data

#### a. Uji Aktivitas Fagositosis Makrofag

Data IF dan Kapasitas Fagositosis, dianalisis secara statistik menggunakan program SPSS 16 *for windows*. Nilai IF dan kapasitas bersifat proposional terhadap jumlah sel yang aktif.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 1. Pembuatan Teh Hitam Jamur Kombucha

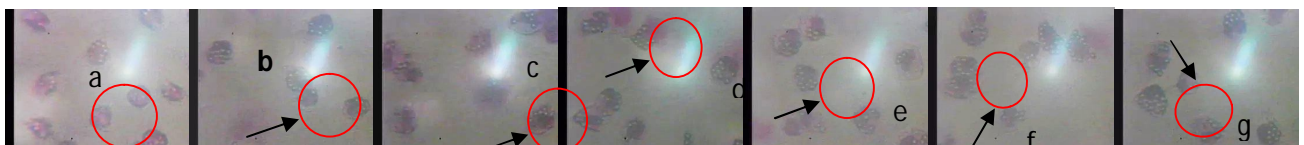
Teh hitam jamur kombucha dibuat menggunakan metode fermentasi.. Kombucha merupakan kumpulan khamir dan mikrobia yang hidup berkoloni membentuk lapisan-lapisan selulosa. Mikrobia yang terdapat di dalam kombucha adalah kelompok *Acetobacter* (*Acetobacter xylinum* dan khamir yaitu *Saccharomyces cerevisiae*) (Jayabalan *et al.*, 2014). Khamir berperan merombak gula (sukrosa) menjadi alkohol kemudian alkohol dioksidasi oleh bakteri asam asetat seperti *Acetobacter* dengan bantuan enzim asetaldehid dehidrogenase menghasilkan asam laktat, asam asetat, asam malat, asam oksalat, asam glukonat, asam butirat, asam nukleat, asam amino (Frank, 1995) dan bermanfaat meningkatkan imunitas tubuh dan memicu proses regenerasi sel (Naland, 2008). Penyeduhan teh pada suhu 100°C menyebabkan kandungan senyawa (pilofenol) teh tersari lebih banyak, (Bijaksana, 2012). Fermentasi dilakukan selama 5, 10 dan 15 hari, hal ini mempengaruhi pertumbuhan mikrobia dan khamir penyusun kombucha (Ardheniati, 2008). Naland (2008) mengatakan proses fermentasi dilakukan selama 7-10 hari.

#### 2. Uji Aktivitas Imunomodulator

Lateks beads digunakan karena ukurannya mirip dengan bakteri, penelitian ini menggunakan lateks berukuran 3 µm, hal

ini sesuai dengan rentang ukuran bakteri yaitu 1-10 µm (Nester, 2004) dan ukuran makrofag adalah 100-225 µm (Abbas *et al.*, 2007; Baratawidjaja dan Rengganis, 2012). Hasil pengamatan secara mikroskopis terlihat pada Gambar 1, bahwa partikel lateks yg dimakan oleh makrofag berbentuk bulatan kuning yang berpendar. Sedangkan makrofag yang kosong artinya tidak memakan lateks. Kontrol positif Lipopolisakarida (LPS) suatu endotoxin yang dapat menstimulasi respon imun dari inang (Baratawidjaja dan Rengganis, 2012). Uji aktivitas fagositosis makrofag menggunakan parameter indeks fagositosis yaitu jumlah partikel lateks yang dapat difagositosis oleh 100 makrofag aktif dan kapasitas fagositosis yaitu jumlah makrofag yang mampu memakan partikel lateks. Lateks yang dimakan menandakan proses fagositosis terjadi. Penelitian ini menggunakan dua variabel yaitu perbedaan seri konsentrasi dan lamanya hari fermentasi. Hasil yang didapatkan dari variasi konsentrasi terlihat pada Tabel I.

Analisis statistik non parametrik uji *Kruskal Wallis* ( $p < 0.05$ ) dilanjutkan dengan uji *Mann Withney* terhadap nilai Kapasitas Fagositosis menunjukkan bahwa aktivitas imunostimulator baru terjadi pada konsentrasi 50 dan 100 µg/mL karena menunjukkan hasil yang signifikan apabila dibandingkan dengan kontrol normal, kontrol positif dan semua konsentrasi. Semakin tinggi konsentrasi yang digunakan akan semakin banyak pula polifenol yang tersari (Astill *et al.*, 2001), kandungan polifenol tersebut berperan dalam aktivitas fagositosis makrofag (Susilaningih *et al.*, 2005) melalui produksi IL-12 yang nantinya akan mengaktifkan sel NK sehingga mensekresi IFN-γ dan kemudian makrofag dapat teraktivasi dan membunuh antigen melalui 2 mekanisme *oxygen dependent* dan *oxygen independent* (Abbas *et al.*, 2007).



Gambar 1. Profil Fagositosis Makrofag secara Mikroskopis

Keterangan :

- |   |  |
|---|--|
| (A) Kelompok kontrol sel makrofag                                   | Kelompok FTHJK konsentrasi 25 µg/mL      |
| (B) Kelompok kontrol positif: lipopolisakarida konsentrasi 10 µg/mL | (E) Kelompok FTHJK konsentrasi 50 µg/mL  |
| (C) Kelompok FTHJK konsentrasi 6,25 µg/mL                           | (F) Kelompok FTHJK konsentrasi 100 µg/mL |
| (D) Kelompok FTHJK konsentrasi 12,5 µg/mL                           | → : Fagositosis makrofag                 |

**Tabel I. Aktivitas Immunomodulator FTHJK terhadap Fagositosis Makrofag Mencit Galur Balb/C, dilihat dari Nilai Kapasitas Fagositosis**

Replikasi	Kapasitas Fagositosis																
			HARI KE-5					HARI KE-10					HARI KE-15				
	I	II	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
1	96%	100%	99%	99%	95%	100%*	100%*	98%	97%	96%	99%*	100%*	98%	98%	99%	100%*	99%*
2	99%	100%	100%	100%	99%	100%*	100%*	95%	100%	98%	99%*	98%*	96%	96%	99%	100%*	100%*
3	99%	96%	97%	98%	100%	100%*	100%*	97%	97%	99%	99%*	100%*	96%	96%	100%	100%*	100%*
Rata-rata	0.98	0.99	0.99	0.99	0.98	1.00*	1.00*	0.97	0.98	0.98	0.99*	0.99*	0.97	0.97	0.99	1.00*	1.00*
SD	0.02	0.02	0.02	0.01	0.03	0.00	0.00	0.02	0.02	0.02	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01

Keterangan :

I = Kontrol Normal

II = Kontrol Positif (LPS)

A = Kelompok perlakuan sampel uji dengan konsentrasi 6,25 µg/mL

B = Kelompok perlakuan sampel uji dengan konsentrasi 12,5 µg/mL

C = Kelompok perlakuan sampel uji dengan konsentrasi 25 µg/mL

D = Kelompok perlakuan sampel uji dengan konsentrasi 50 µg/mL

E = Kelompok perlakuan sampel uji dengan konsentrasi 100 µg/mL

Selain berdasarkan nilai kapasitas fagositosis, nilai indeks fagositosis juga digunakan sebagai parameter aktivitas fagositosis makrofag. Hasil nilai IF secara statistik dapat dilihat pada Tabel II.

Nilai indeks fagositosis menggambarkan jumlah lateks yang dimakan makrofag. berdasarkan hasil analisis statistik parametrik *one way* ANOVA setelah dilanjutkan menggunakan uji *Tukey* seri konsentrasi menunjukkan perbedaan bermakna terhadap kontrol normal tetapi tidak menunjukkan perbedaan bermakna

antar konsentrasi maupun untuk kontrol positif, sehingga aktivitasnya dianggap sama dengan kontrol positif. Setelah dilihat dari kolom *mean difference* ternyata konsentrasi 100 µg/mL yang memberikan aktivitas paling baik jika dibandingkan dengan kelompok konsentrasi 6,25; 12,5; 25; 50 µg/mL dan kontrol positif yaitu LPS dengan konsentrasi 10 µg/mL. Lama waktu hari fermentasi juga dianalisis untuk mengetahui pengaruhnya terhadap aktivitas fagositosis makrofag. berdasarkan nilai IF pengaruh lama waktu hari fermentasi dapat dilihat pada Gambar 2.

**Tabel. II Aktivitas immunomodulator FTHJK terhadap fagositosis makrofag mencit galur Balb/C, dilihat dari nilai IF**

Replikasi	IF																
			HARI KE-5					HARI KE-10					HARI KE-15				
	I	II	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
1	4.93*	5.04	5.00	4.99	5.24	5.98	5.83	4.90	5.54	4.56	6.45	6.86	4.87	5.19	4.48	4.46	5.10
2	3.67*	4.76	5.61	6.02	4.82	4.83	5.80	5.79	5.64	6.25	4.95	5.29	5.13	4.72	5.00	4.58	5.04
3	3.96*	5.06	4.46	4.36	4.84	5.40	5.90	4.49	5.59	5.57	5.03	5.94	4.71	5.20	4.57	4.92	4.91
Rata-rata	4.19*	4.95	5.02	5.12	4.97	5.40	5.84	5.06	5.59	5.46	5.48	6.03	4.90	5.04	4.68	4.65	5.02
SD	0.66	0.17	0.58	0.84	0.24	0.58	0.05	0.66	0.05	0.85	0.84	0.79	0.21	0.27	0.28	0.24	0.10

Keterangan :

I = Kontrol Normal

II = Kontrol Positif (LPS)

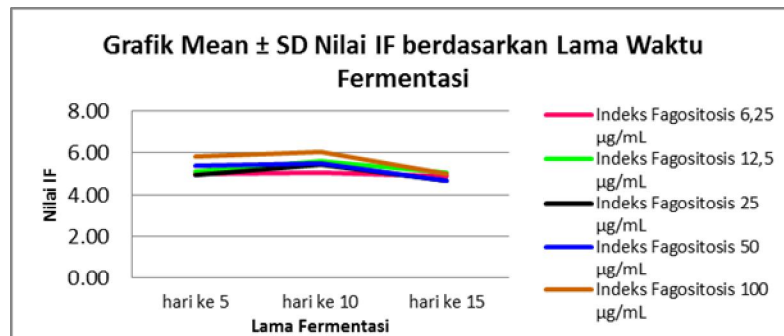
A = Kelompok perlakuan sampel uji dengan konsentrasi 6,25 µg/mL

B = Kelompok perlakuan sampel uji dengan konsentrasi 12,5 µg/mL

C = Kelompok perlakuan sampel uji dengan konsentrasi 25 µg/mL

D = Kelompok perlakuan sampel uji dengan konsentrasi 50 µg/mL

E = Kelompok perlakuan sampel uji dengan konsentrasi 100 µg/mL



Gambar 2. Grafik Mean nilai Indeks Fagositosis Berdasarkan Lama Hari Fermentasi

Hasil yang ditunjukkan pada grafik tersebut bahwa semakin bertambahnya jumlah hari fermentasi maka akan semakin turun aktivitasnya. Pengujian pengaruh lama hari fermentasi terhadap aktivitas fagositosis yang dinyatakan dengan nilai IF secara non parametrik menggunakan *Kruskal Wallis*

ternyata terdapat perbedaan antar kelompok hari, kemudian dilakukan uji lanjutan menggunakan *Mann Whitney test* untuk melihat letak perbedaannya, hasil yang didapatkan digambarkan pada Tabel III sebagai berikut:

Tabel III. Signifikansi Indeks Fagositosis Variabel Lama Fermentasi dengan *Mann Whitney Test*

Lama Fermentasi	Hari ke-5	Hari ke-10	Hari ke-15
Hari ke-5	-	TB	TB
Hari ke-10	TB	-	B
Hari ke-15	TB	B	-

Tabel tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan pada lama hari fermentasi ke-10 dan 15. Jika diamati pada grafik terlihat bahwa aktivitas dimulai pada hari ke-5 sampai tertinggi pada hari fermentasi ke-10, FTHJK terbukti mengandung senyawa polifenol sampai fermentasi hari ke-10 (Suprijono dkk., 2012) selain itu senyawa aktif pada teh tidak mengalami perubahan selama proses fermentasi, justru kombinasi teh hitam dan jamur kombucha menghasilkan manfaat yang lebih baik dalam peningkatan sistem imun tubuh (Dufresne and Franworth, 2000) kombinasi antara kombucha dengan media teh yang mengandung gula, khamir yang ada pada kombucha memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, glukosa diubah oleh enzim menjadi alkohol, sedangkan bakteri *Acetobacter* mengubah alkohol menjadi asam asetat, khamir dan bakteri juga menghasilkan asam glukonat dan glukoronat (Karyantina dan Suhartatik, 2008) efek asam glukoronat dapat meningkatkan sistem imun tubuh (Riniharsari and Richter, 2008).

Fermentasi hari ke-15 menunjukkan penurunan aktivitas fagositosis hal ini terjadi karena kandungan gula telah berkurang akibat reduksi di awal fermentasi, yang dapat mempengaruhi produksi alkohol dan asam oleh bakteri. Asam asetat banyak diproduksi pada hari ke-10 hal ini terkait pada proses pematangan jamur pada hari ke-10 (Suhartatik *et al.*, 2011). Goh *et al.* (2012), menyatakan hari fermentasi yang paling baik untuk memperoleh kultur bakteri yang optimal yaitu selama 8 hari. Pada penelitian Ardheniati (2008), diperoleh fermentasi yang optimal dilakukan selama 5 hari. Lama fermentasi akan berkontribusi terhadap aktivitas perubahan pH, pembentukan asam dan alkohol. Pembentukan asam inilah yang mempengaruhi aktivitas fagositosis makrofag. Sedangkan jika dilihat dari nilai kapasitas fagositosis lama waktu hari fermentasi tidak berpengaruh terhadap jumlah makrofag yang aktif memakan lateks. Lama fermentasi hanya berpengaruh pada nilai Indeks Fagositosis. Hal ini berbeda pada penelitian Ulfah dan Arifin

(2013) dengan konsentrasi yang sama 6,25 µg/mL; 12,5 µg/mL; 25 µg/mL; 50 µg/mL dan 100 µg/mL dengan jenis teh berbeda yaitu teh hijau ternyata, lama fermentasi tidak berpengaruh signifikan terhadap aktivitas fagositosis berdasarkan nilai Indeks Fagositosis. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan kandungan senyawa polifenol teh hitam tidak berubah selama proses fermentasi hingga hari ke-10 (Dufresne and Franworth, 2000; Suprijono dkk., 2012). Berdasarkan uraian diatas dapat disimpulkan bahwa teh hitam jamur kombucha dapat meningkatkan aktivitas fungsi makrofag dimana kemampuannya sama baiknya dengan kontrol positif, yaitu LPS 10 µg/mL.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

1. FTHJK mempunyai aktivitas imunostimulator pada konsentrasi 50 µg/mL dan 100 µg/mL ( $p < 0,05$ ) berdasarkan kapasitas fagositosis.
2. Konsentrasi yang menunjukkan aktivitas terbaik ada pada 50 µg/mL.
3. Hari fermentasi mempengaruhi aktivitas fagositosis makrofag, lamanya hari fermentasi yang paling baik ada pada hari ke-10 berdasarkan nilai Indeks Fagositosis

### B. Saran

1. Perlu dilakukan orientasi konsentrasi terlebih dahulu untuk mengetahui dosis optimum dari aktivitas imunomodulator terhadap fagositosis makrofag fermentasi teh hitam jamur kombucha.
2. Perlu dilakukan penelitian tentang identifikasi dan isolasi senyawa aktif fermentasi teh hitam jamur kombucha yang berperan dalam aktivitas fagositosis makrofag

## DAFTAR PUSTAKA

Abbas, A.K., Lichtman, A.H. and Pillai, S., 2007, *Cellular and Molecular Immunologi* 6<sup>th</sup> Ed., Saunders Elsevier, Philadelphia, 11-16.

Ardheniati, M., 2008, Kinetika Fermentasi pada Teh Kombucha dengan Variasi Jenis Teh Berdasarkan Pengolahannya, *Skripsi*, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Astill, C., Birch, M. R., Dacombe, C., Philip, G., Humphrey., and Martin, P. T., 2001, Factors affecting the caffeine and polyphenol content of black and green tea infusions, *J. Agric. Food Chem*, **49**: 5340-5347 cited in Bijaksana, M. I., 2012, Pengaruh Suhu dan Waktu Penyeduhan Teh Hitam (*Camellia sinensis*) serta Proses Pencernaan *In Vitro* terhadap Aktivitas Inhibisi Lipase, *Skripsi*, Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.

Baratawidjaja, K.G., 2002, *Imunologi Dasar*, Edisi Kelima, hal. 12, 374, 194-195, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.

Baratawidjaja, K.G. dan Rengganis, I., 2012, *Imunologi Dasar*, edisi ke-10, Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 29-32, 39, 93-147.

Bijaksana, M. I., 2012, Pengaruh Suhu dan Waktu Penyeduhan Teh Hitam (*Camellia sinensis*) serta Proses Pencernaan *In Vitro* terhadap Aktivitas Inhibisi Lipase, *Skripsi*, Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.

Dufresne, C. & Farnworth, E., 2000, Tea, Kombucha and Health: a Review, *Food Research International*, **33**, 409-421.

Frank, G. W., 1995, *Kombucha Healthy Beverages and Natural Remedy From The Far East*, diterjemahkan oleh Surjosuparto N., Publishing W. Eenstaler Cosp Germany. <http://www.kombu.de/anl-ind.htm> diakses tanggal 2 Maret 2014.

Gackowska, L., Mitchalkiewicz, J., Krotkiewski, M., Helmin Basa, A., Kubiszewska, I. and Dzierzanowska, D., 2006, Combiner effect of different lactic acid bacteria strain on the mode of cytokines pattern expression in human peripheral blood mononuclearcells, *J Physiol and Pharmacol*, **57**(9); 13-21.

Goh, W.N., Rosma A., Kaur, B., Fazilah, A., Karim A.A., and Rajeev, B., 2012, Fermentation of Black Tea Broth (Kombucha) : I. Effects of Sucrose Concentration and Fermentation Time on The Yield of Microbial Cellulose, *Internasional Food Research Journal*, **19** (1), 109-117.

- Hartoyo, A., 2003, *Teh dan Khasiatnya bagi Kesehatan*, Penerbit Kanisius, Yogyakarta, 11-22.
- Jayabalan, R., Malbasa, R.V, Loncar, E.S., Vitas, J.S., and Sathiskumar, M., 2014, Review on Kombucha Tea-Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **13**, 538-550.
- Jensch-Junior, B.E., Pressinotil, N., Borges, J.C.S. and Cunha da Silva, J.R.M., 2006, Characterization of Macrophage Phagocytosis of the Tropical Fish *Prochilodus scrofa* (Steindachner, 1881), *Aquaculture*, **251**; 509-515, cited Difita, L., 2014, Uji Aktivitas Fagositosis Makrofag Kombinasi Ekstrak Etanol Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz.& Pav.), dan Umbi Keladi Tikus (*Typhonium flagelliforme*(Lodd.) Blume) secara *In Vitro*, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Karyatina, M., dan Suhartatik, N., 2008, Kombucha dengan Variasi Kadar Gula Kelapa Sebagai Sumber Karbon, *J. Teknologi & Industri Pangan*, **19**, 165-169.
- Kozyrovska, N.O., Reva, O.M., Goginyan, V.B. and Vera, J.-P.d., 2012, Kombucha Microbiome as A Probiotic : A View From The Perspective of Post-Genomics and Synthetic Ecology. *Biopolymers and Cell*, ISSN 0233-7657. **28**, N2. P, 103-113.
- Leijh, P.J.C., Furth, R.V. & Zwet, T.L.V., 1986, In Vitro Determination of Phagocytosis and Intercellular Killing by Polymorphonuclear and Mononuclear Phagocytes, In: Weir DM, Editor, *Cellular Immunology*, **2**, Blackwell Scientific Publication, London, 74-85
- Naland, H., 2008, *Kombucha Teh Ajaib Pencegah dan Penyembuh Aneka Penyakit*, Agromedia Pustaka, Jakarta, 1-3, 9-16.
- Nester, E.W., Anderson, D. G., Roberts, C. E., Pearsall, N.N. & Nester, M. T., 2004, *Microbiology a Human Perspective*, Edisi IV, Mc. Graw-Hill, New York, 13.
- Pantas, F.M., 2009, Pengaruh Pemberian Seduhan Teh Hitam (*Camellia sinensis*) Dosis Bertingkat terhadap Aktivitas Fagositosis Makrofag Mencit Balb/C yang Diinokulasi Salmonella typhimurium , *Skripsi*, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.
- Rinihapsari, E. & Richter, C.A., 2008, Fermentasi Kombucha dan Potensinya Sebagai Minuman Kesehatan, *Media Farnasi Indonesia*, **3** (2), 241-246.
- Suhartatik N, Karyantina M, Marsuno Y, Rahayu ES, Kuswantoro KR: Kombucha as Hypercholesterolemic agent (in vitro study using SD rats). ''Proceeding of the 3rd International Conference of Indonesian Society for Lactic Acid Bacteria (3rd IC-ISLAB): Better Life with Lactic Acid Bacteria: Exploring Novel Function of Lactic Acid Bacteria, 2011, Yogyakarta, Indonesia.
- Suhrman, S. dan Christina, W., 2011, Prospek dan Fungsi Tanaman Obat Sebagai Imunomodulator, Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, <http://balitro.litbang.deptan.go.id/>, diakses tanggal 7 Januari 2014.
- Suprijono, A., Gresti, K.P. dan Eka, S.Hp.,2012, Pengaruh Fermentasi Kultur Kombucha terhadap Aktivitas Antioksidan Infus Daun Teh Hitam *Camellia sinensis* O.K. var.assamica (mast) dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Media Farmasi Indonesia*. **6**(2), 92-94, <http://journal.stifar.ac.id/>, tanggal 7 Januari 2014.
- Susilaningsih, N., Johan, A., Gunardi. dan Winarto., 2005, Pengaruh polifenol teh hijau dan komponen aktifnya terhadap aktifitas fagositosis makrofag dalam membunuh bakteri, *Media Medika Indonesia*; **40** : 76-81.
- Smit, E., Oberholzer, HM., and Pretorius, E., 2009, A review of Immunomodulators with reference to Canova, *Homeopathy*, **98**, 169–176.
- Ulfah, M., dan Arifin, I., 2013, Teh Jamur Kombucha Sebagai Imunomodulator Terhadap Proliferasi Sel Limfosit Mencit Galur Balb/c Secara *In Vitro*, *Prosiding Simposium Nasional "Peluang dan Tantangan Obat Tradisional dalam Pelayanan Kesehatan Formal"*, 95-100.