

DISERTASI

**EFEKTIVITAS EKSTRAK *CURCUMA LONGA* MENCEGAH KERUSAKAN
SEL JARINGAN PLASENTA PADA MENCIT HAMIL MUDA DENGAN
TOKSOPLASMOSIS AKUT: ANALISIS KADAR ANTIBODI IgM-IgG ANTI
TOKSOPLASMA, EKSPRESI GEN FOXP3, KADAR TNF- α , DAN
HISTOPATOLOGI JARINGAN PLASENTA**

***EFFECTIVENESS OF CURCUMA LONGA EXTRACT TO PREVENT
PLACENTAL CELLS TISSUE DAMAGE IN EARLY PREGNANT MICE WITH
ACUTE TOXOPLASMOSIS: ANALYSIS OF ANTI-TOXOPLASMA IgG-IgM
ANTIBODIES LEVELS, FOXP3 GEN EXPRESSION, TNF- α LEVELS, AND
PLACENTAL HYSTOPATHOLOGY EXAMINATION***

**TIGOR PENIEL SIMANJUNTAK
NPM : P 0200314416**



**PROGRAM STUDI S3 ILMU KEDOKTERAN
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2018**

**EFEKTIVITAS EKSTRAK *CURCUMA LONGA* MENCEGAH KERUSAKAN
SEL JARINGAN PLASENTA PADA MENCIT HAMIL MUDA DENGAN
TOKSOPLASMOSIS AKUT: ANALISIS KADAR ANTIBODI IgM-IgG ANTI
TOKSOPLASMA, EKSPRESI GEN FOXP3, KADAR TNF- α , DAN
HISTOPATOLOGI JARINGAN PLASENTA**

Disertasi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Doktor

Program Studi

Ilmu Kedokteran

Disusun dan diajukan oleh

TIGOR PENIEL SIMANJUNTAK

Kepada

**PROGRAM STUDI S3 ILMU KEDOKTERAN
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2018**

DISERTASI

**EFEKTIVITAS EKSTRAK CURCUMA LONGA MENCEGAH KERUSAKAN SEL
JARINGAN PLASENTA PADA MENCIT HAMIL MUDA DENGAN
TOKSOPLASMOSIS AKUT: ANALISIS KADAR ANTIBODI IgM-IgG ANTI
TOKSOPLASMA, EKSPRESI GEN FOXP3, KADAR TNF- α , DAN
HISTOPATOLOGI JARINGAN PLASENTA**

Disusun dan diajukan oleh

TIGOR PENIEL SIMANJUNTAK

Nomor Pokok P0200314416

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Disertasi
pada tanggal 7 Maret 2018
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Komisi Penasehat

Prof. Dr. dr. Syahrul Rauf, Sp. OG(K)
Promotor

Prof. dr. Irawan Yusuf, Ph.D
Ko-Promotor

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kedokteran

Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK

Dr. dr. Andi Mardiah Tahir, Sp. OG(K)
Ko-Promotor

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin

Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp. BS

DAFTAR TIM PENGUJI

1. Prof. Dr. dr. Syahrul Rauf, Sp.OG(K)
2. Prof. dr. Irawan Yusuf, Ph.D
3. Dr. dr. Andi Mardiah Tahir, Sp.OG(K)
4. Dr. dr. Carmen Siagian, MS., Sp.GK
5. Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D., Sp.MK(K)
6. Prof. Dr. dr. Nurpuji Astuti Taslim, Sp.GK., MPH
7. Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS
8. Prof. Dr. dr. Nusratuddin Abdullah, Sp.OG(K)., MARS
9. Hasnawati, Ph.D

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan di bawah ini

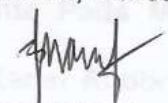
Nama : Tigor Peniel simanjuntak

Nomor Mahasiswa : P 0200314416

Program studi : Doktor Ilmu Kedokteran

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Maret 2018



Tigor Peniel Simanjuntak

PRAKATA

Puji syukur dan terimakasih yang tiada terukur saya sampaikan kepada Tuhan Yang Maha Esa dan Maha Kasih yang telah memberikan kehidupan, kesehatan, akal budi, hikmat, pengharapan dan semangat kepada saya sehingga dapat menyelesaikan disertasi ini tidak melebihi batas waktu yang sudah ditetapkan.

Penelitian ini terinspirasi dari pengalaman keseharian sebagai dokter spesialis kebidanan dan kandungan yang cukup sering mendengar keluhan dan kekuatiran pasien tentang kejadian abortus yang dialaminya akibat terinfeksi parasit *Toxoplasma gondii*. Penulis juga terinspirasi dengan hasil penelitian para ahli terdahulu mengenai manfaat dan efektifitas kunyit kuning sebagai anti inflamasi, anti parasit, dan anti oksidan, serta kunyit ini banyak dan mudah ditemukan di Asia umumnya dan di Indonesia khususnya. Oleh sebab itu penulis menetapkan penelitian tentang : **Efektivitas Ekstrak *Curcuma Longa* Mencegah Kerusakan Sel Jaringan Plasenta Pada Mencit Hamil Muda dengan Toksoplasmosis Akut: Analisis Kadar Antibodi IgG- IgM Anti Toxoplasma, Ekspresi gen Fox3, Kadar TNF- α , dan Histopatologi Jaringan plasenta**

Penulis sangat amat sadar bahwa penulis mustahil dapat menyelesaikan pendidikan dan disertasi ini tepat waktu tanpa peran serta dan bimbingan promotor, Co- promotor, para guru-guru saya , tim penguji, teman sejawat, institusi terkait, keluarga, sahabat dan bapak/ ibu yang sudah membantu selama

pendidikan dan selama penelitian. Oleh sebab itu secara khusus saya mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada Prof. Dr. Syahrul Rauf, SpOG (K) sebagai promotor., Prof. dr. Irawan Yusuf, Ph.D sebagai co-promotor., Dr. dr. Andi Mardiah Tahir, SpOG (K) sebagai Co-promotor. Ucapan terimakasih yang tiada terukur dan ternilai saya sampaikan kepada Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp. MK(K)., Dr. dr. Burhanuddin Mahar, MS., Prof. Dr, dr. Nurpujiastuti A. Taslim, Msc, SpGK (K)., Prof. Dr. dr. Nusratuddin, SpOG (K)., MARS., Dr. dr. Carmen Siagian, MS, Sp. GK., dan Hasnawati Saleh, Ph.D sebagai tim penguji disertasi

Penulis juga sampaikan ucapan terimakasih yang sebesar besarnya kepada:

1. Rektor Universitas Hasanuddin Ibu Prof, Dr. Dwia AriesTina Pulubuhu, MA dan kepada Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Bapak Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam SpBS (K), Ketua Program Pasca Sarjana UNHAS serta ketua Pendidikan kedokteran Program Doktor (S3) Bapak Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K) beserta jajarannya yang telah memberi kesempatan kepada kami dan saya khususnya untuk mengikuti pendidikan program doktor di bidang ilmu kedokteran sejak bulan Juli 2014 di FK. UNHAS.
2. Ketua Yayasan Universitas Kristen Indonesia, Bapak Dipl. Ing. Salomo Pandjaitan, Rektor Universitas Kristen Indonesia Bapak Dr. Maruarar Panjaitan SH, Wakil rektor I Bapak Dr. Wilson Radjagukguk. M.Si., MA, Wakil Rektor II Dr. dr. Bernadetha Nadeak, M.Pd., PA. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Indonesia Bapak dr. Marwito Wiyanto, M.

BioMed., AIFM, Wakil Dekan I Ibu dr, Sisirawaty, MS., Sp. Par, Wakil Dekan II Ibu Chyntia M. Sahetapi, Sp.S, Wakil Dekan III Ibu Louisa Ariantje Langi, M.Si. Ketua Program studi S3 Kedokteran Universitas Kristen Indonesia Ibu Dr. dr. Carmen Siagian, MS, Sp.GK yang sudah berjuang untuk mendukung kami bisa mengikuti pendidikan S3 kedokteran lewat jalur aviliasi UKI – UNHAS.

3. Para guru-guru saya selama pendidikan S3 kedokteran di UNHAS yang sudah memberikan waktu dan keilmuannya kepada saya. Guruku, engkau adalah pahlawan bagiku, jasa dan pribadimu terukir di sanubariku yang tak akan pernah saya lupakan. Doaku kiranya diberikan kesehatan dan umur yang panjang serta amal para guru-guruku tidak akan pernah sia-sia.
4. Dekan Fakultas Farmasi UNHAS Bapak Prof. Dr. dr. Gemini Alam, M.Si., Apoteker, khususnya Laboratorium Fito kimia. Terimakasih banyak kepada Bapak Abdul Rahim, s.Si., M.Si., Apt, Ibu Dra. Nursiah Hasyim, CES., Apt, Bapak Aswald dan Bapak Rehan yang sudah berkenan berbagi ilmu dan pengalaman dalam proses pembuatan ekstrak kunyit dan pemberian ekstrak kunyit kepada mencit selama penelitian.
5. Laboratorim Patologi anatomi Pusat Studi Satwa Primata Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Institute Pertanian Bogor, khususnya kepada ibu Drh. Silvia AP, MSI, APVet (Patologist) beserta staff yang telah berbagi ilmu pengetahuan dan ketrampilan mulai dari proses persiapan jaringan, pemotongan, fiksasi, pewarnaan, sampai

- penilaian gambaran histopatologi jaringan plasenta dengan menggunakan mikroskop.
6. Laboratorium Biologi Molekular dan Imunologi FK. UNHAS Bapak Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp. MK(K) yang sudah mendidik dan mengajari kami dengan tulus tanpa mengenal lelah dan kesal supaya kami bisa. Keteladanan sebagai Maha guru amat sangat kami rasakan dan tidak akan terlupakan. Pribadimu menjadi teladan kepada kami.
 7. Staff Laboratorium Biologi Molekular dan Imunologi FK. UNHAS , Bapak Romi Usman, Marwani, Wilhelmus Jebaru. Terimakasih yang sudah membantu kami kesehariannya di Laboratorium baik dalam pemeliharaan mencit, pengambilan sampel darah, penyimpanan sampel, sampai proses pemeriksaan sampel. Terimakasih banyak saudaraku, segala amal baik yang sudah kalian lakukan tidak akan sia – sia.
 8. Kepada Dr, dr. Burhanuddin, MS dan Dr. dr. Ilham yang sudah mengajari ilmu SPSS, ilmu statistik dalam hal pengolahan dan analisa data. Terimakasih guruku, Bapak merupakan bagian dari keberhasilan saya untuk bisa menyelesaikan disertasi S3 saya.
 9. Terimakasih saya yang tulus juga saya sampaikan kepada Komite etik UNHAS yang telah memberi saran dan ijin penelitian saya, bapak Jibril (Pasca sarjana UNHAS) yang telah membantu proses beasiswa saya, Bapak Dahyar, Bapak Akmal, Bapak Abdul Muin Tanribali/ Bapak Mumu, Ibu Nur (Staf Program studi S3 kedokteran) yang kesehariannya

- mendukung segala proses administrasi pendidikan S3 saya dan bapak Rayhan yang membantu penggandaan materi disertasi.
10. Mahasiswa S3 ilmu kedokteran angkatan 2014 afiliasi UKI – UNHAS yang sudah menjadi sahabat dan saudara yang menjadi teman belajar dan berdiskusi dalam kesehariannya. Terimakasih atas kerjasamanya, dukungan moral yang memberi semangat untuk tetap bisa bersama sama menyelesaikan studi tepat waktu.
 11. Para guru besar saya di FK. UKI (Prof. dr. I.O. Marsis, Sp. OG(K)., Prof, Dr. dr. Retno, Sp. Par (K), Prof, dr. Rondang Siagian, Ph.D., Prof. Dr. Dra. Yovita., Prof. Dr. dr. Sibuea, Sp. PD (K), Prof. Dr, Drh. Reviani), serta para guru dan teman dosen yang tidak saya sebutkan satu persatu, teman sejawat, alumni FK. UKI, serta mahasiswa kepaniteraan klinik OBSGIN. Terimakasih atas peran serta yang sudah membantu dan mendukung saya untuk menjadi dan menyelesaikan pendidikan S3 di UNHAS.
 12. Orang tua saya Paian Simanjuntak/ Samaria br Napitupulu (alm), Mertua saya (dr. V.S. Ritonga, Sp.A / Christina M. br Hutagalung), dan keluarga besar Simanjuntak/ br. Napitupulu serta keluarga besar Ritonga/ br Hutagalung yang senantiasa mendukung dan memotivasi kami untuk tetap maju dalam dunia pendidikan khususnys di bidang Kedokteran.
 13. Istri saya dr. Dewi Ayu Basaria Magdalena Ritonga dan kedua anak saya Kerenza Doxolodeo Simanjuntak dan Christopher Sebastian Simanjuntak yang menjadi penyemangat dan ispirator buat saya. Terimakasih atas

kesabaran, dukungan, dan doanya sehingga papa dapat mengikuti pendidikan S3 Kedokteran di Makassar meskipun kita tinggal di Jakarta.

14. Kepada semua pihak yang tidak saya sebutkan satu persatu, tanpa mengurangi rasa hormat saya. Terimakasih atas peran serta yang telah mendukung serta membantu saya selama pendidikan S3 kedokteran. Tiada pemberian yang lebih berharga yang saya sampaikan kecuali doa dan ucapan terimakasih yang sebesar besarnya. Tuhan berkatilah.

Makassar, Maret 2018

Penulis

Tigor Peniel Simanjuntak.

ABSTRAK

TIGOR PENIEL SIMANJUNTAK. *Efektivitas Ekstrak Curcuma Longa Mencegah kerusakan Sel Jaringan Plasenta Pada Mencit Hamil Muda Dengan Toksoplasmosis Akut: Analisis Kadar Antibodi IgG-IgM Anti Toksoplasma, Ekspresi Gen FOXP3, Kadar TNF α , Histopatologi Jaringan Plasenta* (Dibimbing oleh Syahrul Rauf, Irawan Yusuf, dan Andi Mardiah Tahir).

Penelitian bertujuan membuktikan efektivitas ekstrak *Curcuma longa* sebagai anti inflamasi dapat mencegah kerusakan sel jaringan plasenta pada mencit hamil muda dengan toksoplasmosis akut.

Penelitian dilakukan terhadap dua puluh ekor mencit hamil muda yang dibagi menjadi lima kelompok (K1-K5). K1-K4 disuntik takizoid *Toxoplasma gondii*, tiga hari kemudian selama tujuh hari, K1 diberikan ekstrak *Curcuma longa* 125 mg/kg bb/hari; K2 diberikan 500 mg/kg bb/hari; K3 diberikan spiramisin 60 mg/kg bb/hari; K4 diberikan aquadest 0,2 ml. K5 kelompok yang tidak diintervensi. Sampel darah diambil secara serial (satu hari sebelum dan tiga hari pasca injeksi takizoid, serta tiga hari dan tujuh hari pasca intervensi) untuk pemeriksaan kadar IgG-IgM anti toksoplasma dan kadar TNF- α dan pemeriksaan ekspresi mRNA Foxp. Setelah tujuh hari intervensi, mencit dikorbankan untuk pemeriksaan histopatologi jaringan plasenta.

Hasil penelitian menunjukkan pasca tiga hari injeksi takizoid, Kadar IgG-IgM anti toksoplasma dan kadar TNF- α meningkat bermakna ($p < 0,05$) dan ekspresi gen Foxp3 menurun bermakna ($p < 0,05$). Pada K1 – K3 Kadar IgG-IgM anti toksoplasma dan kadar TNF- α menurun bermakna ($p < 0,05$) tiga hari dan tujuh hari pasca intervensi, dan ekspresi gen Foxp3 meningkat bermakna ($p < 0,05$) pasca tiga hari intervensi dan menurun bermakna pasca tujuh hari intervensi. Pada K4 Kadar IgG-IgM anti toksoplasma dan kadar TNF- α meningkat bermakna dan ekspresi gen Foxp3 menurun bermakna selama penelitian. Pada K5 tidak terjadi perubahan yang bermakna. Kerusakan sel jaringan plasenta (hemoragik dan nekrosis) tidak ditemukan pada K1, K2, dan K5. Namun, pada K3 didapatkan 75% dan 100 % pada K4 .

Kata kunci: *Curcuma longa*, toksoplasmosis, hamil muda, antibodi IgG-IgM anti toksoplasma, TNF α , ekspresi gen Foxp3, histopatologi, jaringan plasenta.

ABSTRACT

TIGOR PENIEL SIMANJUNTAK. *Effectiveness of Curcuma Longa Extract To Prevent Placental Cells Tissue Damage in Early Pregnant Mices with Acute Toxoplasmosis: Analysis of Anti-Toxoplasma IgG-IgM Antibody Levels, Foxp3 Gene Expression, TNF α Levels, and Placental Histopathology Examination.* (Supervised by Syahrul Rauf, Irawan Yusuf, dan Andi Mardiah Tahir).

The aim of this study is to prove effectiveness of *Curcuma longa* as anti-inflammatory to prevent placental cells tissue damage in early pregnancy with toxoplasmosis.

The study was conducted on 20 early pregnant mice, divided into 5 groups (K1 - K5). K1 - K4 was injected with tachyzoites. Three days later for 7 days K1 was intervened with 125 mg/kg/day of *Curcuma longa*, and K2 was intervened 500 mg/kg/day. K3 was intervened with 60 mg/kg/day of Spiramycin, and K4 was intervened distilled water 0.2 ml. K5 has no intervention. Blood samples were taken serially (one day before and 3 days post- tachyzoites injection, and 3 days, 7 days post-intervention) to examine the anti-toxoplasma IgG-IgM antibody levels, TNF- α levels, and Foxp3 mRNA expression. After 7 days of intervention, the mice were sacrificed for histopathological examination of placental tissue.

The result are, IgG-IgM antibody and TNF- α levels increased significantly 3 days after tachyzoites injection ($p < 0.05$), and Foxp3 gene expression decreased significantly ($p < 0.05$). IgM antibody and TNF- α levels decreased significantly ($p < 0.05$) within 3 and 7 days after intervention in K1-K3. Foxp3 gene expression increased significantly ($p < 0.05$) after 3 days after intervention in K1- K3 and decreased significantly after 7 days intervention. In K4; IgG-IgM antibody and TNF- α levels increased significantly and the Foxp3 gene expression decreases significantly for research. In K5; there were no significant changes. Placental cells tissue damage (haemorrhagic, necrotic cells) is not found on K1, K2, and K5. There were 75% on K3, and 100% on K4.

Key words: *Curcuma longa*, *toxoplasma gondii*, early pregnancy, IgG-IgM antibody, TNF- α , Foxp3 gene, histopathology.

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL.....	I
LEMBAR PENGAJUAN.....	II
LEMBARAN PENGESAHAN.....	III
DAFTAR TIM PENGUJI.....	IV
LEMBARAN PERNYATAAN.....	V
PRAKATA.....	VI
ABSTRAK.....	XII
ABSTRACT.....	XII
DAFTAR ISI.....	XIV
DAFTAR GAMBAR.....	XVI
DAFTAR TABEL.....	XVII
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN.....	XVIII
 BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Manfaat Penelitian.....	6
 BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Sel T regulatory dan Gen Foxp3.....	8
B. Tumor Nuclear Factor (TNF).....	15
C. <i>Toxoplasma Gondii</i>	19
D. Kunyit Kuning/ <i>Curcuma longa</i>	30
E. Histologi Jaringan Plasenta.....	35
F. Alur Pikir Penelitian.....	38
G. Kerangka Tiori.....	40

H. Kerangka Konsep.....	41
I. Definisi Operasional.....	42
J. Hipotesis.....	44
BAB III. METODE PENELITIAN	
A. Rancangan Penelitian.....	45
B. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	46
C. Sampel Penelitian.....	46
D. Bahan dan Alat.....	47
E. Tahapan dan Prosedur Penelitian.....	50
F. Analisis Data.....	62
BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil.....	65
B. Pembahasan.....	78
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan.....	94
B saran.....	95
Daftar Pustaka.....	96
Lampiran.....	107

DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
1	Gambar 1. Jalur signal, faktor transkripsi dan struktur gen <i>Foxp3</i> .	9
2	Gambar 2. Aktivasi jalur signal sel oleh $TNF-\alpha$.	16
3	Gambar 3. Model siklus hidup pada inang definitif dan hospes antara.	20
4	Gambar 4. Kadar antibodi IgM anti toksoplasma sebelum dan pasca injeksi takizoit pada mencit hamil muda.	22
5	Gambar 5. Kadar antibodi IgG anti toksoplasma sebelum dan pasca injeksi takizoit pada mencit hamil muda.	22
6	Gambar 6. Sekresi $TNF-\alpha$ dan IL-12 oleh makrofag pada infeksi.	23
7	Gambar 7. Alur biosintesis <i>Kurkuminoids</i> .	31
8	Gambar 8. Mekanisme <i>kurkumin</i> menghambat produksi $TNF-\alpha$.	34
9	Gambar 9. Kongesti pembuluh darah pada jaringan plasenta	36
10	Gambar 10. Edema ekstra seluler pada jaringan plasenta	36
11	Gambar 11. Haemoragik ekstra vascular pada jaringan plasenta	37
12	Gambar 12. Tampilan vagina mencit	51
13	Gambar 13. Grafik dinamika perubahan kadar antibodi IgM Anti toksoplasma	68
14	Gambar 14. Grafik dinamika perubahan kadar antibodi IgG Anti toksoplasma	71
15	Gambar 15. Grafik dinamika perubahan ekspresi mRNA <i>Foxp3</i>	73
16	Gambar 16 . Grafik dinamika perubahan kadar $TNF-\alpha$.	75
17	Gambar 17. Diagram distribusi gambaran histopatologi jaringan plasenta	77
18	Gambar 18. Ilustrasi efek penekanan kurkumin terhadap Tregs dan <i>Foxp3</i>	86

DAFTAR TABEL

nomor		Halaman
1	Kurkumin dan derivat dari <i>Curcuma longa</i> dan efek biologik.	30
2	Jadwal pengambilan sampel darah penelitian.	54
3	Kadar antibodi IgM anti toksoplasma sebelum dan pasca injeksi takizoid, dan pasca intervensi ekstrak <i>Curcuma longa</i> .	66
4	Kadar antibodi IgG anti toksoplasma sebelum dan pasca injeksi takizoid, dan pasca intervensi ekstrak <i>Curcuma longa</i> .	69
5	Ekspresi gen Foxp3 sebelum dan pasca injeksi takizoid, dan pasca intervensi ekstrak <i>Curcuma longa</i> .	72
6	Kadar TNF- α sebelum dan pasca injeksi takizoid dan pasca intervensi ekstrak <i>Curcuma longa</i> .	74
7	Gambaran histopatologi jaringan plasenta, tujuh hari pasca intervensi ekstrak <i>Curcuma longa</i> dan kelompok Kontrol	76

DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/ singkatan	Arti dan keterangan
APC	Antigen presenting cell
AP-1	Activator protein-1
CD	Cluster of differentiation
COX-2	Cyclooxygenase-2
CNS	Conserved non-coding sequences
CREB	Cyclic AMP response element-binding protein
COX	Cyclooxygenase
DD	Death domain
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
ERK	Extracellular signal regulated kinase
FcR	Fragmen crystallizable receptor
FADD	Fas-associated protein with death domain
Foxp3	Forkead box protein 3
GPI	Glycosylphosphatidylinositol
I κ B	Inhibitor kappa- B
IKK	Inhibitor Kappa-B Kinase
IL	Interleukin
IgM	Imunoglobulin M
IgG	Imunoglobulin G
IFN γ	Interferon γ
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule-1
iNOS	Inducible nitric oxide synthase
IUGR	Intra uterine Growth Restriction

JAK	Janus kinase
JNK	Jun-terminal kinase
GM-CSF	Granulocyte macrophage Colony Stimulating Factor
GPI	Glycosylphosphatidylinositol
LCS	Liquor Cerebro Spinal
LPS	Lipopolisakarida
MCP-1	Monosit Chemotaksis Protein -1 (MCP-1)
MCH	Mayor Histo Compability
MD2	Myeloid differentiation protein-2
MIF	Migration Inhibitory Factor
NRAMP-1	Natural Resistance Associated Macrophage Protein - 1
NK	Natural Killer
NF-kB	Nuclear Factor Kappa B
NFAT	Nuclear factor of activated T-Cells
PCR-RT	Poly Chain Reaction – Real Time
p38MAPK	p38 mitogen-activated protein kinase
RIP	Receptor interacting protein
ROS	Reactive oxygen species
RUNX	Runt- related transcriptional factor
SAG	Surface Antigen
STAT	Signal transducer and activator of transcription
SOD	Superoksite Dismutase
TCR	T-Cell receptor TLR : Toll Like Reseptor
TAK1	TGF- β –activated kinase 1
TGF- β	Transforming growth factor- β
Th	T helper TLR : Toll Like Reseptor

TLR	Toll Like Reseptor
TNF α	Tumor Necroting Factor α
TNFR1	TNF reseptor-1
TRADD	TNFR-associated protein with death domain
TRAF-2	TNFR-associated factor 2
Treg	T regulatory

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Toxoplasma gondii (*T. gondii*) adalah parasit obligat intraselular (Natadisastra. 2014). Infeksi akibat *T. gondii* (toksoplasmosis) merupakan penyakit zoonosis yang cukup banyak ditemukan pada manusia dan hewan di seluruh dunia (Black MW, *et al.* 2000). Manusia umumnya terinfeksi melalui rute *fecal oral*, yaitu menelan toxoplasma dalam bentuk kista yang terdapat pada daging yang tidak masak, sayuran yang tidak dicuci bersih, atau tangan yang kotor setelah memegang tanah/ berkebun. Manusia juga dapat terinfeksi melalui transfusi darah yang mengandung parasit, dan infeksi vertikal dari ibu hamil ke janin melalui plasenta (Cunningham FG, *et al.* 2014). Toksoplasmosis menjadi sangat penting dibidang Obstetri, karena infeksi yang terjadi pada saat kehamilan dapat menyebabkan abortus, kelainan kongenital, dan kematian janin dalam rahim (Anggarwal, *et al.* 2010., Cunningham FG, *et al.* 2014).

Infeksi parasit *T. gondii* akan memicu respon immunitas humoral maupun selular hospes yang terinfeksi. Pada infeksi *T. gondii* terjadi peningkatan kadar antibodi IgG- IgM anti toksoplasma (Simanjuntak TP, *et al.* 2017) dan kelompok pro- inflamasi/ T helper 1 (Th1) seperti TNF-alpha (Prigionea, *et al.* 2006., Krishnan, *et al.*, Zenclussen *et al.* 2005) dan penurunan ekspresi gen Foxp3

(Ge YY, *et al.* 2009., Chen JT, *et al.* 2013). Respon imun selular yang berlebih pada infeksi *T. gondii* dapat menyebabkan abortus (Hampso, *et al.* 1993., Senegas, *et al.* 2009).

CD4⁺CD25⁺ sel T regulatory (sel Treg) yang dikendalikan oleh gen fork head box p3 (Foxp3) berperan penting menjaga keseimbangan immunitas selular tubuh melalui jalur T helper ((Suto A, *et al.* 2001., Fontenot, *et al.* 2003., Cosmi L, *et al.* 2004) Keseimbangan Th1 dan Th2 diperlukan supaya tidak menimbulkan dampak buruk berupa penyakit- penyakit yang dipicu oleh ketidakseimbangan imunologis, misalnya abortus.

Penelitian eksperimental dan klinik membuktikan bahwa respons imun fisiologis tubuh perempuan hamil lebih kearah sel Th-2 dibanding sel Th-1, sehingga konsepsi/ kehamilan dapat berlanjut dan tidak terjadi abortus (Lin H, *et al.* 1993), namun perempuan hamil yang terinfeksi *T. gondii* akan memicu Th-1, akibatnya terjadi ketidakseimbangan antara Th-1 dan Th-2 (Fatoohi AF, *et al.* 2002., Prigione I, *et al.* 2006). Th-1 yang meningkat akibat infeksi *T. gondii* pada kehamilan trimester awal dapat menyebabkan abortus (Krishnan L, *et al.* 1996., Zenclussen AC, *et al.* 2001).

Serrant, *et al*, (2011) mengatakan bahwa sampai saat ini belum ada obat yang ideal sebagai terapi toksoplasmosis pada perempuan hamil. Spiramisin masih menjadi obat pilihan , namun terbukti tidak dapat mengeradikasi infeksi pada janin. Perempuan hamil tirmester awal dengan terinfeksi *T. gondii* dapat diterapi dengan Spiramisin ((Valentini P, *et al*, 2015). Terapi dengan Spiramisin akan membunuh parasit karena bekerja sebagai bakterisit, namun spiramisin

tidak dapat menghambat proses/ reaksi inflamasi yang terjadi. Abortus akibat infeksi *T. gondii* bukan hanya karena efek langsung dari parasit tersebut, tetapi dapat juga terjadi akibat respon inflamasi yang berlebihan berupa trombosis di kapiler dan nekrosis sel yang menyebabkan kematian mudigah dan terjadinya abortus (Clark, *et al* , 1999., Haider S, *et al* , 2009).

Kunyit kuning (*Curcuma longa*) telah terbukti sebagai anti inflamasi (Anggarwal BB, *et al.* 2013). *Curcuma longa* telah dibuktikan juga mempunyai efek anti mikroba (bakteri, virus, parasit, dan jamur) (Moghadamtousi SZ, *et al.* 2014., Tyagi P, *et al.* 2015), dan anti oksidan, namun lebih cenderung sebagai anti inflamasi. Kurkumin yang merupakan kandungan utama dari *Curcuma longa*, telah dibuktikan dapat meningkatkan ekspresi Treg (Zhao HM, *et al.* (2016)), dan menekan TNF- α (Anggarwal BB, *et al.* 2013).

Kunyit kuning (*Curcuma longa*) merupakan tanaman yang cukup banyak dan mudah ditemukan di Asia khususnya di Indonesia. Kunyit kuning juga sudah lama dipergunakan di Indonesia sebagai obat tradisional berupa jamu, bahkan sudah ada ekstrak kunyit dalam bentuk kapsul sebagai obat kelompok herbal/ fito farmaka. Berdasarkan uraian diatas, maka peneliti ingin melanjutkan penelitian yang sudah ada dan ingin membuktikan efektifitas *Curcuma longa* sebagai anti inflamasi dapat mencegah kerusakan sel jaringan plasenta/ abortus akibat infeksi akut *T. gondii*/ toksoplasmosis akut pada mencit yang sedang hamil muda, dengan menganalisa dinamika kadar antibodi IgG-IgM anti-toksoplasma, ekspresi mRNA Foxp3 dan kadar TNF α , serta menganalisis gambaran histopatologi jaringan plasenta setelah diintervensi. Untuk

mencapai tujuan tersebut, maka peneliti menetapkan beberapa masalah penelitian sebagai berikut;

B. Rumusan Masalah

1. Apakah terjadi penurunan kadar antibodi IgG-IgM anti-toksoplasma pasca pemberian ekstrak *Curcuma longa*, pada mencit hamil muda dan terinfeksi akut *T. gondii*.
2. Apakah terjadi peningkatan ekspresi mRNA Foxp3 pasca pemberian ekstrak *Curcuma longa*, pada mencit hamil muda dan terinfeksi akut *T. gondii*.
3. Apakah terjadi penurunan kadar TNF- α pasca pemberian ekstrak *Curcuma longa*, pada mencit hamil muda dan terinfeksi akut *T. gondii*.
4. Bagaimana gambaran histopatologi (derajat kerusakan sel) jaringan plasenta pasca 7 hari intervensi dengan ekstrak *Curcuma longa* pada mencit hamil muda dan terinfeksi akut *T. gondii*.

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan umum.

Membuktikan efektivitas ekstrak *Curcuma longa* dapat mencegah kerusakan sel jaringan plasenta/ abortus pada mencit hamil muda dengan toksoplasmosis akut dengan menganalisis kadar antibodi IgG-IgM anti toksoplasma, ekspresi gen Foxp3, kadar TNF- α dan pemeriksaan histopatologi jaringan plasenta.

2. Tujuan khusus.

- Menganalisis dinamika kadar antibodi IgG-IgM anti toksoplasma sebelum dan pasca tiga hari, dan tujuh hari intervensi dengan ekstrak *Curcuma longa* dosis 125 mg/ Kgbb/ hari, dan dosis 500 mg/ Kgbb/ hari, pada mencit hamil muda dengan toksoplasmosis akut dibanding kelompok kontrol.
- Menganalisis dinamika ekspresi mRNA Foxp3 pasca tiga hari, dan tujuh hari intervensi dengan ekstrak *Curcuma longa* dosis 125 mg/ Kgbb/ hari, dan dosis 500 mg/ Kgbb/ hari, pada mencit hamil muda dengan toksoplasmosis akut dibanding kelompok kontrol.
- Menganalisis dinamika kadar TNF-alpha sebelum dan pasca tiga hari, dan tujuh hari intervensi dengan ekstrak *Curcuma longa* dosis 125 mg/ Kgbb/

hari, dan dosis 500 mg/ Kgb/ hari, pada mencit hamil muda dengan toksoplasmosis akut dibanding kelompok kontrol.

- Menganalisis kerusakan sel jaringan plasenta dengan pemeriksaan histopatologi jaringan plasenta mencit hamil muda dengan toksoplasmosis akut pasca 7 hari diintervensi dengan ekstrak *Curcuma longa* dosis 125 mg/ Kgb/ hari dan dosis 500 mg/ Kgb/ hari dibanding kelompok kontrol.

D. Manfaat Penelitian

1. Aspek pengembangan ilmu

- Memberi informasi baru mengenai dinamika kadar antibodi IgG-IgM anti toksoplasma, ekspresi gen Foxp3, kadar TNF α pasca intervensi dengan ekstrak *Curcuma longa* pada mencit Balb/ c hamil muda dengan toksoplasmosis akut.
- Memberi informasi baru mengenai gambaran histopatologi sel jaringan plasenta pasca 7 hari intervensi dengan ekstrak *Curcuma longa* pada mencit Balb/c hamil muda dengan toksoplasmosis akut.
- Sebagai dasar ilmiah pada penelitian selanjutnya yang berhubungan dengan ekstrak *Curcuma longa* sebagai terapi pada wanita hamil muda dengan toksoplasmosis akut.

2. Manfaat aplikasi

Penggunaan ekstrak *Curcuma longa* sebagai terapi alternatif untuk mencegah terjadinya abortus akibat infeksi akut *T. gondii* (toksoplasmosis akut) pada wanita hamil muda.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Sel T regulatory dan Gen Foxp3

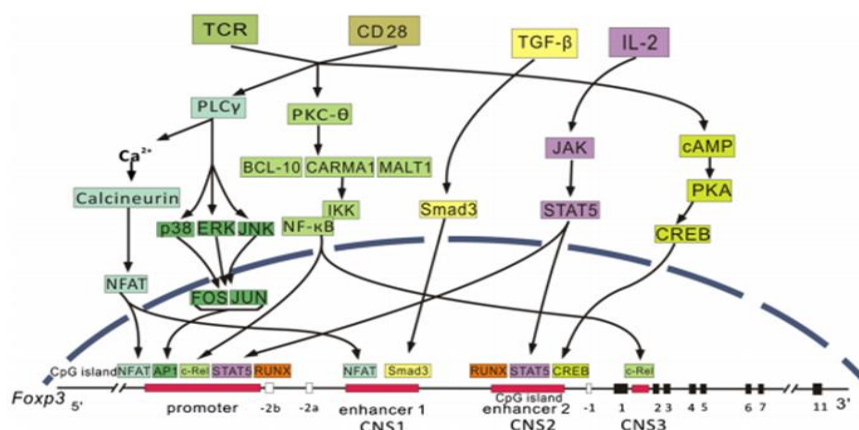
Sel T regulatory adalah subset unit dari sel CD4⁺, Sel T regulatory terbentuk di dalam organ timus dan mempunyai molekul yang ditandai dengan CD4⁺CD25⁺Foxp3 (Kato, *et al.* 2013). Sel T regulatory berperan sebagai regulator pada aktivasi kekebalan yang berlebihan, sehingga membatasi kerusakan jaringan (Angin, *et al.*, 2014).

CD4⁺ CD25⁺ Sel T regulatory (Sel Treg) mampu menekan aktivasi sel T helper seperti penekanan Th-1, Th-2, dan Th-17, (Seung, *et al.*, 2013). Penekanan sel Treg terhadap sel T helper lebih rentan ke Th-1 (Suto A, *et al.* 2001., Cosmi L, *et al.* 2004), sehingga aktivasi sel Treg akan menekan produksi sitokin proinflamasi seperti TNF- α , dan IFN- γ (Kwon, *et al.* 2012).

Gen forkhead box p3 (Foxp3) merupakan keluarga dari faktor transkripsi forkhead yang dikodekan di kromosom X. Lokasi sitogenetik faktor transkripsi Foxp3 berada pada Xp 11, Gen Foxp3 berperan sebagai regulator utama pada perkembangan dan fungsi dari CD4⁺ CD25⁺ Sel T regulatory/ Sel Treg (Fontenot, *et al.* 2003). Sel T regulator ini memiliki peran penting dalam pencegahan respon autoimun, dan patologi yang ditimbulkan oleh respon imun yang tidak terkendali akibat infeksi (Zeng Y, *et al.* 2007., Seung, *et al.*, 2013). Ketika terjadi peradangan, ekspresi Foxp3 menjadi tidak stabil bahkan

menghilang akibat paparan TNF- α , IL-6, IL-1 yang berlebihan, sehingga fungsi sel Treg lemah (Josefowicz, *et al.* 2012).

Proses epigenetik dari ekspresi Foxp3 berperan sangat penting sebagai regulasi pada perkembangan dan fungsi sel Treg. DNA metilasi dan modifikasi histone merupakan dua mekanisme utama pada proses epigenetik yang berpartisipasi pada pemeliharaan dan stabilitas struktur kromatin (Smith, *et al.* 2013), namun proses ini sangat kompleks dan dipengaruhi banyak faktor. Haiqi H *dkk.* (2011) menggambarkan regulasi transkripsi dari gen Foxp3 pada sel Treg dengan beberapa jalur, antara lain; jalur NF- κ B diinduksi TCR, jalur NFAT – Calcineurin – dan Calcium, jalur Smad – TGF- β , jalur IL-2R – STAT5, dan jalur runt-related transcriptional factor (Runx), Gambar (1)



Gambar 1. Jalur signal, faktor transkripsi dan struktur gen Foxp3. T-cell receptor (TCR), transforming growth factor- β (TGF- β), Activator protein-1 (AP-1), Conserved non-coding sequences (CNS), Signal transducer and activator of transcription (STAT), (Smad), Runt-related transcription factor (Runt), Nuclear factor of activated T cells (NFAT), Janus kinase (JAK), Cyclic AMP response element-binding protein (CREB). (Haiqi H, *et al.* 2011., Huchn, *et al.* 2015).

Studi oleh Mantel dkk. (2006) menunjukkan karakterisasi awal dari promotor Foxp3 manusia berada 6,5 kb hulu dari ekson pertama, yang berisi enam situs pengikatan NFAT dan AP-1 dan Kotak TATA dan CAAT. Selain memiliki Wilayah promotor, lokus Foxp3 berisi tiga elemen conserved non-coding DNA sequence (CNS) antarlain; CNS1, CNS2, dan CNS3 (Gambar 1) (Kim, *et al* .2007; Tone, *et al* . 2008; Zheng, *et al* . 2010). CNS1 merupakan penambah intronik (enhancer 1), berisi TGF- β yang merupakan elemen yang responsif dan berikatan dengan faktor transkripsi, seperti NFAT dan Smad, dan terlibat dalam Ekspresi Foxp3 yang diinduksi TGF pada sel iTreg (Tone, *et al* . 2008). CNS 2 berhubungan dengan TCR (enhancer 2). CNS 2 berisi CpG dan berikatan dengan sisi faktor transkripsi, seperti CREB (Kim dan Leonard 2007) dan STAT5 (Burchill, *et al* . 2007). Hal ini menunjukkan bahwa CNS 2 diperlukan untuk ekspresi Foxp3 di Sel nTreg yang matur (Zheng, *et al*. 2010). CNS3 yang bertindak sebagai elemen perintis memiliki peran penting dalam generasi sel Treg di timus dan perifer (Zheng, *et al* . 2010). CNS 3 juga berikatan dengan sisi faktor transkripsi, seperti c-Rel, di CNS3 (Zheng, *et al*. 2010).

1. Aktivasi dan Foxp3 melalui jalur NF- κ B yang diinduksi oleh TCR

Nuclear factor kappa- B (NF- κ B) sebagai keluarga faktor transkripsi, terdiri dari lima anggota: C-Rel, RelA (p65), RelB, NF- κ B1 (p50), dan NF- κ B2 (p52) (Barnes, *et al* . 1997). Signal TCR bersama dengan CD28 telah dibuktikan mengaktifasi NF- κ B (Weil, *et al* . 2006). Pada gambar 1, serangkaian reaksi kaskade menyebabkan aktivasi dari kinase IKK, yang memfosforilasi dan mendegradasi I κ B (inhibitor κ B), Dengan demikian, memungkinkan faktor

transkripsi NF- κ B disekresi. Telah ditunjukkan bahwa, pada limfosit, NF- κ B mengatur gen yang terlibat dalam inflamasi dan respon kekebalan tubuh serta beberapa aspek pertumbuhan sel, kelangsungan hidup dan diferensiasi (Hayden, *et al.* 2006). Beberapa peneliti melaporkan bahwa jalur NF- κ B yang terinduksi TCR mengatur ekspresi Foxp3 dan pengembangan sel Treg. Fakta bahwa penghapusan komponen hulu ini (NF- κ B) menghasilkan secara signifikan Pengurangan jumlah sel nTreg baik di timus dan perifer (Deenick, *et al.* 2010). Menariknya, molekul hulu tersebut juga berperan mengaktifasi jalur signal lainnya seperti jalur JNK dan NFAT (Blonska, *et al.* 2009). Sitokin IL-2 penting untuk induksi ekspresi Foxp3 dan generasi sel Treg baik secara invitro (Davidson *et al.* 2007) dan vivo (Fontenot *et al.* 2005) Bukti terbaru menunjukkan bahwa NF- κ B menginduksi Foxp3 Ekspresi dan generasi sel iTreg dengan memediasi produksi Dari IL-2 (Visekruna *et al.* 2010)

2. Aktivasi gen Foxp3 melalui jalur NAFT – Calcineurin - Kalsium.

Keluarga Nuclear factor of activated T cells (NFAT) terdiri dari lima anggota: NFAT1 (NFAT_p atau NFATc2), NFAT2 (NFATc atau NFATc1), NFAT3 (NFATc4), NFAT4 (NFAT_x atau NFATc3) dan NFAT5 (Macian T. 2005). NFAT1-4 diatur oleh signal kalsium, sedangkan NFAT5 diaktifkan oleh stres osmotik (Macian F. 2005). Pada sel istirahat, sitosolik protein NFAT terfosforilasi, setelah stimulasi, mereka mengalami defosforilasi oleh calcineurin, translokasi ke nukleus, dan selanjutnya program transkripsional teraktivasi yang mengatur perkembangan, diferensiasi, dan aktivasi sel T (Baine, *et al.* 2009).

3. Aktivasi gen Foxp3 melalui jalur TGF- β - Smad

Transforming growth factor- β (TGF- β) adalah sitokin anti-inflamasi pleiotropik yang berfungsi melalui jalur Smad-dependent dan Smad-independent (Derynck, *et al.* 2003). TGF β , bersama dengan stimulasi T-cell receptor (TCR), menginduksi ekspresi Foxp3 pada sel CD4⁺CD25⁻Foxp3-T naif dan mengubahnya menjadi Foxp3Tregs (Zheng, *et al.* 2007). Ekspresi pada sel iTreg telah terbukti bersifat sementara baik secara in vitro maupun in vivo (Polansky, *et al.* 2008). Ekspresi Foxp3 yang tidak stabil ini mungkin berkorelasi dengan jumlah yang relatif berkurang dari demethylation daerah CpG yang kaya di lokus Foxp3 di sel iTreg (Polansky, *et al.* 2008). Terbukti bahwa penghambatan metiltransferase DNA Aza dapat meningkatkan ekspresi Foxp3 yang stabil pada sel iTreg yang diinduksi oleh TGF-in vitro (Lal, *et al.* 2009). Sebaliknya, IL-6 menginduksi metilasi Foxp3 dan menekan ekspresi Foxp3 (Lal, *et al.* 2009). Selain itu, induksi ekspresi Foxp3 oleh TGF β juga dipengaruhi oleh banyak faktor dan / atau sitokin lainnya: IL-2 memiliki peran penting dalam pembentukan sel iTreg (Davidson, *et al.* 2007); CTPLA-4 ligasi CD80 juga diperlukan oleh TGF β - untuk menginduksi sel CD4⁺CD25⁻T untuk mengekspresikan Foxp3 (Zheng, *et al.* 2006); dan asam retinoat telah ditunjukkan untuk meningkatkan TGF β - menginduksi ekspresi Foxp3 (Elias, *et al.* 2008). Sebaliknya, IL-4 menekan induksi iTreg dan IL-6 mencegah konversi sel CD4⁺ CD25⁻T naif menjadi sel-sel Foxp3⁺Treg dan sebaliknya mengalihkan program diferensiasi ke sel Th17 (Ziegler, *et al.* 2009). IL-4 juga menekan

ekspresi Foxp3 yang diinduksi TGF β -1 melalui pengikatan langsung STAT6 ke area Foxp3 promoter (Takaki, *et al.* 2008).

4. Aktivasi gen Foxp3 melalui jalur IL-2R dan STAT5

Peran interleukin IL-2R dalam ekspresi Foxp3 dan diferensiasi sel Treg masih kontroversi, namun beberapa peneliti menemukan bahwa pensinyalan IL-2 tidak dapat dilakukan untuk menginduksi ekspresi Foxp3 pada timosit tikus karena defisien IL-2 atau IL-2R (CD25) (Fontenot, *et al.* 2005a). Penelitian selanjutnya menunjukkan bahwa sinyal IL-2 secara langsung menginduksi ekspresi Foxp3 pada prekursor sel TCD CDRChi (Burchill, *et al.* 2008). Jalur pensinyalan yang dimediasi IL-2R melibatkan Janus kinase 1 (JAK1), JAK3, STAT3 dan STAT5 (Imada, *et al.* 2000). Pengikatan IL-2 ke reseptornya mengaktifkan JAKS yang terkait dengan reseptor, dengan demikian, protein signal transducer and activator of transcription (STAT) kemudian diaktifkan, memungkinkan dimerisasi dan translokasi berikutnya ke dalam nukleus, dimana mereka mengatur transkripsi berbagai gen (Imada, *et al.* 2000). Sebaliknya, hiperaktivasi STAT5 oleh penghapusan SOCS1 menghasilkan peningkatan proporsi dan jumlah absolut sel nTreg (Lu, *et al.* 2009). Selain itu, STAT5 juga telah ditemukan dan diperlukan untuk induksi optimal Foxp3 *in vitro* (Yao, *et al.* 2007). Dengan demikian, sinyal IL-2R-STAT5 mengatur ekspresi Foxp3 melalui pengikatan langsung STAT5 ke promotor dan enhancer gen Foxp3 (Gambar.1). Namun, peran STAT3 dalam mengatur transkrip Foxp3 masih kontroversi.

5. Aktivasi gen Foxp3 melalui Runx (runt- related transcription factor)

Protein runx dianggap sebagai pengatur utama peralihan antara diferensiasi dan proliferasi pada berbagai jenis sel (Nimmo, *et al.* 2008). Keluarga faktor transkripsi Runx terdiri dari tiga anggota, yaitu; Runx1, Runx2, dan Runx3, yang ditandai oleh protein heterodimerik dengan subunit DNA binding dan subunit pengikat non-DNA (Cohen. 2009). Protein runx heterodimerisasi dengan *core binding factor* subunit β (CBF- β), kofaktor dari semua protein Runx yang meningkatkan afinitas untuk mengikat DNA dan menstabilkan kompleks, dan mengatur ekspresi gen seluler melalui pengikatan pada promotor atau elemen penambah (Nimmo, *et al.* 2008). Runx1 dan Runx3 sangat penting untuk menentukan pilihan garis keturunan CD4/ CD8 untuk mengembangkan timosit dan juga terlibat dalam diferensiasi subset sel T efektor (Cohen. 2009). Dalam sel nTreg, telah ditunjukkan bahwa Runx berinteraksi secara fisik dengan Foxp3 dan bekerja sama dengan Foxp3 untuk mengatur gen target hilir (Ono, *et al.* 2007). Rudra dkk. (2009) melaporkan bahwa kompleks faktor transkripsi Runx dan CBF- β diperlukan untuk induksi dan pemeliharaan ekspresi Foxp3 di kedua Sel nTreg dan sel iTreg. Berdasarkan bukti bahwa protein Runx adalah induser dan mitra interaksi Foxp3, Bruno dkk. (2009) telah membawa sirkuit umpan maju ke depan di mana protein Runx mengatur ekspresi Foxp3 dan kedua faktor tersebut bersama-sama mengatur gen target hilir, yang juga ada di antara NFAT, Foxp3 dan gen target hilirnya. Selain itu, tampaknya Runx1 lebih penting untuk regulasi ekspresi Foxp3 yang optimal, karena Treg kekurangan spesifik sel dengan

Runx1, namun bukan Runx3, penyakit autoimun yang diinduksi (Kitoh, *et al.* 2009), sedangkan kedua faktor memainkan peran penting dalam Generasi sel iTreg yang diinduksi oleh TGF- (Klunker, *et al.* 2009).

B. Tumor Nuclear Factor

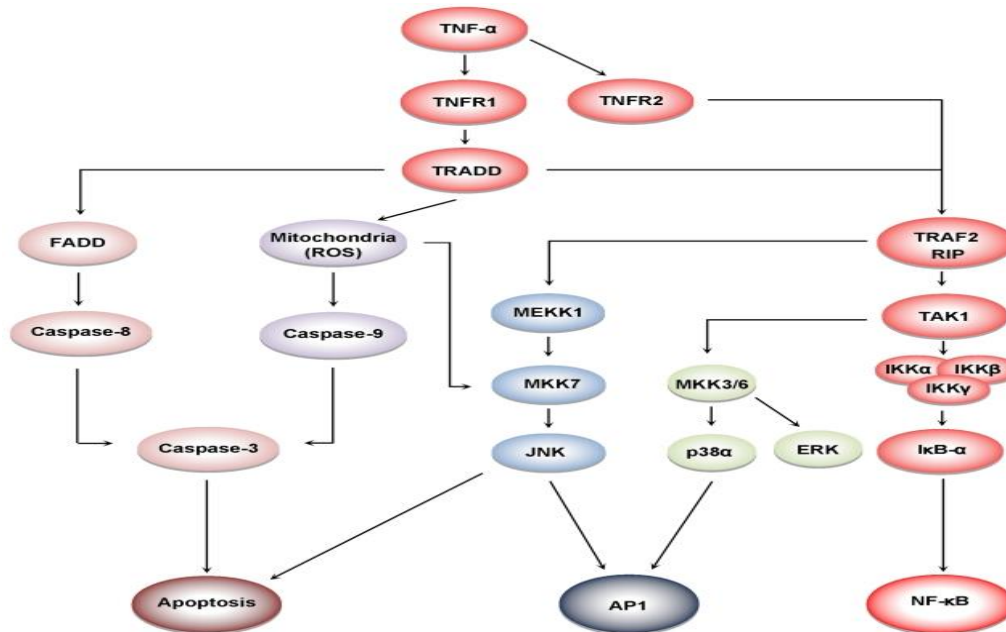
Tumor Nuclear Factor (TNF) merupakan sitokin utama pada respons inflamasi akut terhadap bakteri dan mikroba lainnya. TNF dibedakan menjadi TNF- α dan TNF- β . Sumber utama TNF- α adalah makrofag, TNF- β diproduksi oleh limfosit (Bratawijaya KG, *et al.* 2014). Reseptor TNF- α adalah TNFR1, p55 dan reseptor TNF- β adalah TNFR2, p75 (Schlüter MD, *et al.* 1998).

TNF pada kadar rendah (kadar plasma $<10^{-9}$), bekerja mengarahkan netrofil dan monosit ke tempat infeksi serta mengaktifkan sel-sel tersebut untuk menyingkirkan mikroba, merangsang makrofag mensekresi kemokin dan menginduksi kemotaksis dan pengarahan lekosit. TNF pada kadar tinggi (kadar plasma $>10^{-7}$) menimbulkan trombosis intravaskular, terutama akibat hilangnya sifat antikoagulan normal endotel. TNF merangsang ekspresi tissue factor oleh endotel yang merupakan aktivator kuat koagulasi dan mencegah ekspresi trombomodulin yang merupakan inhibitor koagulasi. Eksaserbasi perubahan endotel diaktifkan netrofil yang menimbulkan sumbatan vaskular (Bratawijaya KG, *et al.* 2014).

1. Mekanisme Kerja TNF- α .

TNF- α mengaktifasi jalur signal sel dengan beberapa jalur yang berbeda, antara lain: aktivasi NF- κ B, jalur apoptosis, extrasellular signal regulated kinase

(ERK), p38 mitogen-activated protein kinase (p38MAPK), dan c-Jun N-terminal kinase (JNK). Gambar 2 ((Aggarwal BB, *et al.* 2012).



Gambar 2. Aktivasi jalur signal sel oleh TNF- α . TNF reseptor-1 (TNFR1), TNFR-associated death domain (TRADD), death domain (DD), Fas-associated protein with death domain (FADD), activator protein-1 (AP-1), TNFR-associated factor 2 (TRAF2/TRAF5), receptor interacting protein (RIP), TGF- β -activated kinase 1 (TAK1), I κ B kinase (IKK) complex, and inhibitor of nuclear factor- κ B α (I κ B α), MAP/ERK kinase kinase 1 (MEKK1), MAP kinase kinase 7 (MKK7), c-Jun-terminal kinase (JNK), nuclear factor-kappa B (NF- κ B). (Aggarwal BB, *et al.* 2012).

TNF- α berikatan dengan reseptor TNFR1, kemudian merekrut protein TRADD, selanjutnya TRADD akan merekrut FADD yang kemudian secara berurutan mengaktifkan caspase-8 dan caspase-3, dan selanjutnya apoptosis (Hsu H, *et al.* 1996), atau, TNF- α dapat mengaktifkan mitokondria yang melepaskan *reactive oxygen species* (ROS), sitokrom C, dan Bax, menyebabkan aktivasi caspase-9 dan caspase-3 dan selanjutnya apoptosis (Morgan MJ, *et al.* 2010). Paradoksnya, TNF- α juga telah ditunjukkan untuk

mengaktifkan NF- κ B, yang pada gilirannya mengatur ekspresi protein yang terkait dengan kelangsungan hidup sel dan aktivasi proliferasi sel (Aggarwal BB, 2004). NF- κ B oleh TNF- α dimediasi melalui perekrutan berurutan TNFR1, TRAF2 / TRAF5, RIP, TAK1, I κ B kinase (IKK) yang kompleks, dan I κ B α fosforilasi, ubiquitination, dan degradasi, dan translokasi dari inti p50 dan p65 dan DNA (Devin A, *et al.* 2000)

Efek pro-inflamasi TNF dimediasi melalui IL-6, IL-8, IL-18, kemokin, inducible nitric oxide synthase (iNOS), cyclooxygenase-2 (COX-2), dan 5-lipoxygenase (5-LOX), semua mediator utama peradangan yang diregulasi oleh NF- κ B. TNF- α dapat menginduksi ekspresi TNF-alpha sendiri melalui aktivasi NF- κ B (Aggarwal BB, 2003). TNF- α juga dapat mengaktifkan proliferasi sel melalui aktivasi faktor transkripsi lain, activator protein-1/ AP1 (Natoli G, *et al.* 1997), yang diaktifkan oleh TNF- α melalui perekrutan berurutan TNFR1, Tradd, TRAF2, MAP / ERK kinase kinase 1 (MEKK1), MAP kinase kinase 7 (MKK7), dan JNK. Aktivasi p38MAPK oleh TNF- α dimediasi melalui Tradd-TRAF2-MKK3. Karena TNFR2 dapat secara langsung mengikat TRAF2, dapat mengaktifkan kedua NF- κ B dan MAPK sinyal cukup baik. Tradd telah dilaporkan dapat memediasi sinyal sel melalui TLR-3 dan TLR-4 (Ermolaeva MA, *et al.* 2008).

2. TNF- α Pada Kehamilan

TNF- α diawal kehamilan berperan pada fase lambat proses implantasi blastokis di desidua basalis. Pada saat blastokis berimplantasi di desidua

basalis maka trofoblas antigen akan memicu *antigen presenting cells* (APG) desidua basalis akan berinteraksi dengan naive T cells (Th0) sehingga CD4+ naive T cells (Th0) memicu diferensiasi sel T helper (Th) selanjutnya memicu makrofag menghasilkan sitokin sitokin seperti sitokin kelompok Th1 dan sitokin kelompok Th2. Pada keadaan fisiologis produksi sitokin Th2 (PIBF, IL 4, IL 10) lebih dominan dibanding sitokin Th1 (TNF- α , IFN- γ , IL-2, NK) sehingga blastokis yang berimplantasi di desidua basalis tidak ditolak sebagai benda asing sehingga konsepsi dapat berlanjut. Pada kondisi dimana Th1 lebih berperan/ dominan dibanding Th2, maka blastokis akan ditolak/ *reject* karena dikenali sabagai benda asing sehingga terjadi abortus, namun mekanisme pasti dari proses ini belum diketahui dengan pasti (Lim, *et al.* 2003., Maaike, *et al.* 2009).

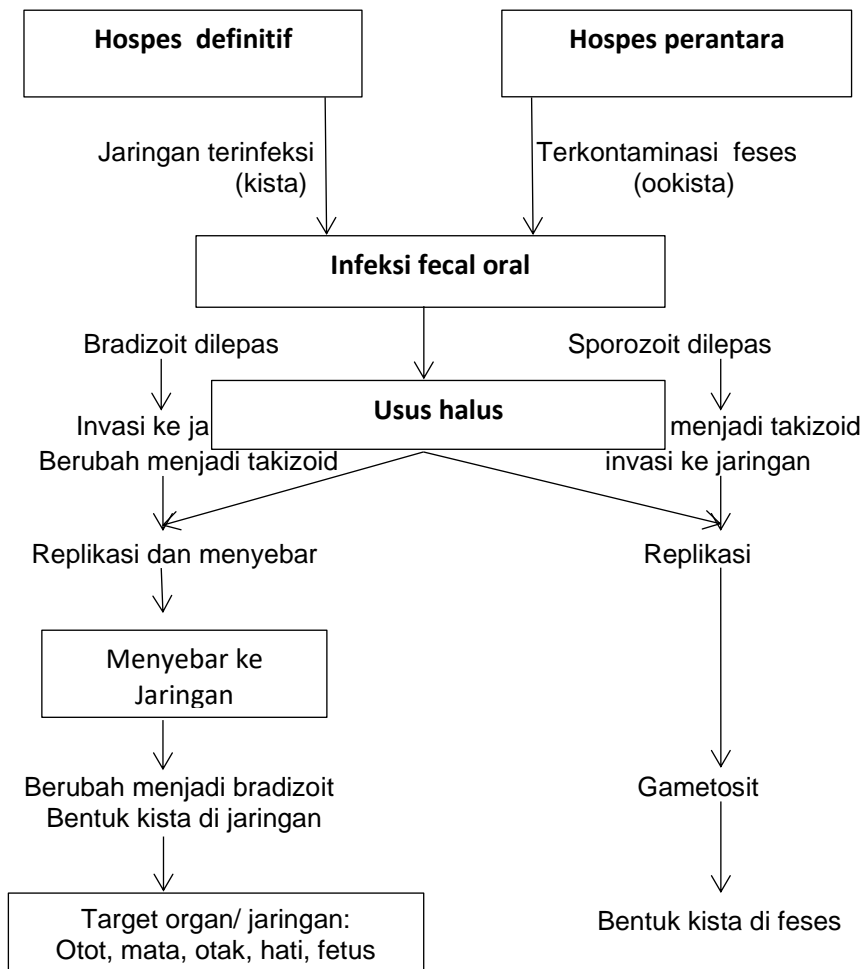
C. *Toxoplasma Gondii*

Toxoplasma gondii / *T. gondii* adalah parasit obligat intraselular (Natadisastra, 2014). Nama berasal dari dua suku kata. *Toxoplasma* berasal dari kata toxon (bahasa Yunani) yang berarti busur (*bow*) yang mengacu pada bentuk sabit (*crescent shape*) dari takizoit. Nama *gondii* berasal dari kata *Ctenodactylus gondii*, seekor rodensia dari Afrika utara tempat parasit tersebut untuk pertamakali diisolasi (Black, *et al*, 2000). terdiri dari ratusan galur, yang memiliki karakteristik biologis yang berbeda. Secara umum dapat dikelompokkan berdasarkan dua hal, yaitu berdasarkan patogenitas dan homologi genetik. Berdasarkan kedua hal tersebut, sampai saat ini *T gondii* dapat dikelompokkan menjadi tiga klonet atau tipe dasar (tipe 1, tipe 2, tipe 3), dan dua klonet atau tipe rekombinan (tipe 4, tipe 5) merupakan hasil perkawinan silang di antara ketiga tipe dasar (Khan A, *et al*, 2011). tipe 1 (tipe RH) merupakan strain yang paling patogen dan tipe 2 dan 3 merupakan strain yang kurang patogen (Howe DK, *et al*, 1995., Wang L, *et al*, 2013).

1. Siklus hidup *Toxoplasma gondii*

Siklus hidup *T gondii* terdiri dari siklus seksual dan aseksual. Siklus seksual dan aseksual terjadi pada inang definitif (kucing) sedangkan pada inang antara (hewan vertebrata, berdarah panas seperti unggas, kambing, babi, manusia) hanya terjadi siklus aseksual (Gambar 3).

Siklus Hidup *T. gondii*



Gambar 3. Model Siklus hidup pada inang definitif dan hospes antara. Modifikasi dari Dubey, *et al*, (2002)., Szabo, *et al*, (2017).

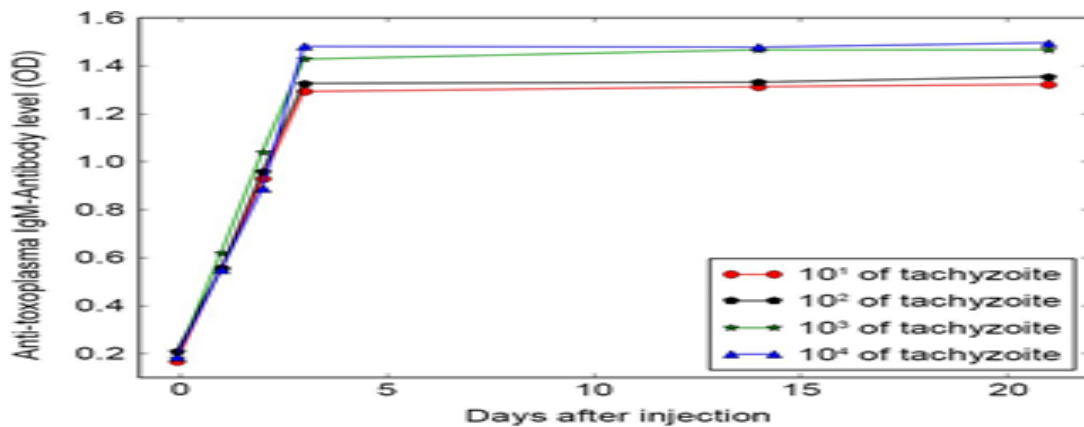
Toksoplasmosis cukup banyak ditemukan pada manusia dan hewan di seluruh dunia. Manusia umumnya terinfeksi melalui rute *fecal oral*, yaitu menelan kista yang terdapat pada daging yang tidak masak, atau menelan ookista yang terdapat di sayuran yang tidak dicuci bersih, atau tangan yang kotor setelah memegang tanah/ berkebun. Manusia juga dapat terinfeksi melalui transfusi darah yang mengandung parasit, dan infeksi vertikal dari ibu ke janin melalui plasenta. Toksoplasmosis menjadi sangat penting karena infeksi yang

terjadi pada saat kehamilan dapat menyebabkan abortus, kematian janin dalam rahim, pertumbuhan janin terhambat (PJT), persalinan kurang bulan, dan janin dengan kelainan kongenital seperti hidrosefalus, mikrosefalus, retinokorioditis dan retardasi mental (Cunningham, *et al*, 2012)

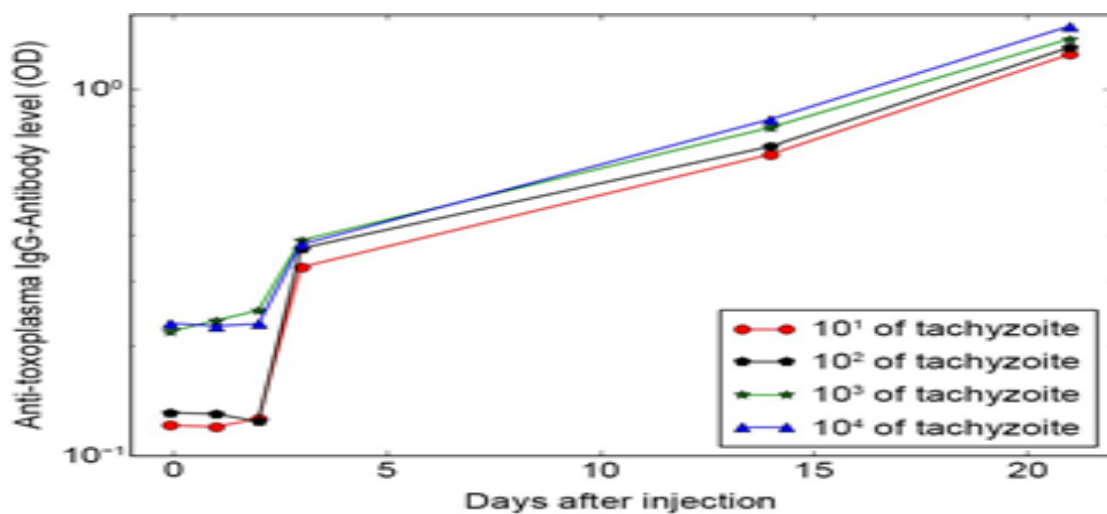
2. Respons imun humoral dan selular terhadap Infeksi

2.1 Infeksi memicu kadar antibodi IgG – IgM anti toksoplasma

Parasit *T. gondii* berperan sebagai antigen (Ag) akan memicu respons imun humoral. Respons imun humoral terjadi karena teraktivasi sel B. Sel B yang teraktivasi akan memproduksi antibodi spesifik (IgM, IgG) anti toksoplasma. Sel B berperan penting pada imunitas tubuh ketika terjadi infeksi akut. Penelitian Kang, dkk, melaporkan bahwa mencit yang dikondisikan defisien sel B, lalu diberi 10 takizoid strain ME49, mencit meninggal antara minggu ke 3 dan ke 4 pasca infeksi, tetapi mencit yang terinfeksi dan sel B tidak berkurang masih bertahan hidup sampai 8 minggu pasca infeksi (Kang H, *et al*. 2000). Penelitian yang kami lakukan pada mencit Balb/c hamil muda yang terinfeksi strain RH/ strain patogen dengan konsentrasi takizoid yang berbeda (1×10^1 , 1×10^2 , 1×10^3 , 1×10^4) disimpulkan bahwa terjadi peningkatan kadar antibodi IgM anti toksoplasma secara bermakna/ positif setelah 24 jam pasca infeksi pada semua kelompok yang disuntik takizoid (Gambar.4.), dan terjadi peningkatan kadar antibodi IgG anti toksoplasma secara bermakna/ positif setelah 72 jam pasca infeksi pada semua kelompok yang disuntik takizoid (Simanjuntak TP, *et al*. 2017). (Gambar. 5).



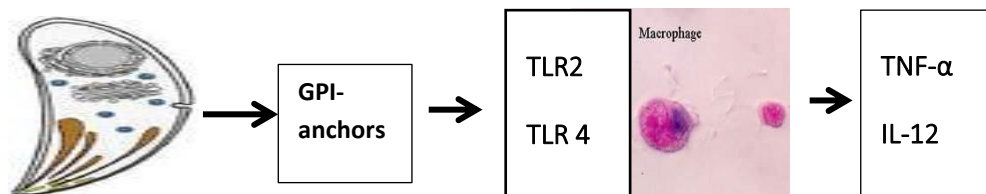
Gambar.4. Grafik kadar antibodi IgM anti toksoplasma sebelum dan pasca injeksi takizoit pada mencit hamil muda. Kadar antibodi IgM diperiksa 24 jam sebelum injeksi, dan 24 jam, 48 jam, 72 jam, 14 hari, dan 21 hari pasca injeksi takizoit dengan konsentrasi yang berbeda pada kelompok yang berbeda. Kadar antibodi IgM meningkat bermakna 24 jam pasca injeksi. (Simanjuntak TP, *et al* . 2017).



Gambar. 5. Grafik Kadar antibodi IgG anti toksoplasma sebelum dan pasca injeksi takizoit pada mencit hamil muda. Kadar antibodi IgM diperiksa 24 jam sebelum injeksi, dan 24 jam, 48 jam, 72 jam, 14 hari, dan 21 hari pasca injeksi takizoid dengan konsentrasi yang berbeda pada kelompok yang berbeda. Kadar antibodi IgG meningkat bermakna 72 jam pasca injeksi. (Simanjuntak TP, *et al* . 2017).

2.2. Infeksi memicu Kadar TNF- α

Pada infeksi akan terjadi peningkatan kadar TNF- α (Meira CS, *et al.* 2014). Peningkatan kadar TNF- α diawali dengan terdeteksinya protein parasit toksoplasma/ glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchore oleh reseptor toll-like receptors (TLR) hospes. TLR khususnya TLR2 dan TLR4 yang teraktivasi oleh GPI akan memicu makrofag memproduksi TNF- α dan IL-12. (Debierre-Grockiego.2007). (Gambar.6.). Infeksi *T. gondi* juga secara spesifik menstimulasi reseptor TNF tipe 1 (p55), sehingga TNF- α dapat bekerja sebagai proinflamasi (Schlüter MD, *et al.* 1998).



Gambar.6. Sekresi TNF- α dan IL-12 oleh makrofag pada infeksi. Glycosylphosphatidylinositol (GPI) -anchores, Reseptor Toll-like receptors (TLR), Tumor necrosis Factor- alpha (TNF- α), (Modifikasi dari Hunter, CA, *et al.* . 2012).

2.3 Infeksi menekan ekspresi gen Foxp3

Gen Foxp3 adalah regulator utama dari CD4⁺CD25⁺ sel T (Chen JT, *et al.* . 2013). Ekspresi gen Foxp3 menurun di limpa dan plasenta mencit hamil yang terinfeksi (Ge YY, *et al.* . 2009., Chen JT, *et al.* 2013).

3. Infeksi menyebabkan abortus

Abortus adalah berakhirnya konsepsi sebelum usia kehamilan 20 minggu dan atau berat janin kurang dari 500 gram (Cunningham, *et al*, 2012). Infeksi salah satu penyebab abortus. Rashidi N, dkk. (2015) melaporkan peningkatan kadar TLR4, IL-6, IL-8, TNF-alpha, dan ekspresi gen MyD88 secara bermakna di sel endometrium setelah 8 jam induksi Lipopolisakarida (LPS). Peningkatan kadar TNF-alpa dapat menyebabkan abortus (Clark, *et al*, 1999., Haider S, *et al*, 2009).

Pada proses implantasi plasenta terdapat aktivasi dari T-helper (Th-1) dalam invasi trofoblas ke endometrium. *Interferon* γ (IFN γ) dan *Natural Killer* (NK) mendukung terjadinya implantasi dan perkembangan dari trofoblas. Keberadaan Th-1 penting pada kehamilan trimester 1 dalam pembentukan arteri spiralis dan melindungi dari infeksi.(Szekeres BJ, 2002., Chaouat G, *et al*, 2004), namun peningkatan kadar Th-1 yang terlalu tinggi akan menyebabkan trombosis, nekrosis, dan kematian jaringan/ konsepsi/ mudigah di awal kehamilan.

Pada infeksi menyebabkan aktivasi dari sistem imun tubuh baik fagosit, kemokin dan sitokin. Profil Th-1 (IL-12), dan IFN- γ) memiliki peran penting pada mekanisme ini. Transmisi melalui plasenta meregulasi pembentukan Th-1 dan IFN γ sebagai respon imun inflamasi yang dilakukan oleh tubuh.(Szekeres BJ, 2002)

Profil Th-1 yang tinggi mengakibatkan destruksi trofoblas sehingga terganggunya pembentukan villi, implantasi trofoblas ke endometrium dan perkembangan trofoblas, hal ini menyebabkan terjadinya abortus. Peningkatan IFN γ secara ekstrim akan menyebabkan resorpsi embrio tanpa disertai dengan infeksi plasenta. (Hampson J, *et al*, 1993., Senegas A *et al*, 2009)

Chen JL, dkk. (2013) melaporkan bahwa terjadinya abortus yang disebabkan oleh infeksi sangat tergantung pada waktu terjadinya infeksi. Penelitian dilakukan dengan menginjeksikan ESA (endotoksin) 0,1 ml intraperitoneal pada mencit dengan beberapa kelompok usia gestasis (kehamilan 5 hari, 10 hari, 15 hari). Kadar CD4⁺CD25⁺ dievaluasi dan didapatkan penurunan kadar dan penekanan fungsi CD4⁺CD25⁺, dan kejadian perdarahan/ abortus (56,20%) yang signifikan pada kelompok mencit usia kehamilan 5 hari. Penurunan kadar dan penekanan fungsi CD4⁺CD25⁺ dihubungkan dengan apoptosis yang disebabkan oleh infeksi ESA yang di *down regulating* oleh ekspresi Bcl-2 dan rasio Bcl-2/ Bax yang menyebabkan terjadinya perdarahan/ abortus.

Tamman, dkk. (2013) melakukan penelitian pada 76 penduduk Mesir yang mengalami abortus spontan, didapatkan 27,7% hanya IgG positif, dan 18,4% kedua IgM dan IgG positif. Rohmawati dkk, melakukan penelitian retrospektif pada 17 wanita yang mengalami abortus periode Januari 2011- Juni 2015. Didapatkan 12 kasus (70,585) kadar IgG reaktif. (Rohmawati, *et al*, 2013). Beberapa penelitian tersebut membuktikan bahwa abortus dapat disebabkan oleh infeksi .

4. Diagnosis Toksoplasmosis

Pemeriksaan serologi dengan metode *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) untuk mengetahui kadar antibodi IgG- IgM, merupakan pemeriksaan tahap pertama yang sering dilakukan untuk menegakkan diagnosis infeksi. Kadar antibodi IgM meningkat pada hari ke 5- 7, dan maksimal sampai 1-2 bulan setelah infeksi akut dan menurun lebih cepat dibanding IgG, tetapi pada beberapa kasus kadar antibodi IgM dapat persisten setelah infeksi akut *Toxoplasma*. Kadar antibodi IgG *Toxoplasma* biasanya terdeteksi pada 1-2 minggu setelah infeksi, dan puncaknya pada 12 minggu sampai 6 bulan pasca infeksi, selanjutnya dapat terdeteksi bertahun-tahun dan biasanya bertahan seumur hidup (Di Carlo P, *et al*, 2008). IgG positif dan IgM negatif menggambarkan kejadian infeksi sudah lebih dari satu tahun, jika keduanya positif menggambarkan infeksi infeksi baru terjadi. Jika dicurigai infeksi akut, disarankan mengulang dua-tiga minggu kemudian (Jones J, *et al*, 2003., Zhang K, *et al*, 2016). Kadar IgG yang meningkat empat kali dari kadar sebelumnya menandakan adanya infeksi baru (Montoya JG, *et al*, 2002). Pemeriksaan aviditas IgG dilakukan untuk mengetahui waktu kejadian. Uji aviditas IgG mengukur kekuatan ikatan IgG terhadap organisme. Aviditas pada hampir semua kasus menunjukkan perubahan konsentrasi rendah menjadi tinggi setelah lima bulan. Aviditas yang tinggi mengindikasikan infeksi terjadi setidaknya lima bulan sebelum pemeriksaan (Montoya JG, *et al*, 2002). Untuk mengetahui adanya di cairan amnion (janin terinfeksi), dapat dilakukan amniocentesis, dan selanjutnya cairan amnion diperiksa dengan teknik

polymerase chain reaction (PCR). Amniocentesis untuk identifikasi tidak dilakukan pada kehamilan kurang dari 18 minggu, dan infeksi kurang dari 4 minggu, karena kemungkinan besar terjadi positif palsu. *Fetal blood sampling* (*cordocentesis*) merupakan pengambilan sampel darah dari vena umbilikus janin untuk mengetahui DNA *Toxoplasma* dengan teknik PCR merupakan pemeriksaan baku emas untuk diagnosis fetus terinfeksi. Pemeriksaan tersebut tidak direkomendasikan untuk diagnostik karena pemeriksaan cairan amnion dengan teknik PCR sangat sensitif dan spesifik, dan tindakan amniosntesis sangat berisiko terhadap fetus (De Oliveira ACT, *et al*, 2016).

5. Penatalaksanaan Toksoplasmosis

a. Pencegahan

Dalam hal pencegahan toxoplasmosis yang penting ialah menjaga kebersihan, mencuci tangan setelah memegang daging mentah menghindari feces kucing pada waktu membersihkan halaman atau berkebun. Memasak daging minimal pada suhu 66⁰C atau dibekukan pada suhu -20⁰C. Menjaga makanan agar tidak terkontaminasi dengan binatang rumah atau serangga. Wanita hamil trimester pertama sebaiknya diperiksa secara berkala akan kemungkinan infeksi dengan toxoplasma gondii. Mengobatinya agar tidak terjadi abortus, lahir mati ataupun cacat bawaan. (Thiebaut R, *et al*, 2007)

Pencegahan yang terpenting adalah terjadinya toksoplasmosis kongenital, yaitu anak yang lahir cacat dengan retardasi mental dan gangguan motorik, merupakan beban masyarakat. Pencegahan dengan tindakan abortus artefisial

yang dilakukan selambatnya sampai kehamilan 21-24 minggu, mengurangi kejadian toksoplasmosis kongenital kurang dari 50 %, karena lebih dari 50 % toksoplasmosis kongenital diakibatkan infeksi primer pada trimester terakhir kehamilan. (Thiebaut R, *et al*, 2007)

b. Pengobatan

Banyak studi yang meneliti tingkat keberhasilan obat-obatan sebagai terapi toksoplasmosis pada kehamilan. Beberapa penelitian menyebutkan obat-obatan seperti spiramisin, pirimetamin, sulfadiazin, sulfonamid, dan asam folinik yang diberikan secara tepat menunjukkan keberhasilan terutama bila didukung dengan program pemantauan yang adekuat. Angka transmisi ibu ke janin dapat di turunkan dan hal itu mencegah kelainan pada bayi baru lahir (Nogareda F, *et al*, 2013).

Serrant, *et al*, (2011) mengatakan bahwa sampai saat ini belum ada obat yang ideal sebagai terapi toksoplasmosis pada perempuan hamil. Spiramycin masih menjadi obat pilihan, namun terbukti tidak dapat mengeradikasi infeksi pada janin. Kombinasi Spramicin dengan sulfadiazin dapat mengeradikasi infeksi pada janin namun memiliki potensi toksik dan teratogenik terhadap janin. Hasil yang cukup menggembirakan terdapat pada kombinasi spiramisin dengan kotrimoksazol karena terbukti aman dan menurunkan transmisi dari ibu ke janin serta mencegah manifestasi klinik.

The Society of Obstetricians and Gynecologists of Canada Guidelines merekomendasikan pemberian 1 gram spiramisin oral setiap 8 jam selama

kehamilan dianjurkan bila pemeriksaan cairan amnion dengan metode PCR hasilnya negatif. Pirimetamin dan Sulfadiazin di berikan jika hasil pemeriksaan PCR positif, karena dapat menembus plasenta. Namun Pirimetamin dan Sulfadiazin tidak diberikan pada kasus suspek infeksi terutama pada trimester pertama kehamilan, sebab berpotensi teratogenik dan efek toksik pada sumsum tulang janin (Valentini P, *et al*, 2015).

Spiramisin yang menjadi obat pilihan hanya bersifat bakterostatik dan bakterisid. Reaksi inflamasi yang terjadi akibat infeksi tetap terjadi dan tidak terganggu. Reaksi inflamasi yang terlalu tinggi karena infeksi khususnya strain patogen akan menjadi dilema karena akan menyebabkan trombosis, nekrosis dan kematian konsepsi. Oleh sebab itu perlu diteliti obat yang berfungsi sebagai bakteriosit juga berfungsi sebagai anti inflamasi. *Kurkumin* telah terbukti sebagai anti inflamasi yang poten pada infeksi dan sebagai anti bakteri. Penelitian pemberian *kurkumin* pada tikus hamil efektif sebagai terapi dan pencegahan persalinan prematur yang disebabkan oleh infeksi (LPS) melalui mekanisme pencegahan aktivasi jalur NF-kB, mengurangi ekspresi TNF- α dan L-8, serta mengurangi kerusakan dari lipid peroksida oleh stres oksidatif (Guo Y-Z, *et al*. 2017). Namun efektifitas *kurkumin* pada kehamilan untuk mencegah abortus akibat masih perlu dilakukan penelitian.

D. KUNYIT KUNING / *CURCUMA LONGA*

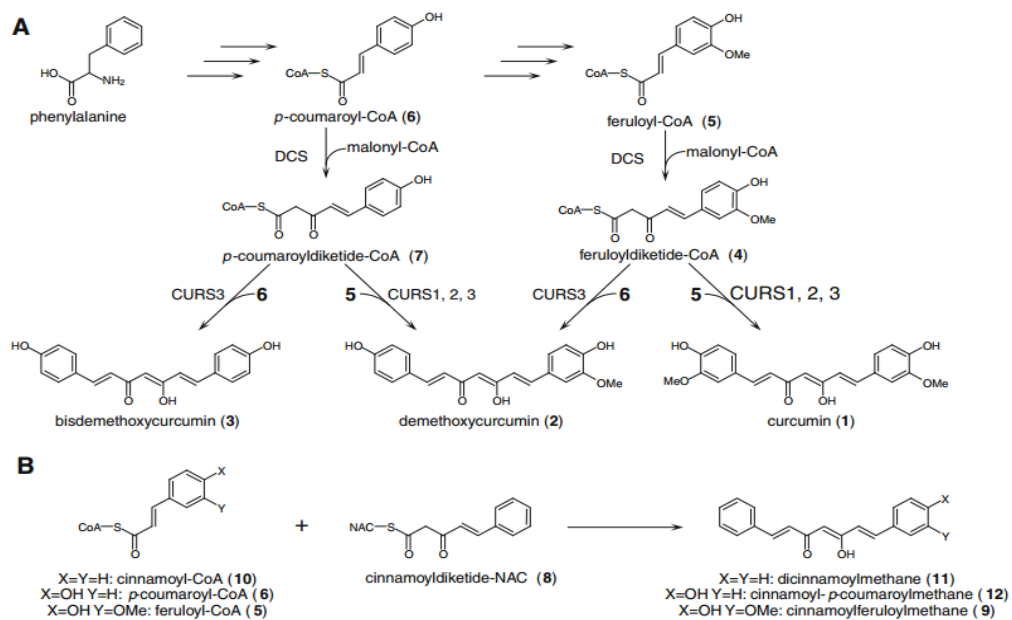
Unsur utama dari kunyit adalah *kurkumin* (Tabel. 1). Roughley dan Whiting tahun 1973 yang pertamakali menemukan *kurkumin* merupakan komponen utama kunyit. *Kurkumin* larut pada etanol, alkalis, ketone, asam asetat, dan kloroform, dan tidak larut pada air. (Araujo CAC dkk, 2001).

Compounds	Chemical structure	Activity
Curcumin		anti-bacteria <i>Leishmania amazonensis</i> anti-HIV antioxidant anti-inflammatory anti-tumor
Ar-turmerone		snakebite
Methylcurcumin		<i>L. amazonensis</i>
Demethoxy curcumin		antioxidant
Bisdemethoxy curcumin		antioxidant
Sodium curcuminat		anti-inflammatory

Tabel.1. *Kurkumin*, derivat dari *Curcuma longa*, dan efek biologik Dikutip dari Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 96(5):723-728, Jul 2001 (Araujo CAC, *et al.* 2011).

Sintesis *kurkuminoid* diawali dari katalase phenylalanine (Gambar.7) Sintesis curcumoid dibagi dua tahap, tahap pertama (A) merupakan alur biosintesis curcumoid, dan tahap kedua (B) merupakan tahap reaksi yang dikatalase oleh sintesis *kurkumin* (CURSs). Feruyol-koenzim A (CoA) (5) yang disintensis dari phenylalamin dikondensasi dengan malonyl-CoA and diubah menjadi feruloyldilketide-CoA (4) oleh sintesis diketide-CoA (DCS).

Feruloyldiketide-CoA yang disintesis dikondensasi dengan feruloyl-Coa dengan aksi oleh CURS1, 2, 3 dan terkondensasi dengan p-coumaroyl-CoA akibat CURS3 yang menghasilkan kurkumin (1) dan demethoxycurcumin. (2) Ketika p-coumaroyl-Coa. (6) digunakan oleh DCS, p-coumaroyldiketide-CoA (7) dihasilkan dan demethoxycurcumin (2) dan bisdemethoxycurcumin (3) diproduksi oleh CURs dalam cara yang mirip. CURS1 and CURS2 lebih cocok dengan feruloyl-CoA dan CURS3 bisa dua-duanya feruloyl-CoA (5) dan p-coumaroyl-CoA (6). CURSs mengkatalase formasi kurkuminoid dari cinnamoyl-Coa (10) , p-coumaroyl-Coa (6) dan feruloyl-CoA (5), ketika diinkubasi dengan cinnamoyldiketide-N-acetylcysteamine (NAC) (8), sebuah analogi dari dektide-CoA.



Gambar 7. Alur biosintesis *Kurkumin* oids. (Katsuma Y, 2009).

Penelitian tentang pengaruh pemberian kunyit (*Curcuma domestica* Va) terhadap aktivitas fagositosis makrofag pada mencit BALB/ C yang diinokulasi bakteri *Listeria monocytogenes*, menyatakan bahwa jumlah makrofag yang mampu memfagosit *latex beads* menunjukkan bahwa, rerata jumlah makrofag tertinggi terdapat pada kelompok yang mendapatkan pemberian ekstrak kunyit 0,26 mg/hr, diikuti kelompok yang mendapatkan pemberian ekstrak kunyit 0,13 mg/hr, kemudian kelompok yang mendapatkan pemberian ekstrak kunyit 0,52 mg/ hr dan kelompok kontrol. Dosis konversi kunyit dari manusia ke mencit, yaitu 0,26 mg/hr merupakan dosis terbaik yang dapat digunakan dalam meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag pada mencit yang terinfeksi bakteri intraselular, sehingga dosis terbaik dari kunyit sebagai imunostimulan sudah didapatkan pada 0,26 mg/hr, yang merupakan dosis aman dan tidak toksik untuk dikonsumsi (Commandeur JN, *et al.* 1996). Penambahan atau peningkatan dosis lebih lanjut akan memacu proses hemostasis tubuh yang menjaga agar tidak terjadi peningkatan respon imun yang berlebihan yang dapat menyerang jaringan tubuhnya sendiri. Pemberian ekstrak kunyit mampu memberikan pengaruh terhadap peningkatan aktivitas fagositosis makrofag pada mencit yang diinfeksi bakteri intraselular.

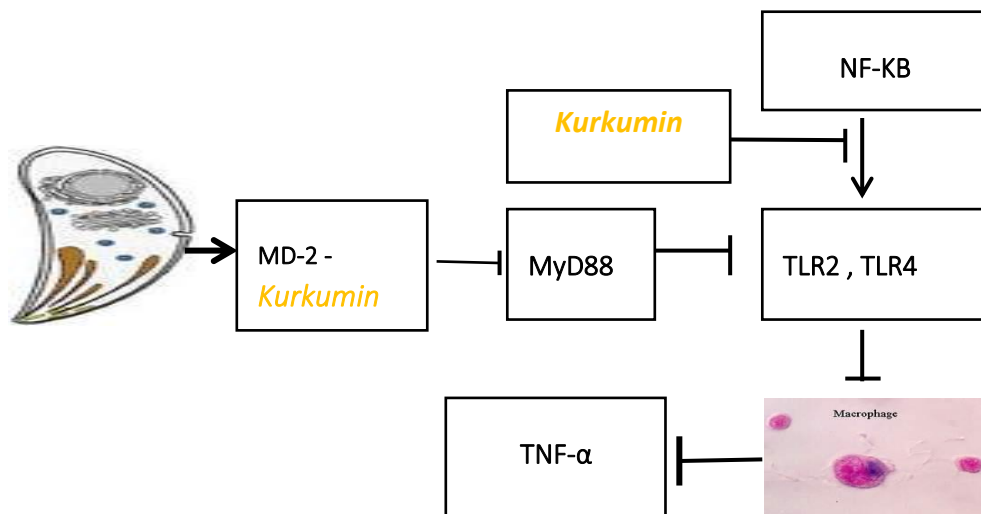
1. *Kurkumin* meningkatkan ekspresi gen *Foxp3*

Ekspresi gen *Foxp3* meningkat setelah diinduksi dengan *kurkumin*. Peningkatan ekspresi gen *Foxp3* terjadi secara berkala (6 jam, 24 jam, 48 jam, 7 hari) pasca induksi dengan *kurkumin*. Pada penelitian tersebut diatas, kadar tertinggi terjadi setelah 7 hari pasca induksi. Pada penelitian tersebut, induksi

Treg terjadi melalui peningkatan produksi TGF- β oleh sel dendrit yang distimulasi *kurkumin* (Cong Y, *et al.* 2009). Zhao HM dkk. (2016) melaporkan bahwa pemberian *kurkumin* 200 mg/KgBB selama 7 hari meningkatkan sekresi sel Treg. Pada Penelitian tersebut, *kurkumin* potensial sebagai pengaturan aktivasi dari sel dendrit untuk mempertinggi efek supresi dari sel Treg. Transforming growth factor- β (TGF- β) berperan penting pada pengaturan respons imun sel T dan toleransi imunitas. TGF- β telah dilaporkan sebagai modulator ekspresi gen Foxp3 pada sel T. TGF- β menginduksi faktor transkripsi Foxp3 sehingga terjadi perubahan sel T naif CD4+CD25- perifer menjadi sel T regulator CD4+CD25+ (Chen W, *et al.* 2003).

2. *Kurkumin* menekan produksi TNF- α .

Kurkumin dapat menghambat produksi dan aksi TNF- α dengan berbagai cara (Anggarwal BB, *et al.* 2013), namun penekanan ekspresi dari TNF- α oleh *Kurkumin* terutama melalui penekanan/ *down regulation* NF-kB (Singh, *et al.* 1995). *Kurkumin* juga dapat menekan produksi TNF- α melalui penghambatan ekspresi TLR2, TLR4, dan TLR9 pada liver mencit (Tu, *et al.* 2012). *Kurkumin* juga akan mengikat myeloid differentiation protein-2 (MD-2), yang merupakan reseptor permukaan endotoksin, sehingga. Senyawa MD2 – *kurkumin* ini akan menghambat MyD 88 yang berfungsi sebagai signal terhadap TLR, yang berakibat TLR yang merupakan reseptor hospes yang mengenali protein antigen tidak berspons dan tidak merangsang makrofag untuk menghasilkan TNF- α (Gambar. 8). (Anggarwal BB, *et al.* 2013).



Gambar.8. Mekanisme *kurkumin* menghambat produksi TNF- α . myeloid differentiation protein-2 (MD-2), MyD88. Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- α). Nuclear Fakfor- Kappa B (NF- κ B). (Anggarwal BB, *et al.* 2013).

3. Bioavailabilitas dan keamanan *kurkumin*.

Kurkumin biasanya bermanifestasi respon biologis ketika diberikan secara oral pada tikus pada dosis sekitar 50-500 mg/ Kgbb (Farombi, *et al.* 2006). Potensi dari partikel *kurkumin* lipid padat (SLCP) merugikan efek pada tikus setelah pemberian jangka waktu pendek dan lama (Dadhaniya, *et al.* 2011). LD50 oral pada tikus ditemukan menjadi lebih besar pada dosis 2000 mg / kgbb. Dalam studi toksisitas sub-kronis, 180, 360 dan 720 mg /kgbb pada tikus dengan SLCP yang diberikan kurkumin melalui gavage oral untuk tikus Wistar (10 per seks per kelompok) selama 90 hari. Pemberian kurkumin pada penelitian ini tidak menghasilkan toksikologi apapun dan perubahan yang terkait dengan pengobatan yang signifikan dalam klinis (termasuk perilaku) pengamatan, pemeriksaan mata, berat badan, konsumsi makanan dan bobot

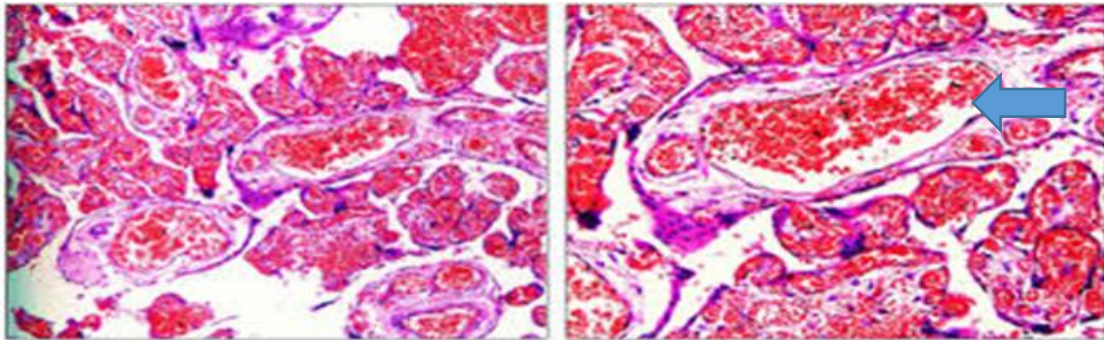
organ. Tidak ada efek samping dari pemberian kurkumin yang tercatat pada hematologi, parameter kimia serum dan urinalisis.

Pada manusia, kurkumin 150 mg telah terbukti efektif dalam mengurangi kadar serum sitokin proinflamasi (Usharanidkk. 2008). Pengaruh pemberian kurkumin, 500 mg sehari selama 7 hari, pada tingkat serum kolesterol dan lipid peroksida dipelajari di 10 relawan manusia yang sehat (Soni, *et al* . 1992), didapatkan penurunan yang signifikan dalam tingkat serum peroksida lipid, bersama dengan peningkatan highdensity lipoprotein kolesterol dan penurunan total serum kolesterol. Dalam studi lain, kurkumin diberikan secara oral sampai 8000 mg/hari pada 25 pasien (Cheng, *et al* . 2001). Konsentrasi serum kurkumin biasanya memuncak di 1-2 jam setelah asupan oral kurkumin dan secara bertahap menurun dalam 12 jam. Konsentrasi serum puncak rata-rata setelah asupan oral 4000, 6000 dan 8000 mg kurkumin, Namun, ekskresi urin kurkumin tidak terdeteksi.

E. Histopatologi Jaringan Plasenta.

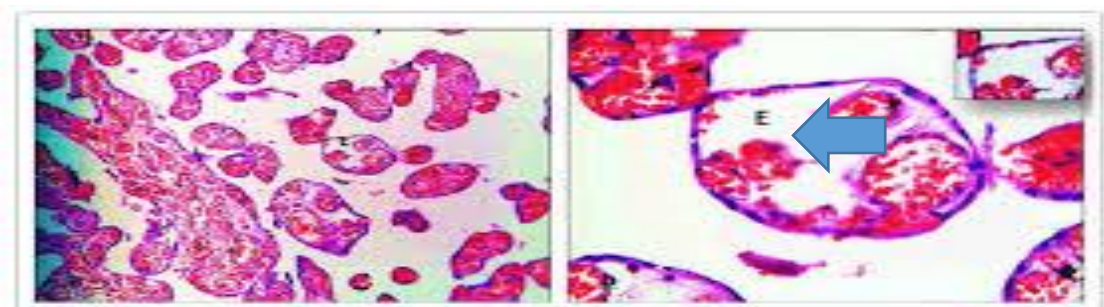
Pada kehamilan normal pembuluh darah khususnya di uterus akan mengalami dilatasi sampai 10 kali dibanding uterus yang tidak hamil, hal ini bertujuan untuk menjamin kecukupan aliran darah kepada janin supaya dapat berkembang dengan baik. Pada pemeriksaan histologi pembuluh darah di uterus akan tampak gambaran pembuluh darah yang berdilatasi dengan tumpukan darah yang lebih banyak jika dibanding pembuluh darah uterus

yang tidak hamil. Kongesti kapiler adalah gambaran pembuluh darah yang berdilatasi oleh karena adanya sumbatan oleh karena ada tahanan akibat aterosklerosis, tumor atau akibat reaksi radang, Gambaran histologi (Gambar.9) menunjukkan adanya dilatasi vascular yang ditandai dengan penumpukan sel darah intra vaskular



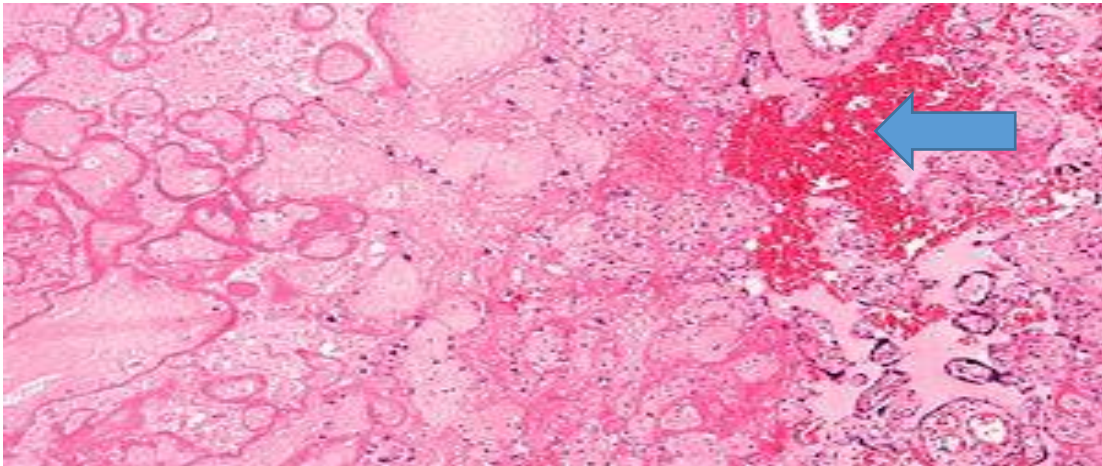
Gambar.9. Kongesti pembuluh darah pada jaringan plasenta (Tressh, *et al.* 2015).

Gambaran edeme ekstra selular berupa gambaran terdapatnya plasma darah di ekstra vascular akibat permeabilitas vascular meningkat bisa terjadi karena proses infeksi/ inflamasi (Gambar.10)



Gambar.10 Edema ekstra selular pada jaringan plasenta .(Tressh, *et al.* 2015)

Gambaran haemoragik berupa terdapatnya sel sel darah di ekstra vascular, hal ini terjadi akibat kerusakan dinding vaskuler oleh karena reaksi radang yang berat (Gambar. 11).



Gambar. 11. Haemoragik ekstra vascular pada jaringan plasenta (Macrolles P, 2010)

Kematian sel/ nekrosis sel dapat terjadi akibat infeksi yang berat. Gambaran histologi ditandai dengan liquifaksi jaringan sehingga hilangnya gambaran jaringan dan selular. Terjadinya nekrosis sel merupakan kelanjutan dari proses infeksi, Reaksi inflamasi berat dapat menyebabkan kongestif kapiler akibat trombus intravascular, reaksi inflamasi yang hebat akan menyebabkan permiabilitas vascular yang meningkat mengakibatkan edema ekstra selular, kerusakan dinding pembuluh darah dan hipoksi sehingga terjadi haemoragik dan berakhir dengan kematian sel (Tressh, *et al.* 2015)

F. Alur Pikir Penelitian

Toxoplasma gondii adalah parasit obligat intraselular. Parasit ini merupakan penyakit zoonosis yang dapat menginfeksi manusia. Infeksi *T. gondii* (toksoplasmosis) menjadi sangat penting khususnya di bidang obstetrik karena jika terjadi toksoplasmosis akut pada kehamilan trimester awal, dapat menyebabkan abortus.

Infeksi *T.gondii* akan memicu imunitas humoral dan selular tubuh. Imunitas humoral seperti antibodi IgG-IgM akan meningkat jika terjadi infeksi (Simanjuntak TP, *et al.* 2017). Antibodi IgM akan memfagosit takizoid sekitar 90% dan sisanya akan difagosit melalui jalur imunitas selular (Baratawidjaja, *et al.* 2014). Sel T khususnya Th-1 juga akan teraktivasi oleh infeksi *T. gondii*, sehingga kadar pro-inflamasi (Th-1) seperti TNF-alpha dan INF-gamma meningkat.

Keseimbangan Th-1 dan Th-2 sangat diperlukan untuk terjaminnya kelangsungan kehidupan mudigah khususnya pada awal kehamilan. Keseimbangan Th-1 dan Th-2 yang terganggu akibat infeksi *T. gondii* dapat menyebabkan abortus.

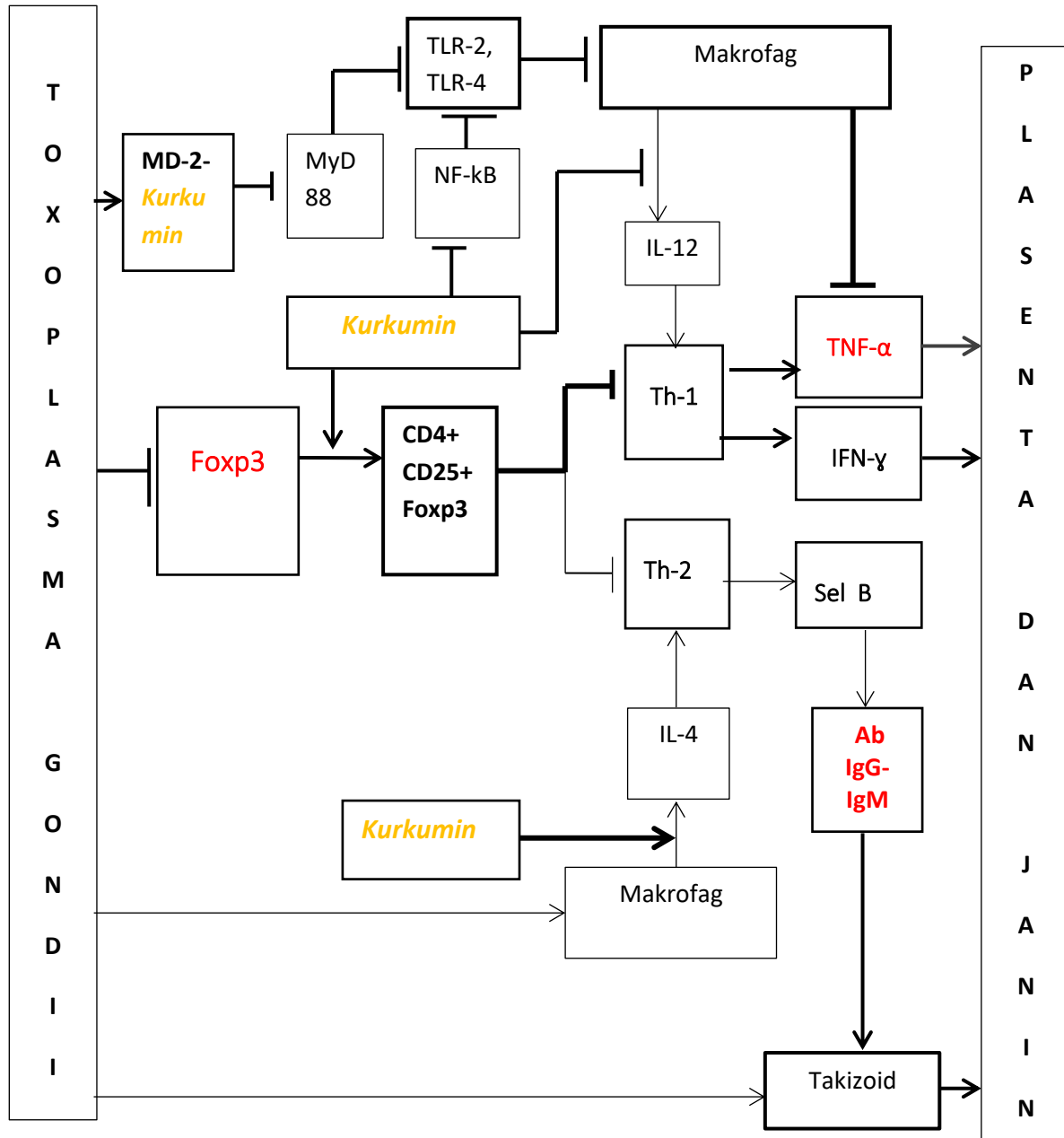
Keseimbangan Th-1 dan Th-2 dikendalikan oleh gen Foxp3 melalui sel Treg. Gen Foxp3 atau sel Treg berfungsi sebagai regulator terhadap keseimbangan imunitas selular khususnya sel T (Th-1, Th-2 dan Th-17), Gen Foxp3/ sel Treg cara kerjanya bersifat menekan sel T khususnya sel Th-1. Ketika terjadi infeksi akut, ekspresi gen Foxp3/ sel Treg menurun, sehingga penekanan terhadap Th-

1 juga akan menurun, akibatnya sekresi pro-inflamasi seperti TNF- α dan IFN- γ meningkat, namun peningkatan yang pro-inflamasi yang berlebih pada kehamilan dini dapat menyebabkan kerusakan sel embrional dan abortus.

Spiramisin adalah terapi pilihan pada kehamilan trimester satu dengan toksoplasmosis. Spiramisin akan membunuh takizoid karena bersifat bakterisit/bakteriostatik, namun tidak bisa mencegah abortus akibat efek inflamasi yang terjadi, sehingga abortus tetap dapat terjadi.

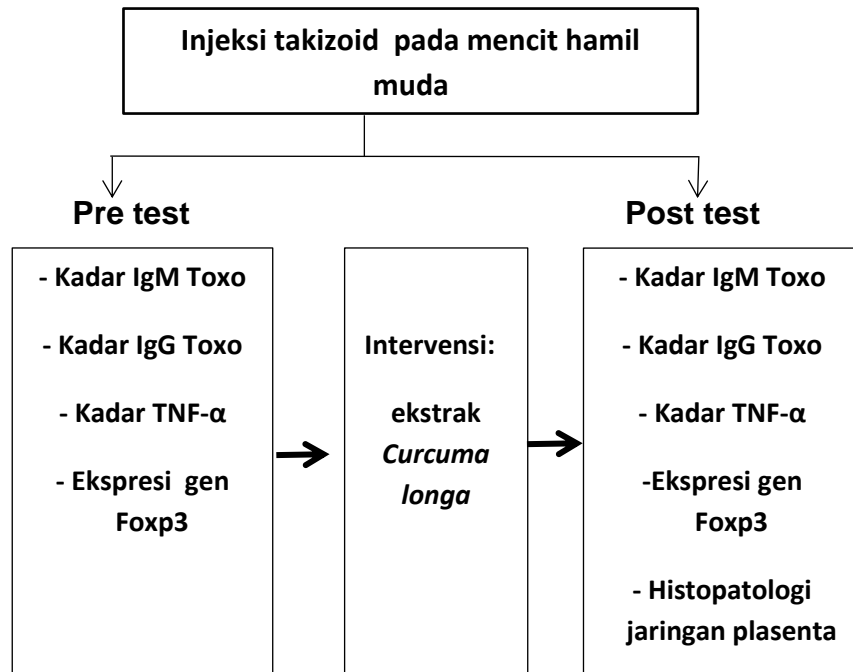
Kunyit kuning (*Curcuma longa*) banyak dan mudah ditemukan di benua Asia khususnya di Indonesia. Kunyit kuning juga sudah puluhan tahun dipakai di Indonesia menjadi obat tradisional seperti jamu, bahkan kunyit sudah diproduksi dalam bentuk ekstrak sebagai obat herbal/ Fito farmaka. *Kurkumin* adalah komponen utama *Curcuma longa*, sudah terbukti dan sangat efektif sebagai anti inflamasi. *Kurkumin* menekan produksi TNF- α dan IFN- γ melalui beberapa mekanisme, bahkan Kurkumin juga memiliki efek anti mikroba dan anti oksidan. Berdasarkan uraian diatas, maka peneliti tertarik untuk membuktikan efektifitas ekstrak *Curcuma longa* dapat sebagai terapi mencegah abortus pada mencit hamil muda dengan toksoplamosis akut dengan menganalisa dinamika kadar antibodi IgG-IgM anti toksoplasma, Ekspresi Gen Foxop3, kadar TNF- α , dan menganalisis kerusakan sel jaringan plasenta dengan pemeriksaan histopatologi setelah diintervensi dengan ekstrak *Curcuma longa*.

G. Kerangka Tiori

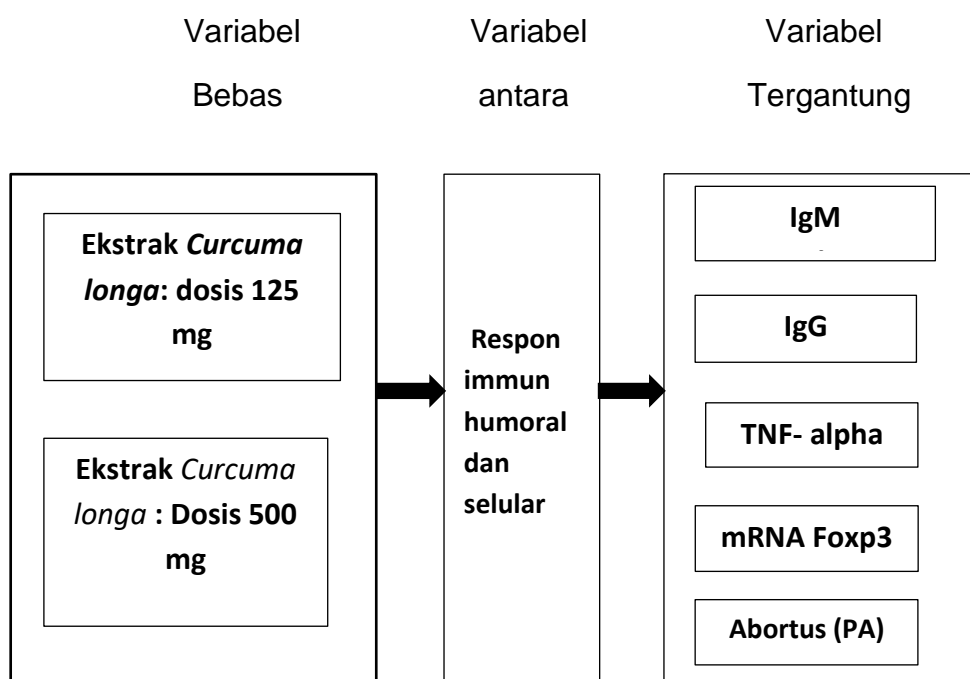


Bagan KerangkaTiori

H. Kerangka Konsep



Pada penelitian ini variabel bebas, dan variabel tergantung digambarkan sebagai berikut:



I. Definisi Operasional

- **Abortus berdasarkan histopatologi;** Kondisi dimana ditemukannya gambaran perdarahan/ haemoragik dan kerusakan sel/ nekrosis sel secara histopatologi pada jaringan plasenta.
- **Toksoplasmosis akut:** Keadaan dimana terdapat peningkatan kadar antibodi IgM anti toksoplasma yang bermakna (kadar antibodi IgM anti toksoplasma meningkat lebih besar dari cut of point berdasarkan rumus penghitungan dari KIT yang dipergunakan) pasca 3 hari injeksi 10 takizoid.
- **Ekstrak kunyit kuning/ ekstrak *Curcuma longa*** : Ekstrak kunyit kuning yang didapat dengan proses/ metode maserasi, dan penentuan senyawa kurkuminoid dilakukan secara KLT densitometry dan Spektrofotometri. Kadar kurkuminoid pada ekstrak *Curcuma longa* didapatkan sebesar 25,5%. Dosis ekstrak *Curcuma longa* yang ditetapkan pada penelitian ini adalah edosis 125 mg/ Kgbb/ hari, dan dosis 500 mg/ Kgbb/ hari.
- **Larutan ekstrak kunyit kuning** : Ekstrak *curcuma longa* dilarutkan dengan Twin 80 sebelum diberikan pada hewan coba secara oral dengan bantuan alat sonde khusus.
- **Kadar IgM – IgG Toxoplasma:** Pengukuran kadar antibodi IgM Toxoplasma menggunakan qualitative mouse antibody IgM (TP-IgM) ELISA KIT. Cat No: MBS9310461 dan Pengukuran kadar antibodi IgG Toxoplasma

menggunakan qualitative mouse antibody IgG (TP-IgG) ELISA KIT. Cat No: MBS109093. Kadar antibodi IgM – IgG Toxoplasma diperiksa dengan metode ELISA. Kadar antibodi IgM – IgG Toxoplasma dengan satuan *optic density* (OD) dikatakan meningkat jika kadarnya diatas *cut of point* yang mengacu perhitungan dari KIT antibodi IgM – IgG Toxoplasma .

- **Kadar TNf-alpha:** Kadar TNf-alpha diperiksa dengan metode ELISA. Kadar TNf-alpha dengan satuan ug/ml dikatakan meningkat jika terjadi peningkatan kadar dibanding kadar kondisi normal (tanpa diintervensi). Kemaknaan peningkatan atau penurunan kadar TNf-alpha, jika $p < 0,05$.

- **Ekspresi gen Foxp3:** Diperiksa dengan quantitaf real-time PCR system (Applied Biosystems) menggunakan power SYBR[®] Green PCR Mix (Applied Biosystems). Hasil ekspresi gen Foxp3 dikatakan meningkat atau menurun jika lebih besar atau lebih kecil dari ekspresi gen sebelum diintervensi. Kemaknaan peningkatan atau penurunan ekspresi gen Foxp3, jika $p < 0,05$

J. HIPOTESIS

1. Ekstrak *Curcuma longa* dosis 125 mg/Kgbb/ hari dan dosis 500 mg/ Kgbb/ hari, dapat menurunkan kadar antibodi IgG-IgM anti toksoplasma pada mencit Balb/c hamil muda yang terinfeksi *Toxoplasma gondii* (Toksoplasmosis akut)
2. Ekstrak *Curcuma longa* dosis 125 mg/Kgbb/ hari dan dosis 500 mg/ Kgbb/ hari, dapat meningkatkan ekspresi gen Foxp3 pada mencit Balb/c hamil muda yang terinfeksi *Toxoplasma gondii* (Toksoplasmosis akut)
3. Ekstrak *Curcuma longa* dosis 125 mg/Kgbb/ hari dan dosis 500 mg/ Kgbb/ hari, dapat menurunkan kadar TNF α , pada mencit Balb/c hamil muda yang terinfeksi *Toxoplasma gondii* (Toksoplasmosis akut)
4. Intervensi dengan ekstrak *Curcuma longa* dosis 125 mg/Kgbb/ hari dan dosis 500 mg/ Kgbb/ hari selama tujuh hari, dapat mencegah kerusakan sel jaringan plasenta/ abortus, pada mencit hamil muda yang terinfeksi *Toxoplasma gondii* (Toksoplasmosis akut),

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Penelitian eksperimental dengan metode *pre and post test control group design*. Penelitian dilakukan pada 20 ekor mencit Balb/ C yang dikondisikan hamil muda. Mencit dibagi menjadi 5 kelompok (K1-K5) secara acak, masing-masing 4 ekor/ kelompok. K1- K4 disuntik intra peritoneal 10 takizoid *Toxoplasma gondii* galur RH. Tiga hari pasca injeksi takizoid , K1 diintervensi dengan ekstrak *Curcuma longa* dosis 125 mg/ kgbb/ hari, K2 diintervensi dengan ekstrak *Curcuma longa* dosis 500 mg/ kgbb/ hari, K3 diintervensi dengan Spiramisin dosis 60 mg/ kgbb/ hari (kontrol positif), K4 diintervensi dengan larutan aquadest 0,2 ml (kontrol negatif), dan K5 tidak terinfeksi dan tidak diintervensi. Sampel darah diambil dari vena ekor secara serial untuk pemeriksaan ekspresi gen Foxp3 dengan teknik qPCR, dan pemeriksaan kadar antibodi IgG – IgM anti toksoplasma, kadar TNF-alpha dengan metode ELISA. Tujuh hari pasca intervensi, mencit dikorbankan untuk pemeriksaan histopatologi jaringan plasenta.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Imunologi dan Biomolekular Departemen Mikrobiologi FK. UNHAS - Makassar. Penelitian dilakukan periode Juni 2016 – Maret 2017

C. Sampel Penelitian

Mencit betina dewasa strain Balb/c, bebas patogen, diperoleh dari *Animal Laboratory* Bogor, Jawa Barat. Hewan coba penelitian ditentukan berdasarkan *research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines* sesuai dengan standar WHO. Mencit dikondisikan hamil muda di laboratorium biomolekular dan imunologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.

C.1. Kriteria inklusi

1. Tikus betina dewasa (11-13 mgg)
2. Tidak ada kecacatan fisik
3. Berat badan : 16-20 gram
4. Tikus hamil (usia kehamilan 1-3 hari)

C.2. Kriteria eksklusi

1. Tidak mau makan
2. Gerakannya tidak aktif/ tampak tidak sehat.

C.3. Penetapan jumlah sampel

Banyaknya sampel pada penelitian ini sebanyak 20 ekor yang dibagi menjadi lima kelompok. Penetapan jumlah sampel berdasarkan prinsip-prinsip penelitian yang menggunakan hewan coba, dan rekomendasi Komite Etik Penelitian Universitas Hasanuddin.

D. Bahan dan Alat

1. Ekstrak *Curcuma longa*

Kunyit kuning (*Curcuma longa*) diperoleh dari pasar tradisional kota Makassar. Ekstrak *Curcuma longa* yang dipergunakan didapat dengan metode maserasi. Proses membuat ekstrak, serta penghitungan kandungan kurkuminoid, dilakukan di laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Prosedur dan tahapan pembuatan ekstrak *Curcuma longa* sebagai berikut.

a. Pengambilan dan pengolahan *Curcuma longa*

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Linn./*Curcuma longa*) yang diperoleh dari pasar tradisional. Rimpang kunyit telah dideterminasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Hasil identifikasi/ determinasi tumbuhan diterima pada tanggal 16/juni/2016, surat no.1410/IPH.1.02/IF.07/IV/2016. Rimpang kunyit disortasi basah kemudian dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya dipotong tipis-tipis

secara melintang kemudian dikeringkan pada oven simplisia pada suhu 50°C. Selanjutnya disortasi kering kemudian dibuat serbuk dan siap untuk diekstraksi.

b. Ekstraksi kunyit

Ekstraksi sampel dilakukan dengan metode maserasi dengan menggunakan cairan penyari aseton. Ekstraksi dilakukan sebagai berikut : Sebanyak 1 kg serbuk rimpang kunyit dimasukkan ke dalam wadah maserasi kemudian dibasahi dengan aseton (dua kali bobotnya 2000 ml) dan dibiarkan selama 15 menit. Selanjutnya ditambahkan cairan penyari aseton sebanyak 4 L hingga terendam semua kemudian disimpan pada tempat yang terlindung dari sinar matahari langsung. Dibiarkan selama 48 jam sambil sesekali diaduk. Setelah itu disaring, filtratnya ditampung dan ampasnya diekstraksi kembali dengan cairan penyari aseton dengan cara dan perlakuan yang sama. Hal ini dilakukan sebanyak 3 kali. Filtrat yang diperoleh digabung kemudian diuapkan pelarutnya dengan menggunakan rotavapor hingga diperoleh ekstrak kental.

c. Pemisahan minyak/ lemak (defatisasi)

Ekstrak aseton dipartisi dengan menggunakan pelarut n-heksan hingga diperoleh ekstrak yang larut n-heksan dan tidak larut n-heksan. Bagian yang larut n-heksan (fase minyak) dipisahkan sedangkan bagian yang tidak larut n-heksan dipartisi kembali dengan n-heksan dengan cara dan perlakuan yang sama. Hal ini dilakukan sebanyak tiga kali (sampai pelarut n-heksan berwarna bening). Ekstrak tidak larut n-heksan di simpan untuk penentuan kadar senyawa kurkuminoid dan pengujian aktivitas.

d. Penentuan senyawa kurkuminoid

Penentuan senyawa kurkuminoid dilakukan secara KLT densitometry dan Spektrofotometri. Kadar kurkuminoid pada ekstrak *Curcuma longa* didapatkan sebesar 25,5%.

2. Parasit *T. gondii*.

BioSample: SAMEA3283069; Sample name: *Toksoplasma gondii* RH genome; SRA: ERS670498. Suspensi *T. gondii* dikembang biakkan di laboratorium Institute Pertanian Bogor (IPB), dipakai untuk memicu respons imun Balb/c. Sebanyak 0,1 cc (10 takizoid dalam larutan NaCL fisiologis) disuntikkan intraperitoneal dengan menggunakan jarum suntik 1 cc.

3. Kit antibodi IgG anti toksoplasma

4. Kit antibodi IgM anti toksoplasma

5. Kit TNF- alpha.

6. KIT Master mix, dan primer gen Foxp3

7. Alat Elisa reader (R/. Bio Merck)

8. Alat Sentrifuga.

9. Real-time PCR equipment (Applied Biosystems) menggunakan power SYBR[®] Green PCR Mix (Applied Biosystems)
10. Kandang mencit yang memenuhi standart prosedur serta seperangkat alat penanganan hewan coba dan timbangan
11. Alat habis pakai: jarum suntik 1 cc steril, pipet, tabung , sarung tangan, masker, alkohol, kapas. Cairan NaCl fisiologis, dll.

E. Tahapan dan Prosedur Penelitian

1. Menyediakan sampel penelitian

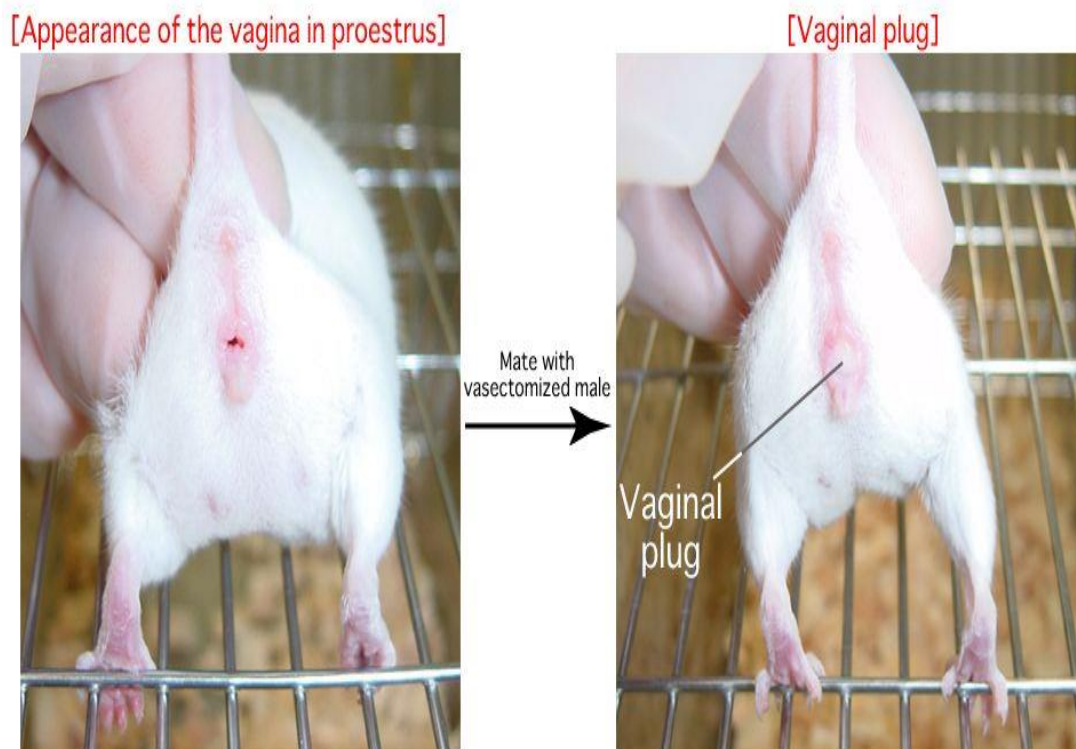
Sampel yang dipakai pada penelitian ini adalah mencit betina jenis Balb/c berusia 11-13 minggu, berat badan 16 - 20 gram.

2. Proses adaptasi sampel penelitian

Sebelum masa perlakuan, mencit dipelihara di laboratorium biomolekuler dan imunologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, dan diadaptasikan selama satu minggu agar kondisi fisik dan psikis mencit stabil, dalam ruangan khusus dengan sirkulasi udara yang cukup dan dipertahankan pada suhu ruang kondisi standar (suhu 28 ± 2 °C). Kelembaban $50 \pm 10\%$ dan lampu ruangan dengan siklus 12 jam menyala dan 12 jam dipadamkan pada saat malam hari. Selama dalam pemeliharaan mencit diberi makan pelet standar alami dan diberi minum secukupnya secara ad libitum.

3a. Pemodelan hewan coba: (mencit hamil 1-3 hari).

Setiap kandang dimasukkan satu ekor betina, dan satu mencit jantan Balb/ c yang dewasa (13-15 minggu) yang sudah terbukti bisa menghamili. Mencit yang dalam proses penghamilan, ditimbang setiap hari dan diobservasi tanda - tanda kehamilan seperti tanda plug (vagina tampak kemerahan, bengkak, dan ditemukan gumpalan sekret kental di introitus vagina). Gambar .12



Gambar.12. Tampilan vagina mencit yang sedang proestrus dan vagina mencit yang sudah hamil dengan vaginal plug (lendir kental)

3b. Pemodelan hewan coba: (terinfeksi *Toksoplasma gondii*)

Sampel mencit yang sudah hamil (hamil 1-3 hari), empat kelompok (K1, K2, K3, K4) masing-masing disuntik suspensi takizoid 0,1 ML (10

takizoit dalam 0,1 ML cairan NaCl fisiologis) ke intraperitoneal menggunakan jarum suntik 1cc yang steril/ mencit.

4. Pengelompokan sampel penelitian

Mencit yang sudah hamil muda 1-3 hari (20 ekor dikelompokkan menjadi lima kelompok (kelompok K1, K2, K3, K4, K5) secara acak. Masing masing kelompok terdiri dari 4 ekor. Setiap ekornya ditempatkan dalam satu kandang untuk memudahkan pengamatan manifestasi klinis yang terjadi.

5. Intervensi sampel penelitian

Sampel penelitian (K1-K4) diintervensi pasca 72 jam injeksi takizoid. Intervensi dilakukan selama 7 hari. Adapun jenis intervensi berdasarkan kelompok yang sudah ditetapkan.

Kelompok K1: Mencit hamil muda dengan toksoplasmosis akut yang diintervensi dengan ekstrak *Curcuma longa* dosis 125 mg/ KgBB / hari.

Kelompok K2: Mencit hamil muda dengan toksoplasmosis akut yang diintervensi dengan ekstrak *Curcuma longa* dosis 500 mg/ KgBB/ hari.

Kelompok K3: Mencit hamil muda dengan toksoplasmosis akut yang diintervensi dengan Spiramisin dosis 60 mg/ Kgbb/hari (kelompok kontrol positif).

Kelompok K4: Mencit hamil muda dengan toksoplasmosis akut yang diintervensi dengan larutan aquadest 0,2 ml (kelompok kontrol positif).

Kelompok K5: Mencit hamil muda yang tidak terinfeksi *Toxoplasma gondii* dan tidak diintervensi (Kelompok kontrol hamil fisiologis).

6. Pengambilan sampel darah

Pengambilan sampel darah dilakukan serial empat kali , yakni 24 sebelum injeksi takizoid (A1), 72 jam pasca injeksi takizoid (A2), tiga hari pasca intervensi (A3), dan tujuh hari pasca intervensi (A4). Darah diambil sebanyak 0,2 cc dari vena ekor mencit untuk pemeriksaan kadar antibodi IgG-IgM anti toxoplasma dan kadar TNF α . Tarah tersebut disentrifuga untuk mendapat serum, lalu disimpan di freezer pada suhu -20⁰C. Sampel darah 0,1 cc yang diambil dan dilarutkan dengan larutan khusus (larutan L6) untuk pemeriksaan ekspresi gen Foxp3. Sampel darah diberi label sesuai nomor urut mencit dan tanggal pengambilan, lalu dikumpulkan dan disimpan pada suhu kamar.

Tabel 2. Jadwal pengambilan sampel darah penelitian

Periode	Waktu Pengambilan	Sampel Penelitian	Volume darah
A1	Satu hari sebelum injeksi takizoid	- Untuk pemeriksaan : ekspresi gen Foxp3 - kadar antibodi IgG- IgM toksoplasma dan kadar TNF- alpa	0.1 cc 0,2cc
A2	3 hari pasca injeksi takizoid	- Untuk pemeriksaan : ekspresi gen Foxp3 - kadar antibodi IgG- IgM toksoplasma dan kadar TNF- alpa	0.1 cc 0,2 cc
A3	Tiga hari pasca intervensi ekstrak curcuma	- Untuk pemeriksaan ekspresi gen Foxp3 - kadar antibodi IgG- IgM toksoplasma dan kadar TNF- alpa	0.1 cc 0,2 cc
A4	Tujuh hari setelah intervensi ekstrak curcuma	- Untuk pemeriksaan ekspresi gen Foxp3 - kadar antibodi IgG- IgM toksoplasma dan kadar TNF- alpa	0.1 cc 0,2 cc

7. Pengamatan/ observasi mencit selama 7 hari intervensi.

- a. Mencit setiap harinya ditimbang berat badan dan dicatat.
- b. Kondisi mencit diamati tiga kali sehari (jam 8, jam 12, jam 17), untuk melihat adanya pendarahan dari vagina, atau persalinan. Hasil pengamatan di catat di lembar pengamatan.
- c. Setelah tujuh hari pasca intervensi, mencit di *sacrifice* dengan cara menarik kepala secara mendadak sehingga saraf servical terputus lalu mencit mati, kemudian dilakukan laparatomi (pembukaan dinding perut) sesuai prosedur keamanan dan kelayakan. Rahim yang berisi janin diamati dan dicatat, lalu rahim beserta janinnya secara intoto diangkat dari rongga perut, lalu disimpan di wadah khusus yang berisi formalin 15% untuk pemeriksaan histopatologi.

8. Pemeriksaan kadar antibodi IgG-IgM anti toksoplasma.

Sampel darah diperiksa secara kolektif di Laboratorium Biomolekuler dan Immunologi Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makasar. Pengukuran kadar antibodi IgM Toxoplasma menggunakan qualitative mouse antibody IgM (TP-IgM) ELISA KIT. Cat No: MBS9310461. Pengukuran kadar antibodi IgG Toxoplasma menggunakan qualitative mouse antibody IgG (TP-IgG) ELISA KIT. Cat No: MBS109093. Teknik pemeriksaan antibodi dilakukan sesuai prosedur yang sudah ditentukan di katalog ELISA KIT sebagai berikut: Serum yang disimpan di freezer dibiarkan mencair pada suhu kamar (sekitar 15 menit), kemudian 2 µl serum/sampel + 988 µl buffer serum dalam tabung pengenceran. Diambil 50 µl sampel yang

sudah diencerkan dan dimasukkan ke microplate yang sudah mengandung antigen kemudian dibiarkan satu jam supaya antibodi yang diharapkan mengendap. Selanjutnya, cairan di microplate dibuang dan dibilas dengan cairan pembilas, supaya antibodi bebas yang tidak diperlukan terbuang. Sumur microplate + 50 μ l enzim peroksidase dan dibiarkan selama satu jam, supaya kaki-kaki antibodi terbentuk, sehingga terbentuk ikatan Ag-Ab/conjugated streptavidine. Ditambahkan pewarna IMB 50 μ l (dibiarkan 15 mnt), jika terdapat antibodi akan tampak warna biru (semakin biru semakin tinggi kadar antibodinya). Ditambahkan 50 μ l reagen stop reaction; Warna biru berubah menjadi kuning. Micro plate dimasukkan ke ELISA reader (R/. Bio Merck), sehingga didapat kadar antibodi berupa data kuantitatif dengan satuan *optic density* (OD).

9. Pemeriksaan kadar TNF- α

Sampel darah 0,2 ml yang diambil dari vena ekor mencit dimasukkan ke dalam tabung vac 5 ml yang telah diberi EDTA K3. Tabung di centrifuge 1000 rpm selama 10 menit sehingga sel-sel darah mengendap, bagian yang bening (serum) diambil dan dimasukkan dalam tabung ependorf 0,5 ml. Serum diencerkan dengan pengenceran standart dengan perbandingan 1: 500 (1 μ L serum + 99 μ L pengencer standart). Untuk penentuan kadar TNF- α , disiapkan microplate Elisa (96 well), selanjutnya tahap coating buffer yaitu memasukkan anti TNF- α kedalam microplate kemudian diisi masing-masing 100 μ L persumur dari coating antibodi yang telah dibuat dengan konsentrasi 5 μ L dalam 2,5 ml,

kemudian diinkubasi pada suhu ruang dalam keadaan tertutup selama 18-24 jam, kemudian dicuci dengan 300 μ L wash buffer untuk menghilangkan antibodi yang tidak melekat kemudian dimasukkan NGS (campuran serum) 100 μ L pada tiap well sampel. Ditambahkan 50 μ L biotin conjugate dan diinkubasi 1 jam pada suhu ruang. Well microplate dicuci tiga kali dengan water buffer 300 μ L agar detector antibodi yang tidak mengikat hasil perlekatan sampel dan antibodi akan hilang/ keluar, selanjutnya tambahkan substrat TBM kemudian diinkubasi pada tempat yang gelap selama 15 menit. Substrat TBM ini akan membuat reaksi berwarna biru, kemudian dihentikan reaksinya dengan memberikan stop solution (H₂O sulfat) sehingga hasil ini akan menghasilkan warna kuning cerah. Selanjutnya akan dibaca dengan ELISA reader (spectrophotometer) yang diatur pada panjang gelombang 450 nm.

10. Pemeriksaan ekspresi mRNA Foxp3

Pemeriksaan ekspresi mRNA Foxp3 darah perifer, dikerjakan dengan beberapa tahapan, antara lain:

- a. Tahap persiapan/ preparasi DNA.
 1. Persiapan reagen ekstrak DNA dengan metode Boom (Hatta and Smits, 2007). Reagen yang digunakan adalah suspensi diatom, larutan L6 (buffer lysis), larutan L2 (washing buffer), dan TE buffer elusi. Suspensi diatom dibuat dengan cara menambahkan 50 ml H₂O dan 500 μ l dari 32% (W/V) HCL (atau 445 μ l dari 36% HCL) ke dalam 10 gram high purity analytical grade cnellite (diatom) Jansen Chimica (Beerse, Belgium 10.864.79). Suspensi diatom dibagi dalam beberapa

tabung steril kapasitas 2 ml, dimana setiap bagian terdiri dari 0.5 ml. Tabung hasil aliquotes ditutup rapat dan disimpan dalam box di ruangan steril (mix room), 20ul dari suspensi ini akan bergabung dengan 10 mikro gram darah mencit.

2. Tahap ekstraksi RNA Foxp3 dengan metode Boom.

Sampel darah perifer sebanyak 100ul dimasukkan dalam L6 yang berisi 900ul. Vortex sampai homogen lalu tambahkan suspensi diatom (silica) 20ul, kemudian shaker selama 10 menit. Sentrifuge dengan kecepatan 13000rpm selama 15 detik, sehingga terbentuk endapan dan supernatan.

Sedimen dicuci 2 kali dengan L2, setelah supernatant di buang, endapan ditambahkan larutan L2 500ul, vortex sampai homogen kemudian sentrifuge 13000rpm selama 15 detik, lalu buang supernatan.

Sedimen dicuci 2 kali dengan ethanol 70%, setelah supernatant di buang, endapan ditambahkan larutan ethanol 70% 500ul, vortex sampai homogen kemudian sentrifuge 13000rpm selama 15 detik, lalu buang supernatan.

Sedimen dicuci 1 kali dengan acetone, setelah supernatant di buang, endapan ditambahkan larutan acetone 500ul, vortex sampai homogen kemudian sentrifuge 13000rpm selama 15 detik, lalu buang supernatan

Sedimen dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C selama 10 menit. Setelah sedimen kering tambahkan 100ul trisEDTA. Vortex sampai homogen lalu inkubasi dalam oven pada suhu 60°C selama 10 menit, kemudian disentrifuge dengan kecepatan 13000rpm selama 30 detik, lalu supernatant dipindahkan ketabung eppendorf 0.3ml. DNA/RNA disimpan pada suhu -20°C sampai dianalisa selanjutnya (deteksi gen Foxp3 dengan Real Time PCR).

b. Tahap pencampuran reagen PCR (PCR Mix)

PCR Mix terdiri dari RT- PCR master mix (12,5µL 2x RT-PCR buffer + 0,5µL forward and reverse PCR primers + 0,5µL reverse PCR primer + 1,0 µL 25x RT-PCR enzyme mix + 8µL distilled water) + 2,5 µL RNA sample (Nuclease-free water for controls)

c. Tahap pemeriksaan ekstrak dengan mesin RT- PCR .

Kuantitatif real-time PCR system (Applied Biosystems) menggunakan power SYBR[®] Green PCR Mix (Applied Biosystems). Primer Foxp3 yang digunakan adalah FW-TTTACTCGCATGTTGCCTACTT dan RV-TCAAATTCATCTACGGTCCACACT (NM_001199347.1), dan standar normalitas GAPDH FW-CATGGCCTTCCGTGTTCCCT dan RV-GCGGACGTCAGATCCA (M32599.1).

PCR Mix sebanyak 25 µL dimasukkan ke mesin RT- PCR menggunakan Power SYBR[®] Green PCR Mix (applied Biosystems). RT-PCR dilakukan *triplicate* menggunakan siklus suhu 30 detik dan ekstensi suhu 95⁰C dan siklus 40 denaturasi suhu 95⁰C selama 10 detik, kemudian

proses annealing suhu 60°C selama 15 detik, dan ekstensi pada suhu 72°C selama 40 detik . Semua pemeriksaan PCR diulang sebanyak 3 kali

d. Tahap dan cara kerja quantitative Real time PCR untuk menentukan profil ekspresi mRNA gen target.

Proses gen spesifik oligonukleotida primer untuk Foxp3 sebagai house keeping gene (internal control). Mendeteksi Foxp3 dengan menggunakan primer spesifik forward dan Reverse Protokol PCR: dilakukan penggandaan DNA dengan siklus 94°C selama 3 menit, Siklus diulang 38 kali dengan 54°C (30 detik). Mendeteksi gen Foxp3 dengan menggunakan primer.

Protokol PCR: 94°C(10 menit); 32 siklus 54°C (30 detik). QRT-PCR menggunakan Green QRT-PCR master mix kit, satu tahap. Protokol ini dioptimalkan untuk instrumen Mx4000. Protokol disesuaikan menggunakan instrumen dengan mengubah pengenceran pewarna berdasarkan petunjuk manual dan mengikuti instrumen pabrik yang direkomendasikan untuk program siklus RT-PCR.

Referensi pewarna pasif dimasukkan dalam reaksi, diencerkan 1 :500. Larutan yang mengandung pewarna dijauhkan dari cahaya. Mengencerkan 2 x SYBR Green QRT-PCR master mix dan disimpan di atas es. Mengikuti pencairan awal master mix, bagian yang tidak digunakan disimpan pada 40C dengan catatan, menghindari siklus beku-cair yang berulang.

Menyiapkan campuran reagen untuk reaksi menggunakan beberapa komponen seperti di bawah ini : Campuran reagen dengan mengambil volume akhir 25 µl (termasuk RNA percobaan) 12,5 µl dari 2 x SYBR Green QRT-PCR

master mix ditambah $x \mu\text{l}$ dari primer awal (konsentrasi dioptimalkan) ditambah lagi Nuklease – bebas PCR – tingkat H2 $x \mu\text{l}$ primer akhir (konsentrasi dioptimalkan) dan juga $0,375 \mu\text{l}$ larutan pewarna referens dari tahap 1 (opsional) serta $1,0 \mu\text{l}$ dari RT/Rnase campuran enzim blok dengan $50 \mu\text{l}$ total volume reaksi juga dapat digunakan. Reaksi dicampur secara perlahan agar tidak terbentuk gelembung (tidak dirotasi), kemudian distribusikan campuran ke tabung reaksi percobaan dengan menambahkan $x \mu\text{l}$ RNA percobaan pada setiap tabung reaksi. Reaksi dicampur secara perlahan agar tidak terbentuk gelembung (tidak dirotasi). Reaksi disentrifuse dengan singkat dan reaksi ditempatkan dalam instrumen dan program PCR siap dijalankan dengan menggunakan mesin Realtime PCR (CFX Connect system, Biorad Laboratories, Real Time PCR 96 well 0.1 ml, USA).

Data ditampilkan dan dianalisis di komputer dengan sistim deteksi instrument Mx4000 menggunakan metode perbandingan ambang batas siklus (*using the comparative treshold cycle method*) dengan kurva standar percentil 90-100%.

11 Pemeriksaan jaringan plasenta.

Jaringan plasenta dilakukan pemeriksaan histopatologi untuk melihat gambaran kerusakan sel akibat infeksi *Toxoplasma gondii* berupa. Derajat kerusakan sel dinilai berupa terdapatnya kongestif kapiler, edema ekstra selular, haemoragik dan nekrosis sel. Pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Satwa Primata (PSSP) Fakultas kedokteran Hewan Universitas

Pertanian Bogor - Jawa Barat. Proses pemeriksaan terdiri dari beberapa tahapan, antara lain; Tahap dehidrasi dengan menggunakan alkohol (alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 95%, alkohol absolut 1, 2, dan 3) secara serial dengan waktu tertentu. Tahapan penjernihan/ *clearing* dengan menggunakan xylol (Xylol 1, 2, dan 3) secara serial dengan waktu tertentu. Tahapan penanaman jaringan dalam parafin (*embedding*) menggunakan mesin parafin. Tahapan pemotongan blok parafin dengan mikrotom. Tahap pembacaan hasil dengan menggunakan mikroskop.

F. Analisis Data

Data penelitian yang sudah diperoleh, diolah dan dianalisis dengan metode statistik. Beberapa data yang diolah dan dianalisis adalah sebagai berikut;

- a. Efektifitas takizoid toxoplasma menginduksi antibodi IgG-IgM anti toxoplasma pada mencit Balb/c hamil muda.
- b. Uji statistik untuk menilai apakah kadar antibodi igG-IgM anti toksoplasma meningkat bermakna 3 hari pasca injeksi 10 takizoid *T. gondii* pada mencit hamil muda dibanding kelompok yang tidak diintervensi.
- c. Uji statistik untuk menilai apakah kadar TNF- α , meningkat bermakna 3 hari pasca injeksi 10 takizoid *T. gondii* pada mencit hamil muda dibanding kelompok yang tidak diintervensi

- d. Uji statistik untuk menilai apakah ekspresi gen Foxp3 turun bermakna 3 hari pasca injeksi 10 takizoid *T. gondii* pada mencit hamil muda dibanding kelompok yang tidak diintervensi
- e. Uji statistik untuk menilai apakah kadar antibodi IgG-IgM anti toksoplasma berbeda bermakna 3 hari dan 7 hari pasca intervensi ekstrak *Curcuma longa* dosis 125 mg dan dosis 500 mg dibanding kelompok kontrol (kontrol positif dan kontrol negatif) pada mencit hamil muda yang terinfeksi *T. gondii* (toksoplasmosis akut)
- f. Uji statistik untuk menilai apakah kadar TNF- α turun bermakna 3 hari dan 7 hari pasca intervensi ekstrak *Curcuma longa* dosis 125 mg dan dosis 500 mg dibanding kelompok kontrol (kontrol positif dan kontrol negatif) pada mencit hamil muda yang terinfeksi *T. gondii* (toksoplasmosis akut)
- g. Uji statistik untuk menilai ekspresi gen Foxp3 apakah meningkat bermakna 3 hari dan 7 hari pasca intervensi ekstrak *Curcuma longa* dosis 125 mg dan dosis 500 mg dibanding kelompok kontrol (kontrol positif dan kontrol negatif) pada mencit hamil muda yang terinfeksi *T. gondii* (toksoplasmosis akut)
- h. Uji statistik untuk menilai apakah ada hubungan bermakna antara dosis ekstrak *C. longa* (dosis 125 mg, dan dosis 500 mg) dengan penurunan kadar TNF- α , dan gambaran kerusakan jaringan plasenta/ gambaran abortus.

- i. Uji statistik untuk menilai apakah ada perbedaan bermakna antara kelompok intervensi dengan ekstrak *C. longa* (dosis 125 mg, dan dosis 500 mg) dengan kelompok kontrol (kontrol positif, kontrol negatif) terhadap kejadian kerusakan jaringan plasenta/ gambaran abortus.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Penelitian eksperimental dengan metode pra dan post test kontrol grup, dilakukan pada 20 ekor mencit betina strain Balb/c yang memenuhi kriteria inklusi. Mencit dikondisikan hamil muda, kemudian dikelompokkan secara acak menjadi 5 kelompok (K1, K2, K3, K4, K5) masing-masing 4 ekor setiap kelompok. Setiap mencit pada K1 - K4 disuntik 10 takizoid *T. gondii* galur RH, dan K5 tidak diinjeksi takizoid.

K1 diintervensi dengan ekstrak *Curcuma longa* dosis 125 mg/ KgBB/ hari, K2 diintervensi dengan ekstrak *Curcuma longa* dosis 500 mg/ KgBB/ hari. K3 diintervensi dengan spiramisin dosis 60 mg/KgBB/ / hari (kontrol positif), K4 diintervensi dengan 0,2 ml cairan Twin 80 (kontrol negatif) masing-masing selama 7 hari, dan K5 tidak diintervensi

Sampel darah diambil dan diperiksa secara serial (1 hari sebelum injeksi dan 3 hari pasca injeksi takizoid, 3 hari dan 7 hari pasca intervensi). Kadar antibodi IgG-IgM anti toksoplasma, dan kadar TNF α diperiksa dengan metode Elisa dan pemeriksaan ekspresi gen Foxp3 dengan teknik qPCR. Mencit di *sacrifice* pasca 7 hari intervensi untuk pengambilan sampel jaringan plasenta. Data yang diperoleh diolah dengan menggunakan SPSS 22 dan dianalisis secara statistik, dengan hasil sebagai berikut;

Tabel 3. Kadar antibodi IgM anti toksoplasma sebelum dan pasca injeksi takizoid, dan pasca intervensi ekstrak *Curcuma longa* dan kelompok kontrol.

Kelom Pok (K)	Kadar antibodi IgM anti toksoplasma (OD)				Cut Off point (OD)
	A1	A2	A3	A4	
K1	0,250 ± 0,001	0,847 ± 0,012	0,534 ± 0,013	0,346 ± 0,024	
K2	0,260 ± 0,017	0,828 ± 0,010	0,517 ± 0,005	0,321 ± 0,009	
K3	0,242 ± 0,011	0,795 ± 0,012	0,564 ± 0,013	0,355 ± 0,014	0,327
K4	0,251 ± 0,011	0,826 ± 0,017	1,434 ± 0,021	1,629 ± 0,015	
K5	0,249 ± 0,007	0,302 ± 0,012	0,266 ± 0,013	0,307 ± 0,018	

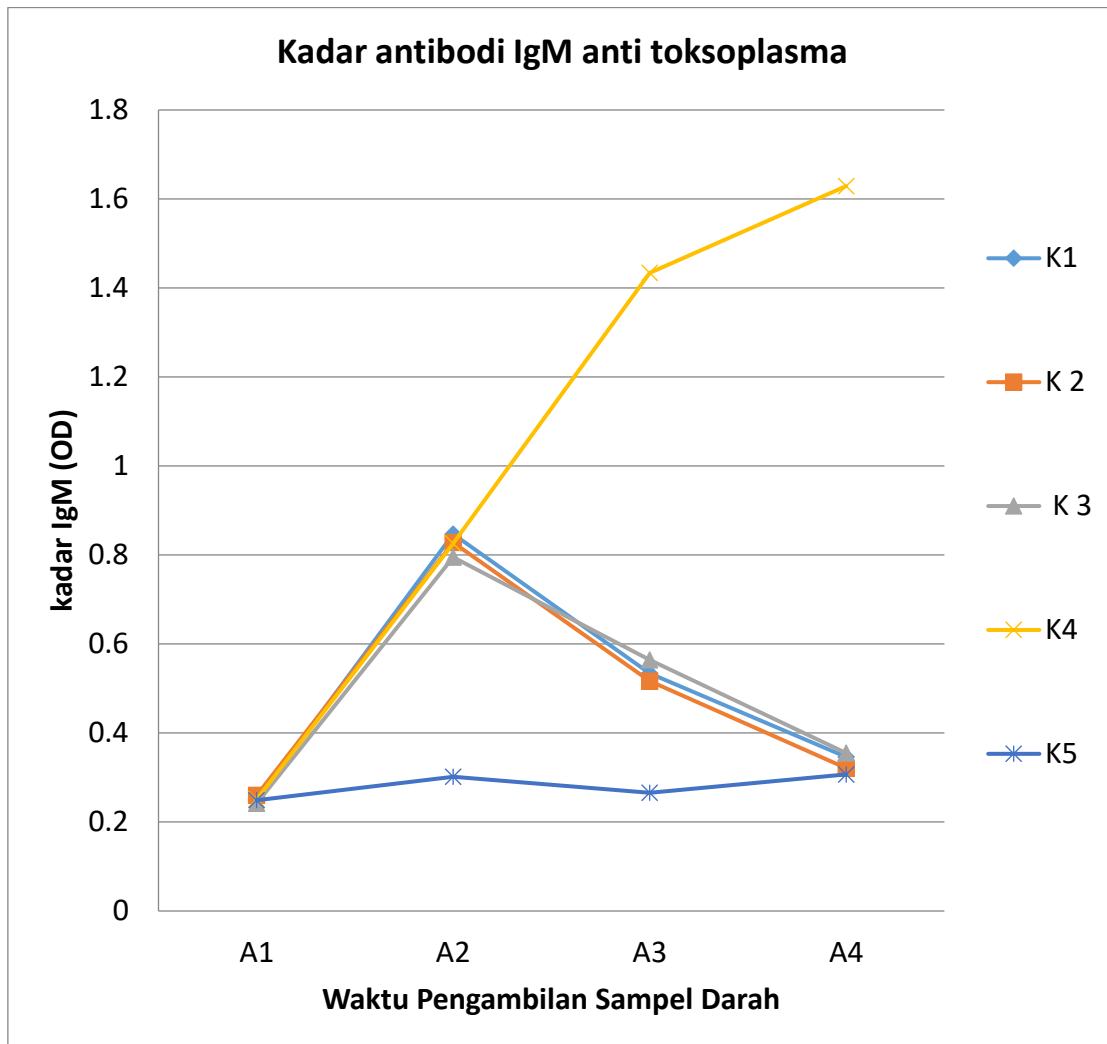
Keterangan. Mencit hamil muda (K). K1- K4 diinjeksi takizoid. K1 (intervensi *C. longa* dosis 125 mg /Kgbb/ hari). K2 (intervensi *C. longa* dosis 500 mg/ Kgbb/ hari). K3 (kontrol positif; Spiramisin 60 mg/ Kgbb/ hari). K4 (kontrol negatif; intervensi dengan larutan aquadest 0,2 ml/ hari). K5 (mencit hamil yang tidak diintervensi). A1; (Satu hari sebelum injeksi takizoid), A2; (Tiga hari pasca injeksi takizoid), A3; (Tiga hari pasca intervensi). A4; (Tujuh hari pasca intervensi). OD (*Optic dencity*).

Kadar antibodi IgM anti- toksoplasma meningkat bermakna ($p < 0,05$) pasca 3 hari injeksi takizoit (K1-K4) dengan *cut off point* 0,327 OD, dibanding kelompok yang tidak diinjeksi takizoid (K5).

Tiga hari pasca intervensi, kadar antibodi IgM anti- toksoplasma menurun bermakna ($p < 0,05$) pada K1, K2, K3 dibanding K4. Penurunan kadar antibodi IgM anti-toksoplasma diantara K1,K2,dan K3 tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$), namun kadar antibodi IgM anti- toksoplasma pada K4 meningkat bermakna ($p < 0,05$) dibanding K1-K3 dan K5. Kadar antibodi IgM anti-

toksoplasma pada K5 dengan waktu yang sama dengan K1-K4 mengalami fluktuasi yang tidak bermakna ($p > 0,05$).

Tujuh hari pasca intervensi, kadar antibodi IgM anti- toksoplasma menurun bermakna ($p < 0,05$) pada K1, K2, K3 jika dibanding pada 3 hari pasca intervensi dan dibanding ke K4. Penurunan kadar antibodi IgM anti-toksoplasma diantara K1, K2, dan K3 tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$), Pada K4 kadar antibodi IgM anti- toksoplasma semakin meningkat secara bermakna ($p < 0,05$) dibanding 3 hari sebelumnya dan dibanding pada K5. kadar antibodi IgM anti- toksoplasma pada K5 dengan waktu yang sama dengan K1-K4 mengalami fluktuasi yang tidak bermakna ($p > 0,05$). Dinamika perubahan kadar antibodi IgM anti- toksoplasma selama penelitian tampak pada Gambar.13.



Gambar.13. Grafik dinamika perubahan kadar antibodi IgM anti toksoplasma. Keterangan. Mencit hamil muda (K). K1- K4 diinjeksi takizoid. K1 (intervensi *C. longa* dosis 125 mg /Kgbb/ hari). K2 (intervensi *C. longa* dosis 500 mg/ Kgbb/ hari). K3 (kontrol positif; Spiramisin 60 mg/ Kgbb/ hari). K4 (kontrol negatif; intervensi dengan larutan aquadest 0,2 ml/ hari). K5 (mencit hamil yang tidak diintervensi). A1; (Satu hari sebelum injeksi takizoid), A2; (Tiga hari pasca injeksi takizoid), A3; (Tiga hari pasca intervensi). A4; (Tujuh hari pasca intervensi). OD (*Optic dencity*).

Tabel 4. Kadar antibodi IgG anti toksoplasma sebelum dan pasca injeksi takizoid, dan pasca intervensi ekstrak *Curcuma longa* dan kelompok Kontrol.

Kelom Pok (K)	Kadar antibodi IgG anti toksoplasma (OD)				Cut Off point (OD)
	A1	A2	A3	A4	
K1	0,162 ± 0,008	0,348 ± 0,015	0,449 ± 0,023	0,441 ± 0,013	
K 2	0,153 ± 0,006	0,362 ± 0,021	0,462 ± 0,012	0,455 ± 0,008	
K 3	0,154 ± 0,010	0,340 ± 0,008	0,439 ± 0,004	0,461 ± 0,021	0,302
K 4	0,155 ± 0,009	0,354 ± 0,010	0,753 ± 0,007	1,365 ± 0,009	
K 5	0,132 ± 0,012	0,154 ± 0,010	0,152 ± 0,015	0,139 ± 0,015	

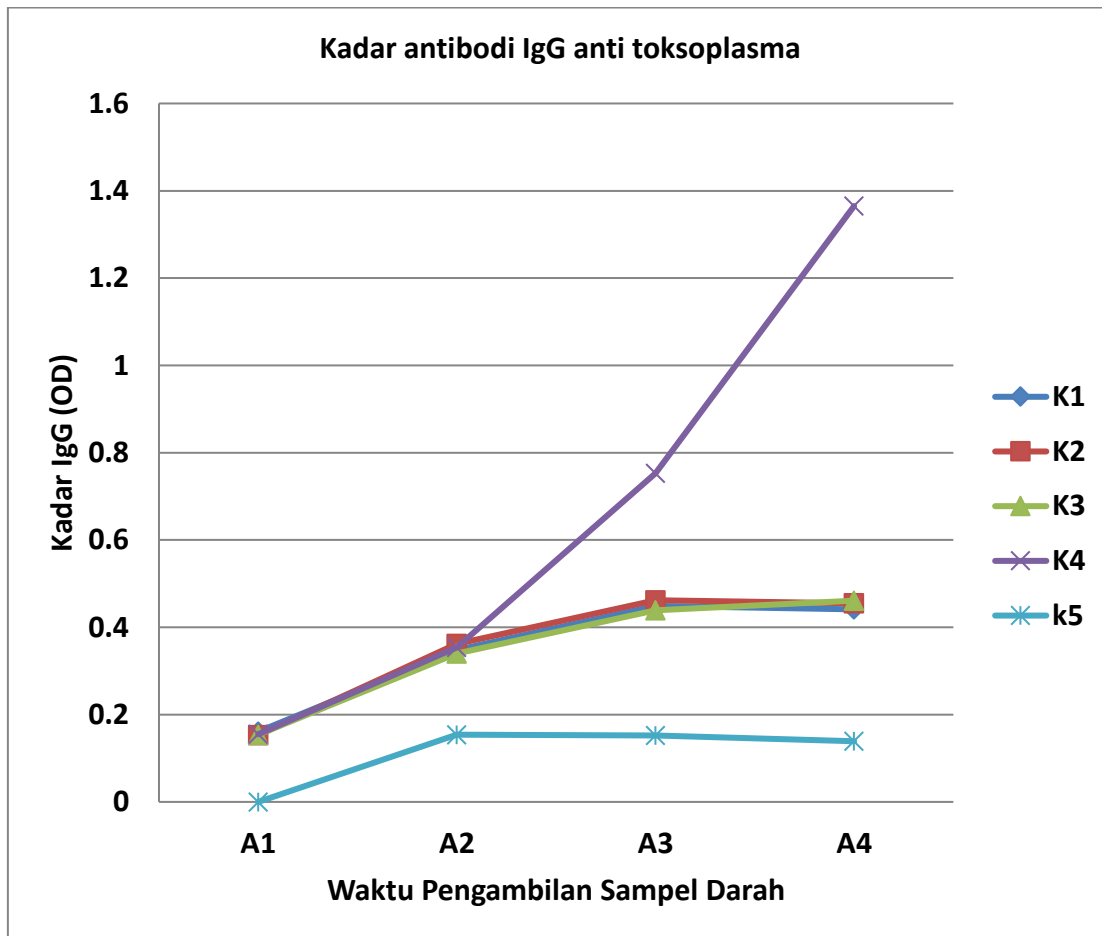
Keterangan. Mencit hamil muda (K). K1- K4 diinjeksi 10 takizoid *T. gondii* galur RH. K1 (intervensi *C. longa* dosis 125 mg /Kgbb/ hari). K2 (intervensi *C. longa* dosis 500 mg/ Kgbb/ hari). K3 (kontrol positif; Spiramisin 60 mg/ Kgbb/ hari). K4 (kontrol negatif; intervensi dengan larutan aquadest 0,2 ml/ hari). K5 (mencit hamil yang tidak diintervensi). A1; (Satu hari sebelum injeksi takizoid), A2; (Tiga hari pasca injeksi takizoid), A3; (Tiga hari pasca intervensi). A4; (Tujuh hari pasca intervensi). OD (*Optic dency*).

Kadar antibodi IgG anti- toksoplasma meningkat bermakna ($p < 0,05$) pasca 3 hari injeksi takizoit (K1-K4) dengan *cut off point* 0,302 OD, dibanding kelompok yang tidak diinjeksi takizoid (K5).

Tiga hari pasca intervensi, kadar antibodi IgG anti- toksoplasma meningkat bermakna ($p < 0,05$) pada K1, K2, K3,dan K4 dibanding K5. Peningkatan kadar antibodi IgG anti- toksoplasma diantara K1, K2, dan K3 tidak berbeda bermakna

($p > 0,05$), namun peningkatan kadar antibodi IgG anti- toksoplasma pada K4 berbeda bermakna ($p < 0,05$) dibanding K1-K3. kadar antibodi IgG anti-toksoplasma pada K5 dengan waktu yang sama dengan K1-K4 mengalami fluktuasi yang tidak bermakna ($p > 0,05$).

Kadar antibodi IgG anti- toksoplasma mengalami penurunan yang tidak bermakna ($p > 0,05$) pasca 7 hari intervensi pada K1 dan K2 jika dibanding pada 3 hari pasca intervensi, namun pada K3 cenderung meningkat namun tidak bermakna ($p > 0,05$). Fluktuasi kadar antibodi IgG anti- toksoplasma diantara ketiga kelompok penelitian (K1-K3) pasca 7 hari intervensi tidak berbeda bermakna. Pada K4 kadar antibodi IgG anti- toksoplasma semakin meningkat secara bermakna ($p < 0,05$) dibanding 3 hari sebelumnya. kadar antibodi IgG anti- toksoplasma pada K5 dengan waktu yang sama dengan K1-K4 mengalami fluktuasi yang tidak bermakna ($p > 0,05$). Dinamika perubahan kadar antibodi IgG anti- toksoplasma selama penelitian tampak pada Gambar.14.



Gambar.14. Grafik dinamika perubahan kadar antibodi IgG anti toksoplasma sebelum dan pasca injeksi takizoid, dan pasca intervensi ekstrak *Curcuma longa* dan kelompok kontrol. Keterangan. Mencit hamil muda (K). K1- K4 diinjeksi 10 takizoid *T. gondii* galur RH. K1 (intervensi *C. longa* dosis 125 mg /Kgbb/ hari). K2 (intervensi *C. longa* dosis 500 mg/ Kgbb/ hari). K3 (kontrol positif; Spiramisin 60 mg/ Kgbb/ hari). K4 (kontrol negatif; intervensi dengan larutan aquadest 0,2 ml/ hari). K5 (mencit hamil yang tidak diintervensi). A1; (Satu hari sebelum injeksi takizoid), A2; (Tiga hari pasca injeksi takizoid), A3; (Tiga hari pasca intervensi). A4; (Tujuh hari pasca intervensi). OD (*Optic density*).

Tabel 5. Ekspresi gen Foxp3 sebelum dan pasca injeksi takizoid, dan pasca intervensi ekstrak *Curcuma longa* dan kelompok kontrol.

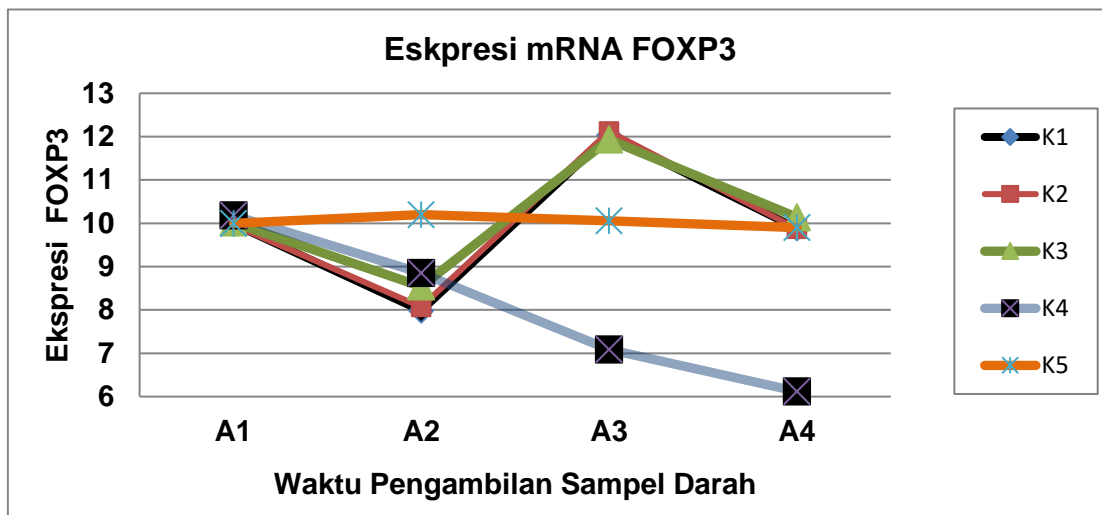
Kelompok (K)	Sam Pel (n)	Waktu Pengambilan Sampel Darah dan Ekspresi Gen Foxp3							
		A1		A2		A3		A4	
K1	4	9,98 ±	0,14	7,98 ±	0,21	12,03 ±	0,13	9,88 ±	0,23
K2	4	9,96 ±	0,14	8,07 ±	0,17	12,12 ±	0,32	9,87 ±	0,13
K3	4	10,02 ±	0,15	8,54 ±	0,09	11,93 ±	0,12	10,14 ±	0,15
K4	4	10,18 ±	0,12	8,85 ±	0,15	7,09 ±	0,15	6,12 ±	0,14
K5	4	10,00 ±	0,19	10,20 ±	0,14	10,06 ±	0,19	9,90 ±	0,16

Keterangan. Mencit hamil muda (K). K1- K4 diinjeksi 10 takizoid *T. gondii* galur RH. K1 (intervensi *C. longa* dosis 125 mg /Kgbb/ hari). K2 (intervensi *C. longa* dosis 500 mg/ Kgbb/ hari). K3 (kontrol positif; Spiramisin 60 mg/ Kgbb/ hari). K4 (kontrol negatif; intervensi dengan larutan aquadest 0,2 ml/ hari). K5 (mencit hamil yang tidak diintervensi). A1; (Satu hari sebelum injeksi takizoid), A2; (Tiga hari pasca injeksi takizoid), A3; (Tiga hari pasca intervensi). A4; (Tujuh hari pasca intervensi). OD (*Optic density*).

Ekspresi gen Foxp3 menurun bermakna ($p < 0,05$) pasca 3 hari injeksi takizoit (K1-K4) dibanding kelompok yang tidak diinjeksi takizoid (K5).

Tiga hari pasca intervensi, ekspresi gen Foxp3 meningkat bermakna ($p < 0,05$) pada K1, K2, K3, dibanding K4, dan K5. Peningkatan ekspresi gen Foxp3 diantara K1, K2, dan K3 tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$), namun pada K4 ekspresi gen Foxp3 semakin menurun secara bermakna dibanding K1-K3 dan K5. ekspresi gen Foxp3 pada K5 dengan waktu yang sama dengan K1-K4 mengalami fluktuasi yang tidak bermakna ($p > 0,05$).

Tujuh hari pasca intervensi, ekspresi gen *Foxp3* terjadi penurunan secara bermakna ($p < 0,05$) pada K1, K2, K3 jika dibanding pada 3 hari pasca intervensi. Penurunan ekspresi gen *Foxp3* diantara K1, K2, dan K3 tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$). Pada K4 ekspresi gen *Foxp3* semakin menurun secara bermakna ($p < 0,05$) dibanding 3 hari sebelum intervensi dan jika dibandingkan pada K5. Ekspresi gen *Foxp3* pada K5 dengan waktu yang sama dengan K1-K4 mengalami fluktuasi yang tidak bermakna ($p > 0,05$). Dinamika perubahan ekspresi gen *Foxp3* selama penelitian penelitian tampak pada gambar 15



Gambar.15. Grafik dinamika perubahan ekspresi mRNA *Foxp3*. Keterangan. Mencit hamil muda (K). K1- K4 diinjeksi 10 takizoid *T. gondii* galur RH. K1 (intervensi *C. longa* dosis 125 mg /Kgbb/ hari). K2 (intervensi *C. longa* dosis 500 mg/ Kgbb/ hari). K3 (kontrol positif; Spiramisin 60 mg/ Kgbb/ hari). K4 (kontrol negatif; intervensi dengan larutan aquadest 0,2 ml/ hari). K5 (mencit hamil yang tidak diintervensi). A1; (Satu hari sebelum injeksi takizoid), A2; (Tiga hari pasca injeksi takizoid), A3; (Tiga hari pasca intervensi). A4; (Tujuh hari pasca intervensi). OD (*Optic dencity*).

Tabel 6. Kadar TNF- α sebelum dan pasca injeksi takizoid dan pasca intervensi ekstrak *Curcuma longa* dan kelompok kontrol

Kelompok (K)	Kadar TNF- α (pg/ml)			
	A1	A2	A3	A4
K1	36.738 \pm 0,015	301,708 \pm 0,025	130,23 \pm 0,013	81,976 \pm 0,010
K2	31,310 \pm 0,013	285,244 \pm 0,018	144,102 \pm 0,013	88,611 \pm 0,015
K3	38,219 \pm 0,013	305,425 \pm 0,017	137,139 \pm 0,013	85,870 \pm 0,013
K4	35,81375 \pm 0,013	292,432 \pm 0,020	352,750 \pm 0,019	558,436 \pm 0,020
K5	36,5175 \pm 0,008	36,5175 \pm 0,007	34,410 \pm 0,010	36,5175 \pm 0,005

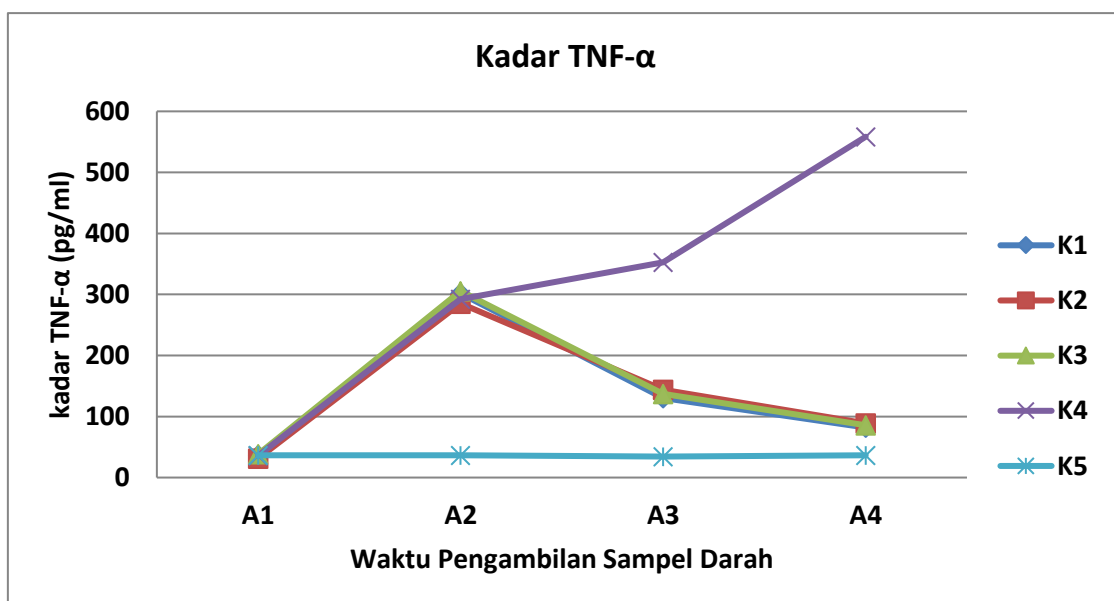
. Keterangan. Mencit hamil muda (K). K1- K4 diinjeksi 10 takizoid *T. gondii* galur RH. K1 (intervensi *C. longa* dosis 125 mg /Kgbb/ hari). K2 (intervensi *C. longa* dosis 500 mg/ Kgbb/ hari). K3 (kontrol positif; Spiramisin 60 mg/ Kgbb/ hari). K4 (kontrol negatif; intervensi dengan larutan aquadest 0,2 ml/ hari). K5 (mencit hamil yang tidak diintervensi). A1; (Satu hari sebelum injeksi takizoid), A2; (Tiga hari pasca injeksi takizoid), A3; (Tiga hari pasca intervensi). A4; (Tujuh hari pasca intervensi). OD (*Optic dency*).

Kadar TNF-alpha meningkat bermakna ($p < 0,05$) pasca 3 hari injeksi takizoit (K1-K4) dengan dibanding kelompok yang tidak diinjeksi takizoid (K5).

Tiga hari pasca intervensi,kadarTNF-alpha menurun bermakna ($p < 0,05$) pada K1, K2, K3 dibanding K4. Penurunan kadar TNF-alpha diantara K1, K2, dan K3 tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$), namun kadar TNF-alpha pada K4 meningkat bermakna ($p < 0,05$) dibanding K1-K3 dan K5. Kadar TNF-

alpha pada K5 dengan waktu yang sama dengan K1-K4 mengalami fluktuasi yang tidak bermakna ($p > 0,05$).

Tujuh hari pasca intervensi, kadar TNF- menurun bermakna ($p < 0,05$) pada K1, K2, K3 jika dibanding pada 3 hari pasca intervensi dan dibanding ke K4. Penurunan kadar TNF-alpha diantara K1, K2, dan K3 tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$), Pada K4 kadar TNF-alpha semakin meningkat secara bermakna ($p < 0,05$) dibanding 3 hari sebelumnya dan dibanding pada K5. kadar TNF-alpha pada K5 dengan waktu yang sama dengan K1-K4 mengalami fluktuasi yang tidak bermakna ($p > 0,05$). Dinamika perubahan kadar TNF-alpha selama penelitian tampak pada Gambar.16.



Gambar. 16. Grafik dinamika perubahan kadar TNF- α .Keterangan. Mencit hamil muda (K). K1- K4 diinjeksi 10 takizoid *T. gondii* galur RH. K1 (intervensi *C. longa* dosis 125 mg /Kgbb/ hari). K2 (intervensi *C. longa* dosis 500 mg/ Kgbb/ hari). K3 (kontrol positif; Spiramisin 60 mg/ Kgbb/ hari). K4 (kontrol negatif; intervensi dengan larutan aquadest 0,2 ml/ hari). K5 (mencit hamil yang tidak diintervensi). A1; (Satu hari sebelum injeksi takizoid), A2; (Tiga hari pasca injeksi takizoid), A3; (Tiga hari pasca intervensi). A4; (Tujuh hari pasca intervensi). OD (*Optic density*).

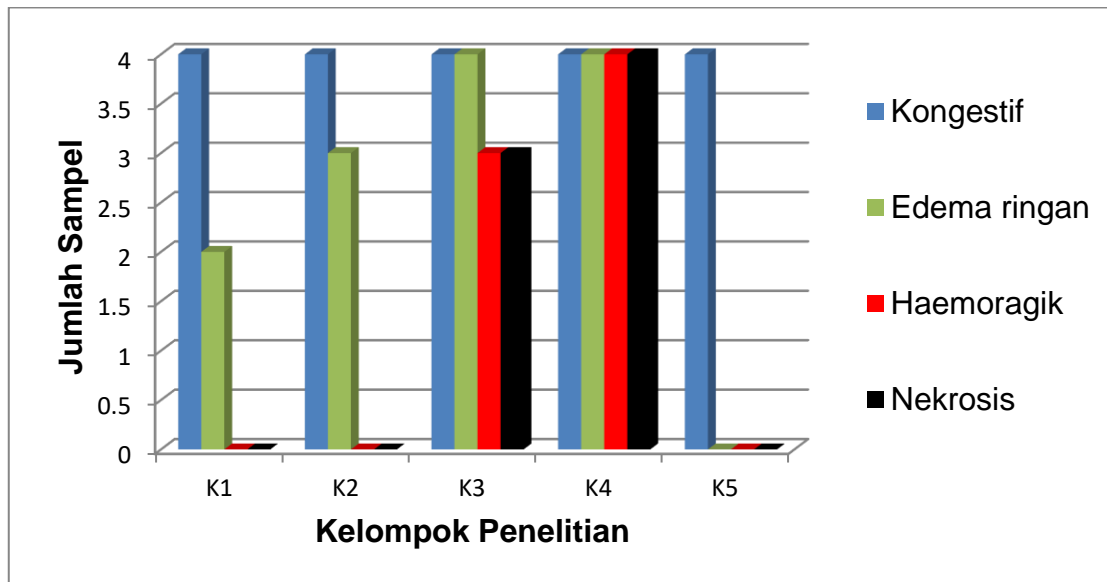
Tabel 7. Gambaran histopatologi jaringan plasenta, tujuh hari pasca intervensi ekstrak *Curcuma longa* dan kelompok Kontrol

Gambaran histo patologi	Kelompok Penelitian (K)									
	K1		K2		K3		K4		K5	
	n=4	%	n=4	%	n=4	%	n=4	%	n=4	%
Kongesti kapiler	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100
Edema ekstra selular	2	50	3	74	4	100	4	100	0	0
Haemoragik	0	0	0	0	3	75	4	100	0	0
Nekrosis sel	0	0	0	0	3	75	4	100	0	0

Keterangan. Mencit hamil muda (K). K1- K4 diinjeksi 10 takizoid *T. gondii* galur RH. K1 (intervensi *C. longa* dosis 125 mg /Kgbb/ hari). K2 (intervensi *C. longa* dosis 500 mg/ Kgbb/ hari). K3 (kontrol positif; Spiramisin 60 mg/ Kgbb/ hari). K4 (kontrol negatif; intervensi dengan larutan aquadest 0,2 ml/ hari). K5 (mencit hamil yang tidak diintervensi). A1; (Satu hari sebelum injeksi takizoid), A2; (Tiga hari pasca injeksi takizoid), A3; (Tiga hari pasca intervensi). A4; (Tujuh hari pasca intervensi). OD (*Optic dency*).

Pemeriksaan histopatologi jaringan plasenta pasca 7 hari intervensi didapatkan gambaran kongesti kapiler (100%) pada semua sampel penelitian (K1-K5). Gambaran edema ekstraselular ditemukan 50% pada K1, 75% pada K3, dan 100% pada K4. Kejadian edema ekstra selular pada K1 dan K2 jika dibanding dengan K3 dan K4 berbeda bermakna ($p < 0,05$). Gambaran hemoragik tidak ditemukan pada K1, K2 dan K5. Pada K3 ditemukan 75% dan pada K4 100%. Kejadian hemoragik pada K1 dan K2 dibanding K3 maupun K4 terjadi perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Gambaran hemoragik tidak ditemukan pada K1, K2 dan K5. Pada K3 ditemukan 75% dan pada K4 100%. Kejadian nekrosis sel pada K1 dan K2 dibanding K3 maupun K4 terjadi

perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Distribusi gambaran histopatologi pada penelitian ini tampak pada Gambar.17.



Gambar.17. Diagram distribusi gambaran histopatologi jaringan plasenta. Keterangan. Mencit hamil muda (K). K1- K4 diinjeksi 10 takizoid *T. gondii* galur RH. K1 (intervensi *C. longa* dosis 125 mg /Kgbb/ hari). K2 (intervensi *C. longa* dosis 500 mg/ Kgbb/ hari). K3 (kontrol positif; Spiramisin 60 mg/ Kgbb/ hari). K4 (kontrol negatif; intervensi dengan larutan aquadest 0,2 ml/ hari). K5 (mencit hamil yang tidak diintervensi). A1; (Satu hari sebelum injeksi takizoid), A2; (Tiga hari pasca injeksi takizoid), A3; (Tiga hari pasca intervensi). A4; (Tujuh hari pasca intervensi). OD (*Optic density*).

B. Pembahasan

Efektivitas ekstrak *Curcuma longa* mencegah terjadinya kerusakan sel jaringan plasenta/ abortus pada mencit hamil muda dengan toksoplasmosis akut : analisis kadar antibodi IgM – IgG anti toksoplasma, ekspresi mRNA Foxp3, kadar TNF α , dan histopatologi jaringan plasenta:

1. Efek ekstrak *C. longa* terhadap kadar antibodi IgG- IgM anti toksoplasma pada mencit hamil muda dengan Toksoplasmosis akut

Infeksi *T. gondii* akan memicu respons imun humoral dan selular sebagai reaksi imunitas tubuh terhadap rangsangan antigen. Sel B yang teraktivasi oleh antigen (*T. gondii*) menyebabkan sekresi antibodi IgG-IgM anti toksoplasma meningkat. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk melihat dinamika respons imun humoral tubuh terhadap infeksi *T. gondii*. Simanjuntak dkk.(2017) melaporkan bahwa kadar antibodi IgM anti toksoplasma meningkat bermakna 24 jam pasca injeksi intra peritoneum 10 takizoid *T. gondii*, dan kadar antibodi IgG anti toksoplasma meningkat bermakna 72 jam pasca injeksi intra peritoneum 10 takizoid *T. gondii*. Pada penelitian kami ini, kadar antibodi IgG - IgM anti toksoplasma meningkat bermakna ($p < 0.05$) setelah 3 hari injeksi 10 takizoid *T. gondii* galur RH.

Kurkumin merupakan komponen utama dari ekstrak *Curcuma longa* telah terbukti sangat potensial sebagai anti inflamasi (Anggarval, *et al.* 2013), anti mikroba (anti bacterial, anti virus, anti parasite, dan anti jamur), dan anti oksidan,

namun kurkumin lebih dominan sebagai anti inflamasi (Aggarwal, *et al.* 2014., Tyagi, *et al.* 2015)

Pada penelitian ini kadar antibodi IgM antibodi toksoplasma menurun setelah tiga dan tujuh hari pemberian ekstrak *C. longa* dosis 125 mg/Kgbb/hari, ekstrak *C. longa* dosis 125 mg/Kgbb/hari, dan spiramisin dosis 60 mg/Kgbb/hari, hal ini terjadi karena ekstrak *C. longa* dan spiramisin berhasil menghambat laju pertumbuhan takizoid yang berperan sebagai antigen. Najia dkk, (2009) melaporkan bahwa pemberian ekstrak *C. longa* dosis 100 mg/kgbb/hari dan dosis 200 mg/kgbb/hari selama tujuh hari, pada mencit betina yang telah diinjeksi transperitoneal 2×10^2 takizoid toksoplasma/ml, sangat efektif menghambat laju pertumbuhan takizoid sebesar 98,6% dan 99,2%, dibanding kelompok kontrol, demikian juga pada pemberian spiramisin dosis 100 mg/kgbb/hari dan dosis 200 mg/kgbb/hari penghambatan laju pertumbuhan takzoid sebesar 71% dan 94% (Najia, *et al.* 2009). Pada penelitian kami ini, didapatkan kadar antibodi IgG-IgM anti toksoplasma pada kelompok yang diintervensi dengan ekstrak *C. longa* dosis 125 mg dan dosis 500 mg selama 7 hari lebih rendah dibanding kelompok yang mendapat spiramisin, sehingga dapat disimpulkan bahwa kadar antibodi IgG-IgM anti toksoplasma yang menurun setelah pemberian ekstrak *C. longa* dan spiramisin akibat efek dari penghambatan terhadap laju pertumbuhan takizoid. Efek penghambatan ekstrak *C. longa* terhadap penghambatan laju pertumbuhan takizoid lebih kuat dibanding spiramisin, namun tidak berbeda bermakna. ($p > 0,05$).

2. Efek ekstrak *Curcuma longa* terhadap ekspresi gen Foxp3 pada mencit hamil muda dengan Toksoplasmosis akut

Ekspresi gen Foxp3 meningkat bermakna ($p < 0,05$) setelah 3 hari pemberian ekstrak *C. longa* dosis 125 mg/ KgBB/ hari pada K1, ekstrak *C. longa* dosis 500 mg/ KgBB/ hari pada K2, dan spiramisin dosis 60 mg/KgBB/ hari pada K3 (Tabel.5), namun tidak ada perbedaan yang bermakna diantara ketiga kelompok penelitian ($p > 0.05$).

Ekspresi gen Foxp3 menurun bermakna ($p < 0,05$) setelah 7 hari pemberian ekstrak *C. longa* dosis 125 mg/ KgBB/ hari pada K1, ekstrak *C. longa* dosis 500 mg/ KgBB/ hari pada K2, dan spiramisin dosis 60 mg/KgBB/ hari pada K3 (Tabel.4.), namun tidak ada perbedaan yang bermakna diantara ketiga kelompok penelitian ($p > 0.05$).

Gen forkhead box P3 (gen Foxp3) adalah gen yang berperan sebagai regulator utama pada perkembangan dan fungsi dari Sel T CD4⁺ CD25⁺Foxp3⁺ (sel Treg) (Fontenot, *et al.* 2003). mRNA Foxp3, merupakan faktor transkripsi yang berperan memelihara proses generasi, fungsi dan stabilisasi Sel Treg (Shevach EM, *et al.* 2009). Oleh sebab itu penilaian dari Sel Treg biasanya dilakukan dengan menilai ekspresi Foxp3 pada nukleus sel Treg.

Beberapa penelitian mengenai fungsi dan peranan sel Treg telah dilakukan oleh peneliti terdahulu. Zeng (2007) dan Seung (2013) melaporkan sel Treg memiliki peran penting dalam mencegah respon autoimunitas, dan patologi yang ditimbulkan oleh respon imun yang tidak terkendali akibat infeksi. Sel Treg

terlibat pada pemeliharaan toleransi dan mengontrol respons imun di perifer, dengan cara menginisiasi efek supresif/ efek penekanan sel Treg pada sel imun teraktivasi (Valencia X, *et al.* 2007., Tang Q, *et al.* 2008), efek penekanan sel Tregs pada sel T helper (Th1, Th2, Th17) terutama Th1 (Fujino S, *et al.* 2003., Fontenot JD, *et al.* 2005).

Ketika terjadi infeksi akut dan berat, ekspresi sel Tregs dan gen Foxp3 menurun dan melemah akibat paparan proinflamasi seperti TNF α , IL6, IL1 yang berlebih (Josefowicz, *et al.* 2012). Tenerio dkk (2011) melaporkan bahwa jumlah sel proliferasi CD4⁺, CD8⁺, dan jumlah Foxp3 menurun pasca tujuh hari infeksi *T. gondii* galur ME 49/ tipe 2 pada tikus Swiss-Webster.

Pada penelitian kami, ekspresi gen Foxp3 menurun bermakna setelah injeksi 10 takizoid *T. gondii* galur RH/ tipe 1/ tipe patogen. Menurunnya ekspresi gen Foxp3 pasca infeksi *T. gondii* pada penelitian ini sesuai dengan teori yang disampaikan Josefowicz dkk. (2012) bahwa ekspresi gen Foxp3 akan menurun saat terjadi infeksi berat dan akibat paparan TNF α yang berlebih. Pada penelitian ini juga terjadi peningkatan kadar TNF α yang signifikan pasca injeksi takizoid *T. gondii*. Berdasarkan uraian diatas, peneliti menduga menurunnya ekspresi gen Foxp3 ketika kadar TNF α meningkat merupakan mekanisme umpan balik negatif (*negative feedback mechanism*) tubuh terhadap proses inflamasi berat. Akibat mekanisme umpan balik negatif tersebut, efek penekanan gen Foxp3 dan Sel T CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ terhadap sel T helper akan berkurang, sehingga sekresi sitokin proinflamasi akan

meningkat, namun sitokin proinflamasi ($\text{TNF}\alpha$, $\text{IFN}\gamma$) yang berlebih menyebabkan efek merugikan seperti kerusakan dan kematian sel

GE YY dkk.(2008) melaporkan bahwa jumlah Sel T $\text{CD4}^+ \text{CD25}^+ \text{Foxp3}^+$ di limpa dan gen *Foxp3* di plasenta berkurang pada mencit hamil yang terinfeksi *T. gondii*. Pengurangan sel T $\text{CD4}^+ \text{CD25}^+ \text{Foxp3}^+$ (Sel Treg) di limpa berhubungan dengan apoptosis yang disebabkan oleh infeksi. Mencit hamil muda yang disuntik dengan excretory- secretory antigen (ESA) dari *T. gondii* juga menyebabkan abortus. Kejadian abortus pada penelitian mereka, dapat dicegah dengan memberikan Sel T $\text{CD4}^+ \text{CD25}^+ \text{Foxp3}^+$ (Sel Treg) yang diperoleh dari mencit hamil normal. Kejadian abortus pada penelitian mereka ini diduga karena infeksi vertikal dari infeksi dan penurunan Sel T $\text{CD4}^+ \text{CD25}^+ \text{Foxp3}^+$, namun bagaimana mekanisme pagogenesisnya belum diketahui dengan pasti (GE YY, *et al.* 2008).

Chen dkk.(2013) melaporkan bahwa dampak infeksi *T. gondii* terhadap Sel T $\text{CD4}^+ \text{CD25}^+ \text{Foxp3}^+$ berhubungan dengan usia kehamilan saat terinfeksi. Jumlah sel T $\text{CD4}^+ \text{CD25}^+ \text{Foxp3}^+$ akan berkurang jika infeksi terjadi ketika kehamilan dini (hamil 5 hari) dan kehamilan pertengahan (hamil 10 hari). Jika infeksi *T. gondii* terjadi pada kehamilan lanjut, maka jumlah sel T $\text{CD4}^+ \text{CD25}^+ \text{Foxp3}^+$ akan meningkat. Berkurangnya jumlah dari Sel T $\text{CD4}^+ \text{CD25}^+ \text{Foxp3}^+$ berhubungan dengan kejadian abortus. Gambaran abortus berupa hemoragik dan nekrosis hampir 100% ditemukan pada plasenta kelompok yang terinfeksi *T. gondii* pada kehamilan 5 hari, dan 56,20% pada kelompok tikus yang terinfeksi pada usia kehamilan 10 hari, sedangkan kelompok mencit yang

terinfeksi pada usia kehamilan 15 hari tidak ditemukan gambaran hemoragik dan nekrosis di sel plasenta. Pada penelitian mereka ini juga dilaporkan bahwa apoptosis terjadi pada kehamilan 5 dan 10 hari yang terinfeksi *T. gondii*, namun pada kehamilan 15 hari apoptosis tidak terjadi (Chen JL, et al. 2013). Meningkatnya apoptosis akibat infeksi *T. gondii* juga menyebabkan penurunan fungsi dan jumlah sel Treg (Tang Q, et al. 2008., Oldenhove, et al. 2009., Hall AO, et al. 2012). Menurunnya fungsi dan jumlah Sel T CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ dihubungkan dengan apoptosis akibat infeksi *T. gondii* yang menekan / *down-regulation* terhadap ekspresi Bcl-2 dan Bcl-2/ Bax rasio (Chen JL, et al. 2013).

Tenorio EP, dkk (2010) melaporkan bahwa mencit yang dikondisikan ekspresi Foxp3⁺ berkurang sebelum diberikan 20 kista *T. gondii* strain ME49/ tipe 2, menyebabkan angka kematian mencit pasca infeksi meningkat dibanding kelompok kontrol.

Beberapa penelitian melaporkan tentang efek *Curcuma longa* terhadap peningkatan ekspresi gen Foxp3 dan Sel T CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ (sel Treg). Cong dkk (2009) melaporkan ekspresi gen Foxp3 meningkat setelah diinduksi dengan *kurkumin*. Peningkatan ekspresi gen Foxp3 terjadi secara berkala (6 jam, 24 jam, 48 jam, 7 hari) pasca induksi dengan *kurkumin*. Pada penelitian tersebut, kadar tertinggi terjadi setelah 7 hari pasca induksi. Kurkumin akan menstimulai sel dendrit untuk meningkatkan produksi TGF- β sehingga sel Treg terinduksi. Zhao HM dkk. (2016) melaporkan bahwa pemberian *kurkumin* 200 mg/KgBB/ hari selama 7 hari meningkatkan sekresi sel Treg. Pada Penelitian

tersebut, *kurkumin* potensial sebagai pengaturan aktivasi dari sel dendrit untuk mempertinggi efek supresi dari sel Treg.

Transforming growth factor- β (TGF- β) berperan penting pada pengaturan respons imun sel T dan toleransi imunitas. TGF- β telah dilaporkan sebagai modulator ekspresi gen Foxp3 pada sel T. TGF- β menginduksi faktor transkripsi Foxp3 sehingga terjadi perubahan sel T naif CD4+CD25- perifer menjadi sel T regulator CD4+CD25+ (Chen W, *et al.* 2003).

Peningkatan ekspresi gen Foxp3 terjadi karena ekstrak *C. longa* menstimulasi ekspresi TF- β 1 yang diikuti pembentukan sel T regulator (Kim, *et al.* 2013) dan penurunan NF- κ B (Anggarwal BB, *et al.* 2013). Pada penelitian kami ini, ekspresi gen Foxp3 meningkat bermakna ($p < 0,05$) pasca intervensi ekstrak *C. longa* dosis 125 mg/Kgbb/ hari dan dosis 500 mg/kgbb/ hari, namun peningkatan ekspresi gen Foxp3 pada kedua kelompok tersebut tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$), namun setelah 7 hari intervensi dengan ekstrak *C. longa* dosis 125 mg/Kgbb/ hari dan dosis 500 mg/kgbb/ hari, ekspresi gen Foxp3 meningkat kembali secara bermakna ($p < 0,05$). Penurunan ekspresi gen Foxp3 mencapai ekspresi normal Foxp3 sebelum diinjeksi takizoid, penurunan kadar ekspresi gen Foxp3 mungkin berhubungan dengan mekanisme fisiologis gen Foxp3 yang berfungsi sebagai regulator keseimbangan imunitas.

Beberapa penelitian juga melaporkan tentang toksisitas *Curcuma longa* dan efek terhadap apoptosis sel. Kim G, *dkk.* (2013) melakukan analisis ekspresi sel T CD4⁺ manusia yang diintervensi dengan kurkumin berbagai dosis. Pada

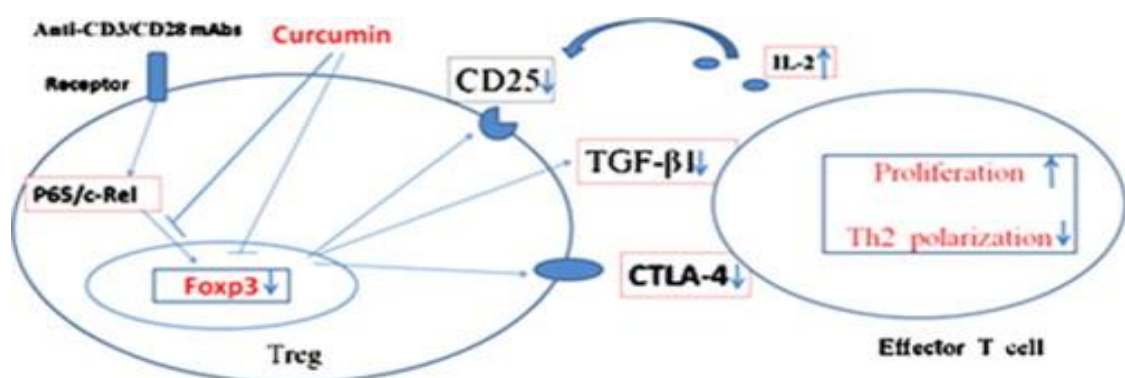
intervensi dengan kurkumin dosis 20 µg/ mL selama 24 jam, kurkumin bersifat toksik, yang ditandai dengan sel T CD4⁺ yang mati secara bermakna, namun viabilitas sel sel T CD4⁺ tidak terganggu pada kelompok kurkumin dosis 2 µg/ mL, dan tidak menginduksi sel apoptosis di Sel T CD4 + CD2 / CD3 / CD28 pada kurkumin dosis 2 µg/ mL.

Chen CC, dkk. (2012) melakukan penelitian *in vitro* dan *in vivo* untuk mengetahui efek pemberian kurkumin pada proses maturasi oosit, fertilisasi, dan perkembangan embrio. Pemberian kurkumin dosis 20µM menyebabkan penurunan maturasi oosit, fertilisasi, dan perkembangan embrio *in vitro*. Pemberian kurkumin pada *in vitro* maturation (IVM) menyebabkan resorpsi embrio pasca implantasi meningkat dan penurunan berat fetus. Pemberian kurkumin dosis 40 µM pada tikus juga menyebabkan penurunan maturasi oosit, fertilisasi, dan perkembangan embrio. Efek merusak dari kurkumin ini diduga terutama melalui jalur proses apoptosis, hal ini dibuktikan dengan meningkatnya mRNA p53 dan p21 pada kelompok kurkumin yang diberikan dosis 20µM *in vitro* dan dosis 40µM pada tikus. Pemberian inhibitor caspase 3 pada penelitian ini efektif mencegah efek merusak dari pemberian kurkumin dosis 20µM *in vitro* dan dosis 40µM pada tikus

Pemberian kurkumin 2 µg/ mL selama 3 hari pada kultur meningkatkan produksi TGF-β1 aktif. Pasca 6 hari pemberian kurkumin 2µg/ mL, persentase ekspresi sel T regulatory CD25^{hi} Foxp3 meningkat. Peningkatan ekspresi sel T regulatory CD25^{hi}Foxp3 diduga efek tidak langsung dari kurkumin yang menginduksi sel T regulasi pada fase lambat mengikuti aktivasi CD2 / CD3 /

CD28. Pada manusia, Kurkumin tidak hanya menghambat, namun mengatur aktivasi sel T CD4 + CD2 / CD3/ CD28 yang dimulai dengan meningkatkan ekspresi CD69, CCR7, L-selectin dan TGF- β 1 yang diikuti oleh pembentukan sel T regulator (Kim, *et al.* 2013)

Zhao GJ, dkk. (2012) melaporkan bahwa *kurkumin* memiliki efek penghambatan terhadap aktivitas penekan sel T CD4⁺CD25⁺. Penghambatan kurkumin terhadap aktivitas penekan sel T CD4⁺CD25⁺ tampaknya bergantung pada tiga kategori, yaitu: menghambat kontak sel-sel dengan pengaturan regulasi CTLA-4, menekan sekresi sitokin penghambat, dan mengurangi kemampuan untuk mengkonsumsi IL-2 dan atau menekan produksi IL-2. (Gambar.18). Selain itu, ekspresi Foxp juga berkurang, dan juga ditemukan translokasi nuklir p65 dan c-Rel yang sangat menurun (Pertukaran nuklir p65 dan c-Rel sangat penting untuk ekspresi Foxp3 dan CD25). Zhao, *et al.* 2012.



Gambar.18. Ilustrasi efek penekanan kurkumin terhadap Tregs dan Foxp3 (Zhao, *et al.* 2012).

3. Efek ekstrak *C. longa* terhadap kadar TNF α pada mencit hamil muda dengan Toksoplasmosis akut

Pada penelitian ini kadar TNF- α menurun bermakna ($p < 0,05$) setelah tiga dan tujuh hari pemberian ekstrak *C. longa* dosis 125 mg/ KgBB/ hari pada K1, ekstrak *C. longa* dosis 125 mg/ KgBB/ hari pada K2, dan spiramisin dosis 60 mg/KgBB/ hari pada K3 (grafik.6.), namun tidak ada perbedaan yang bermakna diantara ketiga kelompok penelitian ($p > 0.05$).

Kurkumin adalah komponen utama dari *C. longa*. Kurkumin sudah terbukti sebagai anti inflamasi poten dan menekan produksi TNF α . Pada penelitian ini kadar TNF α menurun bermakna ($p < 0,05$) tiga hari pasca intervensi, dan semakin menurun tujuh hari pasca intervensi ekstrak *C. longa* dosis 125 mg/ kgbb/ hari dan dosis 500 mg/kgbb, pada mencit hamil muda dengan toksoplasmosis akut. Efek anti inflamasi dari ekstrak *C. longa* dosis 500 mg/kgbb/ hari, lebih kuat dibanding ekstrak *C. longa* dosis 125 mg/kgbb/ hari, dan spiramisin dosis 60 mg/kgbb/hari, namun tidak berbeda bermakna. Pada penelitian ini kadar TNF α meningkat bermakna pada kelompok kontrol negatif ($p < 0,05$), hal ini merupakan proses yang fisiologis dari mekanisme respons imun tubuh terhadap infeksi. Pada kelompok mencit hamil muda yang tidak terinfeksi, kadar TNF α relatif stabil dan tidak ada perubahan yang bermakna selama observasi (Gambar.16)

Guo Y-Z dkk. (2017) melakukan penelitian pada mencit sedang hamil 15 hari yang dikondisikan terinfeksi dengan cara LPS 0,01 mg/dl, diinjeksi

intraperitoneal, kemudian diintervensi dengan kurkumin dosis 100 mg/kgbb dengan cara injeksi ke intraperitoneal. Mencit dikorbankan setelah setelah 6 jam, 12 jam, 24 jam pasca intervensi, kemudian plasenta diambil dan diekstrak untuk memeriksa kadar TNF α secara serial, dan didapatkan kadar TNF α lebih rendah secara bermakna $p < 0,05$) dibanding kelompok model/ kelompok tidak diintervensi dengan kurkumin (Guo YZ, *et al.* 2017). Berdasarkan data dari kedua penelitian tersebut, dapat disimpulkan bahwa ekstrak *C. longa* efektif menekan produksi TNF α pada kasus infeksi akut.

Kadar TNF α yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan sel, karena pada kadar TNF α yang tinggi menyebabkan nekrosis sel. Kadar TNF α yang terlalu tinggi oleh karena infeksi pada kehamilan dini sangat merugikan, karena merusak sel plasental, dan selanjutnya bisa terjadi abortus dan kematian mudigah.

4. Efektivitas ekstrak *C. longa* mencegah Kerusakan sel Jaringan plasenta/ kejadian abortus pada mencit hamil muda dengan Toksoplasmosis akut

Pada penelitian ini, peningkatan kadar antibodi IgG-IgM anti toksoplasma, penurunan ekspresi gen Foxp3, dan peningkatan kadar TNF α pasca injeksi takizoid *T. gondii*, merupakan respons immunitas tubuh yang fisiologis.

Penurunan kadar antibodi IgG-IgM anti toksoplasma pasca pemberian ekstrak *C. longa* mungkin akibat dari efek parasitik dari *kurkumin* yang

dikandung oleh ekstrak *C. longa*, sehingga takizoid yang berperan sebagai antigen jumlah dan aktifitasnya berkurang untuk menstimulasi imunitas humoral maupun selular. Untuk membuktikan efek parasitic dari ekstrak *Curcuma longa* dapat diketahui dengan menilai *parasite load*, pada penelitian ini penilaian *parasite load* tidak dilakukan karena tidak menjadi bagian dari tujuan penelitian. Penelitian *C. longa* sebagai anti parasite pada *T. gondii* belum kami temukan, namun banyak penelitian yang melaporkan bahwa *C. longa* mempunyai efek antimikroba. Tyagi dkk. (2016) melaporkan Kurkumin efektif sebagai bakterisidal pada bakteri gram positif (*S. aureus*, *enterococcus faecalis*) dan bakteri gram negative (*E. coli*, *P. aeruginosa*) dengan merusak membran sel dari bakteri. Moghadamtousi dkk.(2014) melaporkan dalam tulisan *review article* bahwa Kurkumin memiliki aktivitas sebagai antibakteri, antiviral, dan antifungal. Yun dkk.(2016) melaporkan Kurkumin mempunyai aktivitas antibakteri melalui jalur apoptosis-like response pada *E. coli*. Mei Li dkk. (2016) melaporkan Kurkumin efektif sebagai terapi *S. pneumonia* yang sudah resisten terhadap penisilin.

Infeksi *T. gondii* (Toksoplasmosis) menstimulasi produksi sitokin proinflamasi, seperti IFN γ dan TNF α (Innes EA, *et al.* 1995., Ge YY, *et al.* 2008). IFN γ dan TNF α yang meningkat memicu plasenta mencit memproduksi fibrinogen-like protein 2 (fgl 2), dan faktor protrombotik, selanjutnya fgl2 dan faktor protrombotik akan mendukung proses terjadinya penumpukan fibrinogen dan kejadian trombosis (Clark DA, *et al.* 2001). Castario dkk. (2014) melaporkan kejadian abortus pada domba hamil muda dan terinfeksi *T. gondii*. Pemeriksaan

histopatologi jaringan plasenta ditemukan gambaran infark dan trombosis pada villi choralis. Trombosis dan infark meningkatkan hipoksia sel dan kematian sel, sehingga akan terjadi abortus.

Grujic dkk. (2005) melaporkan bahwa spiramisin dosis 100 dan dosis 200 mg/kgbb/hari, tidak dapat mencegah/ memproteksi kematian pada mencit yang diinjeksi tranperitoneal 10^2 takizoid Toksoplasma gondii strain RH (Grujic *et al.* 2005).

Kunyit kuning (*Curcuma longa* Linn. syn. *Curcuma domestica* Val.), adalah termasuk salah satu tanaman rempah-rempah dan obat asli dari wilayah Asia Tenggara. Kunyit kuning banyak dan sangat mudah didapatkan khususnya di Indonesia. Kunyit mengandung senyawa yang berkhasiat obat, yang disebut kurkuminoid yang terdiri dari kurkumin, desmetoksikumin sebanyak 10% dan bisdesmetoksikurkumin sebanyak 1-5% dan zat-zat bermanfaat lainnya seperti minyak atsiri yang terdiri dari Keton sesquiterpen, tumeon 60%, Zingiberen 5%, felandren, sabinen, borneol dan Sineil. Kunyit juga mengandung lemak 1-3%, karbohidrat 3%, protein 30%, pati 8%, vitamin C 45-55%, dan garam-garam mineral, yaitu zat besi, fosfor, dan kalsium (Tokawa, *et al.* 2008)

Govin, (2011) melakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui prinsip aktif dan dosis rata-rata median (LD50) *Curcuma longa* dengan melakukan studi fitokimia dan toksisitas (akut dan kronis). Ekstrak hydroalcoholic (HAE) dari *C. longa* disiapkan dan kemampuan ekstrak aktifnya dihitung sebesar 35,9%. Tes kimia tersebut mengungkapkan adanya banyak

prinsip aktif (fitokonstituen) seperti alkaloid, glikosida, gula pereduksi, tanin, resin, saponin, sterol dan minyak tetap. Untuk toksisitas akut, termasuk dosis mematikan median (LD50) *C. longa*, HAE-nya diberikan @ 250, 500 dan 1000 mg / kg berat badan untuk tikus albino betina^F dari kelompok 2 sampai 4, masing-masing. Tikus kelompok 1 diberi garam normal untuk dijadikan kontrol. Tidak ada mortalitas pada kelompok tikus mana pun yang ditemukan hingga 48 jam, sehingga obat ini memiliki LD50 di atas 1000 mg / kg. Untuk toksisitas kronis HAON HAON, jadwal pemberian obat serupa diterapkan pada kelompok 1 sampai 4 tikus yang digunakan untuk studi toksisitas akut; Namun, ekstrak obat diberikan selama 3 minggu. Selama studi toksisitas akut dan kronis, *C. longa* HAE dosis 1000 mg / kgbb menimbulkan beberapa efek seperti kegembiraan awal, diikuti oleh depresi ringan, kusam, penurunan respirasi dan berkurangnya aktivitas motor spontan (SMA). Hasilnya menunjukkan bahwa walaupun *Curcuma longa* mengandung banyak zat aktif secara farmakologis namun dosisnya yang lebih tinggi (1000 mg / kg) sedikit beracun. Kurkumin dapat mencegah kerusakan sel/ nekrosis dan apoptosis dengan berbagai cara. Kurkumin yang mempunyai efek sebagai zat antioksidan dan anti-inflamasi, menginduksi heme oxygenase-1 dan melindungi sel endotel melawan stres oksidatif sehingga tidak terjadi kerusakan/ kematian sel (Matterlini R, et al. 2000).

Kurkumin juga dapat melindungi sel endotel manusia dari kerusakan yang disebabkan oleh stres oksidatif melalui autophagy. Kurkumin menyebabkan beberapa mekanisme seluler baru yang mempromosikan autophagy sebagai efek perlindungan. Pretreatment dengan Kurkumin sangat meningkatkan kelangsungan hidup sel endotel vena umbilikalis manusia (HUVECs) dari hilangnya viabilitas H₂O₂, yang secara khusus menimbulkan respons autophagic. Terkena H₂O₂, HUVEC yang diobati dengan kurkumin meningkatkan tingkat rantai protein 1 mikrotubula terkait rantai 3-II (LC3-II), jumlah autophagosom, dan degradasi p62. Kami menunjukkan bahwa senyawa ini mempromosikan ekspresi BECN1 dan menghambat target pensinyalan rapamycin (MTOR) fosfatidylinositol 3-kinase (PtdIns3K) -AKT-mekanistik. Kurkumin juga dapat membalikkan FOXO1 (mediator autophagy) lokalisasi nuklir bersamaan dengan tingkat peningkatan asetilasi sitoplasma FOXO1 dan interaksi FOXO1 dan ATG7 yang terkondensasi dalam keadaan stres oksidatif. Selain itu, knockdown FOXO1 oleh shRNA tidak hanya menghambat efek perlindungan yang disebabkan kurkumin namun proses autophagic, dari jumlah LC3-II sampai ekspresi RAB dapat mencegah kerusakan endotel vascular pembuluh darah manusia (Jing Han, *et al.* 2012)

Kurkumin menghambat sekresi TNF α dengan beberapa mekanisme. Pada penelitian ini terbukti ekstrak *C. longa* dapat menekan/ menurunkan produksi TNF α yang berlebih pada saat hamil muda dengan toksoplasmosis akut (Gambar.14). Pada penelitian ini juga terbukti ekstrak *C. longa* dapat mencegah kerusakan sel berupa edema ekstra selular, hemoragik/ infark, dan

nekrosis dibanding spiramisin. Kejadian infark dan nekrosis pada kelompok yang mendapat ekstrak *C. longai* berbeda bermakna dibanding kelompok yang mendapat spiramisin ($p < 0,05$). Gambar.15.

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak *C. longa* lebih efektif dibanding spiramisin mencegah kerusakan sel jaringan plasenta pada mencit hamil muda akibat infeksi akut *T. gondii* (Toksoplasmosis akut). Oleh sebab itu pemberian ekstrak *Curcuma longa* dosis 125 mg/ KgBB/ hari selama 7 hari dapat dipertimbangkan menjadi terapi alternatif pada ibu hamil muda dengan toksoplasmosis akut untuk mencegah abortus, namun diperlukan penelitian lebih lanjut tentang efektifitas dan toksisitas ekstrak *Curcuma longa* dosis 125 mg/ KgBB/ hari selama 7 hari pada manusia dengan kehamilan muda yang terinfeksi akut *Toxoplasma gondii* (toksoplasmosis akut).

Peneliti juga menyimpulkan bahwa ekstrak *C. longa* lebih efektif mencegah kerusakan sel dibanding spiramisin karena ekstrak *C. longa* memiliki efek anti- inflamasi yang poten dan anti oksidan yang tidak dimiliki oleh spiramisin, namun demikian hipotesis ini perlu dibuktikan dengan penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih besar.

BAB V.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Ekstrak *Curcuma longa* dosis 125 mg/ Kgbb/ hari dan dosis 500 mg/ Kgbb/ hari selama tiga hari dan tujuh hari efektif menurunkan kadar antibodi IgM anti toksoplasma pada mencit hamil muda dengan toksoplamosis akut, namun penurunan kadar antibodi pada kedua kelompok tidak berbeda bermakna.
2. Ekstrak *Curcuma longa* dosis 125 mg/ Kgbb/ hari dan dosis 500 mg/ Kgbb/ hari selama tiga hari efektif menaikkan kadar antibodi IgG anti toksoplasma, dan menurun pasca tujuh hari intervensi pada mencit hamil muda dengan toksoplamosis akut, namun penurunan kadar antibodi pada kedua kelompok tidak berbeda bermakna.
3. Ekstrak *Curcuma longa* dosis 125 mg/ Kgbb/ hari dan dosis 500 mg/ Kgbb/ hari selama tiga hari efektif meningkatkan ekspresi gen Foxp3, dan menurun pasca tujuh hari intervensi pada mencit hamil muda dengan toksoplamosis akut, namun peningkatan dan penurunan ekspresi gen pada kedua kelompok tidak berbeda bermakna.
4. Ekstrak *Curcuma longa* dosis 125 mg/ Kgbb/ hari dan dosis 500 mg/ Kgbb/ hari, selama tujuh hari, efektif menurunkan kadar TNF α pada mencit hamil

muda dengan toksoplamosis akut, namun penurunan kadar antibodi pada kedua kelompok tidak berbeda bermakna.

5. Ekstrak *Curcuma longa* dosis 125 mg/ KgBB/ hari dan dosis 500 mg /Kgbb/ hari selama tujuh hari efektif mencegah kerusakan sel jaringan plasenta berupa haemoragik dan nekrosis pada mencit hamil muda dengan toksoplamosis akut.

B. Saran

1. Penelitian lebih lanjut tentang interaksi dan efektivitas antara ekstrak *Curcuma longa* dengan spiramisin dengan jumlah sampel yang lebih banyak pada kehamilan muda dengan toksoplasmosis akut.
2. Penelitian lebih lanjut tentang efektivitas dan toksisitas ekstrak *C. longa* dosis 125 mg/ Kgbb/ hari selama 7 hari pada wanita hamil muda dengan toksoplasmosis akut.

DAFTAR PUSTAKA

- Aggarwal BB. 2003. Signalling pathways of the TNF superfamily: a double-edged sword. *Nat Rev Immunol.* 3(9):745–756
- Aggarwal BB. 2004. Nuclear factor-kappaB: the enemy within. *Cancer Cell.* 6(3):203–208.
- Aggarwal A, Diddi K, Malla N, Bagga R, Khurana S, Shivapriya, *et al.* 2010. Serological screening for antenatal toxoplasma infection in India. *Indian J Med Microbiol.* 28(2):143-146
- Aggarwal BB, Gupta SC, Kim JH. 2012. Historical perspectives on tumor necrosis factor and its superfamily: 25 years later, a golden journey. *Blood.* 119(3): 651-65.
- Aggarwal BB, Gupta SC, Sung B. 2013. Kurkumin: an orally bioavailable blocker of TNF and other pro-inflammatory biomarkers. *British j of Pharmacology.* 169:1672-92.
- Aluvihare VR, Kallikourdis M, Betz AG. 2004. Regulatory T cells mediate maternal tolerance to the fetus. *Nat Immunol.* 266–271.
- Angin M, King, Melanie, Addo MM. 2014. New tools to expand regulatory T cells from HIV-1 infected individuals. *J Vis Exp.* 75:e50244.
- Baine I, Abe BT, Macian F. 2009. Regulation of T-cell tolerance by calcium/NFAT signaling. *Immunol. Rev.* 231: 225–240
- Barnes PJ, Larin M. 1997. Mechanisms of disease – nuclear factor-kappaB–apivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N. Engl. J. Med.* 336:1066–1071
- Black MW, Boothroyd JC. 2000. Lytic Cycle of *Toxoplasma Gondii*. *Microbiol Mol Biol Rev.* 64(3) : 607-623.
- Blonska M, Lin X. 2009. CARMA1-mediated NF-kappa B and JNK activation in lymphocytes. *Immunol. Rev.* 228: 199–211.
- Bruno L, Mazzearella L, Hoogenkamp M, Hertweck A, Cobb BS, Sauer, S, *et al.* 2009. Runx proteins regulate Foxp3 expression. *J. Exp. Med;* 206: 2329–2337.
- Burchilli MA, Yang J, Vogtenhuber C, Blazar BR, Fara MA. 2007. IL-2 receptor beta dependent STAT 5 activation is required for the development of Foxp3 regulatory T Cell. *J Immunol.* 178(1): 280-290.

- Castaño P, Fuertes M, Ferre I, Fernandez M, Ferreras MDC, Gonzalo JM, et al. 2014. Placental thrombosis in acute phase abortions during experimental *Toxoplasma gondii* infection in sheep. *Veterinary Research*. 45: 1-9.
- Chaouat G, Lede'e-Bataille N, Dubanchet S, Zourbas S, Sandra O, Martal J. 2004. Th1/Th2 paradigm in pregnancy: paradigm lost? Cytokines in pregnancy/early abortion: reexamining the Th1/Th2 paradigm. *Int Arch Allergy Immunol*. 134: 93–119.
- Chen CC, Vhan WH. 2012. Injurious effect of kurkumin on maturation of mouse oocytes, fertilization and fetal development via apoptosis. *Int J. Mol. Sci*. 13: 4655-72.
- Chen JL, Ge YY, Zhang J, Qiu XY, Qiu JF. 2013. The dysfunction of CD4⁺CD25⁺ regulatory T Cells contributes to the abortion of mice caused by *Toxoplasma gondii* excreted-secreted antigen in early pregnancy. *PLOS ONE*. 8(7): e69012
- Chen W, Jin W, Hardegen N, Lei KJ, Li Li, Marinos N. 2003. Conversion of Peripheral CD4⁺CD25⁻ Naive T Cells to CD4⁺CD25⁺ Regulatory T Cells by TGF- β Induction of Transcription Factor Foxp3. *J experimental Medicine*. 198(12): 1875-1886.
- Clark DA, Ding JW, Chaouat G, Coulam CB, August C, Levy GA. 1999. The Emerging Role of Immunoregulation of Fibrinogen-Related Procoagulant Fgl2 in the Success or Spontaneous Abortion of Early Pregnancy in Mice and Humans. *Am J Repro Immunol*. 42(1): 37- 43.
- Clark DA, Ding JW, Yu G, Levy GA, Gorczynski RM. 2001. Fgl 2 protrombinase expression in mouse trophoblast and decidua triggers abortion but may be countered by OX-2. *Mol Hum Reprod*. 7:185-194.
- Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, et al. Infectious diseases: toxoplasmosis. In: *Williams Obstetrics*. 24th ed. New York: McGraw-Hill Education; 2014, p. 1254-56.
- Cong Y, Wang L, Konrad A, Ashoeb T, Elson CO. 2009. Kurkumin Induces the Tolerogenic Dendritic Cell that Promotes Differentiation of Intestine – Protective Regulatory T Cells. *Eur.J. Immunol*. 39:3134-3146.
- Cohen MM. 2009. Perspectives on RUNX genes: an update. *Am. J. Med. Genet*. A149A: 2629–46.
- Cosmi L, Liotta F, Angeli R, et al. 2004. Th2 cells are less susceptible than Th1 cells to the suppressive activity of CD25⁺ regulatory thymocytes because of their responsiveness to different cytokines. *Blood*. 103: 3117–3121.

- Darasse-J'eze G, Klatzmann D, Charlotte F, Salomon BL, Cohen JL. 2006. CD4+CD25+ regulatory/suppressor T cells prevent allogeneic fetus rejection in mice. *Immunol Lett.* 102: 106–109.
- Davidson TS, DiPaolo RJ, Andersson J, Shevach EM. 2007. Cutting edge: IL-2 is essential for TGF-beta-mediated induction of Foxp(3+) T regulatory cells. *J.Immunol.* 178: 4022–4026
- Deenick EK, Elford AR, Pellegrini M, Hall H, Mak TW, Ohashi PS. 2010. cRel but not NF-kappa B1 is important for T regulatory cell development. *Eur. J. Immunol.* 40: 677–681
- Derynck R, Zhang YE. 2003. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF-beta family signalling. *Nature.* 425: 577–584
- Di Carlo P, Romano A, Schimmenti MG, Mazzola A, Titone L. 2008. Materno fetal *Toxoplasma gondii* infection: critical review of available diagnostic methods. *Infez Med.* 16(1): 28–32.
- De Oliveira ACT, Do Brasil PE, Guida L, Lopes MME. 2016. Performance of Polymerase Chain Reaction Analysis of the Amniotic Fluid of Pregnant Women for Diagnosis of Congenital Toxoplasmosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 11(4): e0149938
- Dubey JP. 2002. A review of toxoplasmosis in wild birds . *Vet. Parasitol.* 106 : 121 - 153
- Debierre G. 2007. Activation of TLR2 and TLR4 by Glycosylphosphatidylinositol derived from *T. gondii*. *J. Immunol.* 179: 1129-37
- Devin A, Cook A, Lin Y, Rodriguez Y, Kelliher M, Liu Z. 2000. The distinct roles of TRAF2 and RIP in IKK activation by TNF-R1: TRAF2 recruits IKK to TNF-R1 while RIP mediates IKK activation. *Immunity.* 12(4): 419–429.
- Elias KM, Laurence A, Davidson TS, Stephens G, Kanno Y, Shevach, EM, *et al.* 2008. Retinoic acid inhibits Th17 polarization and enhances FoxP3 expression through a Stat-3/Stat-5 independent signaling pathway. *Blood.* 111: 1013–1020
- Ermolaeva MA, Michallet MC, Papadopoulou N, *et al.* 2008. Function of TRADD in tumor necrosis factor receptor 1 signaling and in TRIF-dependent inflammatory responses. *Nat Immunol.* 9(9):1037–1046. [PubMed: 18641654]
- Fatoohi AF, Cozon GJ, Greenland T, *et al.* 2002. Cellular immune responses to recombinant antigens in pregnant women chronically infected with *Toxoplasma gondii*. *Clin Diagn Laboratory Immunol.* 9: 704–707

- Fontenot JD, Rasmussen JP, Williams LM, Dooley JL, Farr AG, Rudensky AY. 2005. Regulatory T cell lineage specification by the forkhead transcription factor Foxp3. *Immunity*. 22 : 329-41.
- Fontenot JD, Rasmussen JP, Gavin MA, Rudensky AY. 2005. A function for interleukin 2 in Foxp3-expressing regulatory T cells. *Nat. Immunol.* 6: 1142-1151.
- Fujino S, Andoh A, Bamba S, Ogawa A, Hata K, Araki Y, et al. 2003. Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel diseases. *Gut*. 52: 65-70.
- Ge YY, Zhang L, Zhang G, Wu JP, Tan MJ, Hu W, et al. 2008. In Pregnant Mice, the Infection of *Toxoplasma gondii* Causes the Decrease of CD4+CD25+ Regulatory T Cells. *Parasite Immunology*. 30: 471-481.
- Govin P. Active principles and median lethals dose of *Curcuma longa* Inn. *International Research Journal of Pharmacy*. 2011; 2(5): 239-41.
- Grujic J, Djurkovic DO, Nikolic A, Klun I, Bobic B. 2005. Effectiveness of spiramycin in murine models of acute and chronic toxoplasmosis. *International journal of Antimicrobial agents*. 25(3): 226-30.
- Guo Y-Z, Ping He, Ai-Min Feng. 2017. Effect of kurkumin on expressions of NF-Kb, and IL-8 in placental tissue of premature birth of infected mice. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 10(2): 175-8.
- Haider S, Knofler M. 2009. Human tumour necrosis factor: physiological and pathological roles in placenta and endometrium. *Placenta*. 30(2):111-123.
- Hail AO, Beiting DP, Tato C, John B, Oldenhove G.2012. The cytokine interleukin 27 and interferon- γ promote distinct Treg cell populations required to limit infection-induced pathology. *Immunity*.37: 511-23.
- Hampson J, McLaughlin PJ, Johnson PM. 1993. Low-affinity receptors for tumor necrosis factor-alpha, interferon-gamma and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor are expressed on human placental syncytiotrophoblast. *Immunology*. 79: 485-490.
- J Han, XY Pan, Y Xu, Y Xiao, Y An, L Tie, et al. Kurkumin induces autophagy to protect vascular endothelial cell survival from oxidative stress damage. *utophagy*, 2012; 8(5): 812- 25.
- Hayden MS, West AP, Ghosh, S. 2006. NF-kappa B and the immune response. *Oncogene*. 25: 6758-6780.
- Howe DK, Sibley LD. 1995. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. *J Infect Dis*. 172: 1561-1566

- Hsu H, Shu HB, Pan MG, Goeddel DV. 1996. TRADD-TRAF2 and TRADD-FADD interactions define two distinct TNF receptor 1 signal transduction pathways. *Cell*. 84(2):299–308. [PubMed: 8565075]
- Hunter CA, Sibley D. 2012. Modulation of innate immunity by *Toxoplasma gondii* virulence effectors. *Nature*. 10: 766-778.
- Imada K, Leonard WJ. 2000. The Jak-STAT pathway. *Mol. Immunol*. 37: 1–11.
- Innes EA, Panton WR, Thomson KM, Maley S, Buxton D, Kinetics of interferon gamma production in vi during infection with the 548 vaccine strain of *Toxoplasma gondii*. *J Comp Pathol*. 113: 89-94.
- Josefowicz SZ, Li-Fan LU, Rudensky Y. 2012. Regulatory T cell: Mechanism of differentiation and function. *Annual Review of Immunology*. 30: 531-564.
- Khan A, Dubey JP, Su C, Ajioka JW, Rosenthal BM, Sibley LD. 2011. Genetic analyses of atypical *Toxoplasma gondii* strains reveal a fourth clonal lineage in North America. *Int J Parasitol*. 41(6):645-655
- Jones J Lopez A, Wilson M. 2003. Congenital toxoplasmosis. *Am Fam Physician*. 67 (10): 2131- 8.
- Kang BY, Song YJ, Kim KM, ChoeYK, Hwang SY, Kim TS. (1999). Kurkumin inhibits Th1 cytokine profile in CD4+ T Cells by Suppressing Interleukin-12 production in Macrophages.
- Kang H, Jack S, Remington, Suzuki Y. (2000). Decreased resistance of B cell-deficient mice to infection with *T. gondii* despite unimpaired expression of IFN- γ , TNF- α , and inducible nitric oxide synthase. *J Immunol*. 164: 2629-2634.
- Kang K, Kubin M, Cooper KD, Lessin SR, Trinchieri G, Rook AH. 1996. Synthesis by human Langerhans Cell. *J. Immunol*. 156: 1402-1407.
- Kato M, Igarashi M, Nakagama H. 2013. Cancer genetics and genomics of human FOX family genes. *Cancer Lett*. 328:198-206.
- Kim G, Jang MS, Son YM, Seo MJ, Ji SY, Han SH, et al. 2013. Kurkumin inhibits CD4+ T cell activation, but augments CD69 expression and TGF- β 1-mediated generation of regulatory T Cells at late phase.
- Kitoh A, Ono M, Naoe Y, Ohkura N, Yamaguchi T, Yaguchi H, et al. (2009) Indispensable role of the Runx1-Cbfbeta transcription complex for in vivo-suppressive function of FoxP3(+) regulatory T cells. *Immunity* 31, 609–20.
- Klunker S, Chong MMW, Mantel PY, Palomares O, Bassin C, Ziegler M, et al. 2009. Transcription factors RUNX1 and RUNX3 in the induction and suppressive function of Foxp3(+) inducible regulatory T cells. *J. Exp. Med*. 206: 2701–2715.
- Krishnan L, Guilbert LJ, Wegmann TG, Belosevic M, Mossman TR. 1996. T helper-1 response against *Leishmania major* in pregnancy C57BL/6 mice increases implantation failure and fetal resorptions. Correlation with

increased IFN- γ and TNF- α and reduced IL-10 production by placenta cells. *J Immunol.*15: 653–662.

- Kwon DS, Angin M, Hongo T, Law MK, Johnson J, Pavlik FD, et al. 2012. CD4CD25 Regulatory T Cells Impair HIV-1 Specific CD4 T Cell Responses by Upregulating Interleukin-10 Production in Monocytes. *J Virol.* 86(12): 6586- 6594.
- Lal G, Zhang N van der Touw, W Ding YZ, Ju WJ, Bottinger EP, Reid, SP, et al. 2009. Epigenetic regulation of Foxp3 expression in regulatory T cells by DNA methylation. *J. Immunol.* 182: 259–23.
- Lim KJH.2003. Molecular factor in human implantation: adhesion molecule, proteinases and cytokines. *Malaysian j Pathol.*25(1):1-13
- Lu LF, Thai TH, Calado DP, Chaudhry A, Kubo M, Tanaka K, et al. 2009. Foxp3-dependent MicroRNA155 confers competitive fitness to regulatory T cells by targeting SOCS1 protein. *Immunity.* 30: 80–91
- Lin H, Mossmann TR, Guilbert L, Tuntipopipat S, Wegmann TG. 1993. Synthesis of T helper 2-type cytokines at the feto–maternal interface. *J Immunol.* 151: 4562–4573.
- Macian F. 2005. NFAT proteins: key regulators of T-cell development and function. *Nat. Rev. Immunol.* 5: 472–84.
- Maaik S. 2009. Embryogenic implantation: cytokines, adhesion molecules and immune cells in establishing and implantation environment. *Journal of Leucocyte*; 85.
- Marcorelles P. 2010. Placenta and preeclampsia: relationships between anatomical lesions and clinical symptoms. *Ann Fr Anesth Reanim*; **29** (3):e25–. doi:10.1016/j.annfar.2010.02.013. PMID 20338716.
- Montoya JG. 2002. Laboratory diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection and toxoplasmosis. *J Infect Dis.* 185(Suppl 1): S73–82.
- Meira CS, Chioccola VLP, Vidal JE, Mattos B, Motoie G, Silva TAC, et al. 2014. Cerebral and ocular toxoplasmosis related with IFN- γ , TNF- α , and IL-10 Levels. *Frontiers in Microbiology.* 492(5):1-7.
- Mei Li L, Li J, Zhang X-Y. 2016. Antimicrobial and molecular interaction studies on derivatives of kurkumin against *Streptococcus pneumonia* which caused pneumonia. *E Journal of Biotechnology.* 19:8-14
- Moghadamtousi SZ, Tajik H, Abubakar S, Zandi K. 2014. A review on antibacterial, antiviral, antifungal activity of kurkumin. *Biomed Research internacional.*2014: 1-12.

- Motterlini R, Oresti R, Bassi R, JGreen C. Kurkumin, an antioxidant and anti-inflammatory agent, induces heme oxygenase-1 and protects endothelial cells against oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*. 2000; 8(15): 1303-12.
- Najia A, Al- Zanbagi. 2009. In vivo effect of some spices extracts on the *Toxoplasma gondii* tachizoids. *J Family community Med*. 16(2): 59-65.
- Morgan MJ, Liu ZG. 2010. Reactive oxygen species in TNFalpha-induced signaling and cell death. *Mol Cells*. 30(1):1-12.[PubMed: 20652490]
- Natadisastra D. 2014. Penyakit Parasit pada Organ Reproduksi. Dalam: Natadisastra D, Agoes R. *Parasitologi Kedokteran Ditinjau dari Organ Tubuh yang Diserang*. Jakarta, EGC : 233-53.
- Natoli G, Costanzo A, Moretti F, Fulco M, Balsano C, Levrero M. 1997. Tumor necrosis factor (TNF) receptor 1 signaling downstream of TNF receptor-associated factor 2: nuclear factor kappaB (NFkappaB)-inducing kinase requirement for activation of activating protein 1 and NFkappaB but not of c-Jun N-terminal kinase/stress-activated protein kinase. *J Biol Chem*. 272(42): 26079-26082. [PubMed: 9334169]
- Nimmo R, Woollard A. 2008. Worming out the biology of Runx. *Dev. Bio*. 313:492-500.
- Nogareda F, Strat YL, Villena, Valk HD, amd Goulet V. 2013. Incidence and prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in women in France, 1980-2020: model-based estimation. *Epidemiol Infect Cambridge University*. 142: 1661- 1670.
- Oldenhove G, Bouladoux N, Wohlfert EA, Hall JA, Chou D. 2009. Decreased of Foxp3+ Treg cell number and acquisition of effector cell phenotype during lethal infection . *Immunity*. 31: 772-86.
- Ono M, Yaguchi H, Ohkura N, Kitabayashi I, Nagamura Y, Nomura T, et al. 2007. Foxp3 controls regulatory T-cell function by interacting with AML1/Runx1. *Nature*. 446: 685-689
- Passerini L, Allan SE, Battaglia M, Di Nunzio S, Alstad AN, Levings MK, et al. 2008. STAT 5- Signaling cytokines regulate the expression of Foxp3 in CD4+CD25+ regulatory T cells and CD2+CD25+ effector T cells. *Int. Immunol*. 20(3): 421-431.
- Polansky JK, Kretschmer K, Freyer J, Floess S, Garbe A, Baron U, et al. 2008. DNA methylation controls Foxp3 gene expression. *Eur. J. Immunol*. 38: 1654-1663.
- Prigione I, Chiesa S, Taverna P, et al. 2006. T cell mediated immune responses to *Toxoplasma gondii* in pregnant women with primary toxoplasmosis. *Microbes Infect* . 8: 552-560.

- Rashidi N, Mirahmadian M, Jeddi-Tehrani M, Rezania S, Ghasemi J, Kazemnejad S, Mirzadegan E, et al. Lipopolysaccharide- and Lipoteichoic Acid-mediated Pro-inflammatory Cytokine Production and Modulation of TLR2, TLR4 and MyD88 Expression in Human Endometrial Cells. *J Reprod Infertil.* 16(2): 72-81
- Rashidi N, Mirahmadian M, Tehrani MJ, Rezania S, Ghasemi J, Kazemnejad S, et al. 2015. Lipopolysaccharide- and Lipoteichoic Acid-mediated Pro-inflammatory Cytokine
- Rudra D, Egawa T, Chong MMW, Treuting P, Littman DR, Rudensky AY. 2009. Runx-CBF beta complexes control expression of the transcription factor Foxp3 in regulatory T cells. *Nat. Immunol.* 10: 1170-53.
- Rudensky AY. 2012. Regulatory T Cells and Foxp3, *immunol Rev.* 241(1): 260-268.
- Rohmaati I, Wibowo W. 2013. Hubungan kejadian abortus dengan Toxoplasmosis di Puskesmas Mentaras Kabupaten Gresik. *J Biometrika dan kependudukan.* 2(2): 173-181.
- Schlüter MD, Bluethmann H, Rang A, Hof H, Schlüter D. 1998. Crucial role of TNF receptor type 1 (p55), but not of TNF receptor type 2 (p75), in murine toxoplasmosis. *J Immunol.* 160: 3427-3436.
- Shevach EM. 2009. Mechanisms of foxp3⁺ T regulatory cell-mediated suppression. *Immunity.* 30: 636-645.
- Singh S, Aggarwal BB. 1995. Activation of transcription factor NF-kappa B is suppressed by kurkumin (diferuloylmethane) [corrected]. *J Biol Chem.* 270: 24995–25000
- Simanjuntak TP, Hatta M, Sirait RH, Karo M, Sirait LI, Aritonang TR, et al. 2017. Analysis concentration of *Toxoplasma gondii* on anti-toxoplasma IgG-IgM antibody Levels, and the outcomes of pregnancy in mice Balb/c. *Open J Obstetric and Gynecology.* 7:281-9.
- Szabo EK, Finney CA. 2017. *Toxoplasma gondii*: One organism, Multiple Models. *Trend parasitol.* 33(2): 113-127.
- Suto A, Nakajima H, Kagami SI, Suzuki K, Saito Y, Iwamoto I, 2001. Role of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in T helper 2 cell-mediated allergic inflammation in the airways. *Am J Respir Crit Care Med.* 164: 680–687.
- Szekeres BJ. 2002. Immunological relationship between the mother and the fetus. *Int Rev Immunol.* 21: 471–495.
- Senegas A, Villard O, Neuville A, Marcellin L, Pfaff AW, Steinmetz T, et al. 2009. *Toxoplasma gondii*-induced foetal resorption in mice involves interferon-gamma-induced apoptosis and spiral artery dilation at the maternofetal interface. *Int J Parasitol.* 39: 481–487.

- Serranti D, Buonsenso D, and Valentini P. 2011. Congenital Toxoplasmosis. Euro Review for Medical and Pharmacological Sciences. Departement of Pediatrics , Catholic University of Sacred Heart, Rome(Italy). 15: 193- 198.
- Seung HY, Yoon P, Christ E, Yun CL. 2013. Itch expression by Treg cells controls Th2 inflammatory responses. J clin Investigation. 123(11): 4923-4935.
- Takaki H, Ichiyama K, Koga K, Chinen T, Takaesu G, Sugiyama Y, et al. 2008. STAT6 inhibits TGF-beta 1-mediated Foxp3 induction through direct binding to the Foxp3 promoter, which is reverted by retinoic acid receptor. J. Biol. Chem. 283: 14955–14962.
- Tamman AE, Haridy MAM, Abdellah AH, Ahmed SR, Fayed HM, et al. 2013. Seroprevalence and genotyping of *Toxoplasma gondii* in Menoufia governorate. Clin and Diagnostic Research. 2013;7(12): 2870-73.
- Tang Q, Bluestone JA. 2008. The Foxp3⁺ regulatory T cell: a jack of all trades, master of regulation. Nat Immunol. 9: 239-44.
- Tang Q, Adams JY, penaranda C, Melli K, Piagio E. 2008. Central role of defective interleukin-2 production in the triggering of islet autoimmune destruction. Immunity. 28: 687-97
- Treesh SA, Khair NS. 2015. Histological Changes of the Human Placenta in Pregnancies Complicated with Diabetes. J Cytol Histol 2015, 6:2
- Tenorio EP, Fernandez J, Olguin JE, Vieyra P, Saavedra R. 2010. Reduction of Foxp3⁺ cells by depletion with the PC61 mAb induces mortality in resistant BALB/c mice infected with *T. gondii*. J. Biomed. Biotechnol: 1-9. DOI:10.1155/2010/786078.
- Tenorio EP, Fernandez J, Castellanos C, Jonadab E, Olguin, Saavedra R. 2011. Eur J. Immunol. 41: 3529-41.
- Thiebaut R, Leproust S, Chene G, Gilbert R.2007. Effectiveness of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis: a meta-analysis of individual patients' data. Lancet. 369:115–122.
- Tokawa H, Shi Q, Akiyama T, Morris-Natschke SL, Lee KH. Recent advances in the investigation of kurkuminoids. Chin Med. 2008 Sep 17;3:11. doi: 10.1186/1749-8546-3-11.
- Tyagi P, Singh M, Kumari H, Kumari A, Mukhopadhyay. 2015. Bacterial activity of Kurkumin I Is associated with damaging of bacterial membrane. PLOS ONE. 10(3): e012313
- Tu CT, Han B, Yao QY, Zhang YA, Liu HC, Zhang SC. 2012. Kurkumin attenuates Concanavalin A-induced liver injury in mice by inhibition of Toll-

- like receptor (TLR) 2, TLR4 and TLR9 expression. *Int Immunopharmacol.* 12: 151–157.
- Valencia X, Lipsky PE. 2007. CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T cells in autoimmune diseases. *Nat Clin Pract Rheumatol.* 3: 619 – 26.
- Valentini P. 2015. Spiramycin /Cotrimoxazole versus Pyrimethamine /Sulfonamide and Spiramycin Alone for The Treatment of Toxoplasmosis in Pregnancy. *J Perinatol.* 35: 90- 94.
- Visekruna A, Huber M, Hellhund A, Bothur E, Reinhard K, Bollig N, et al. 2010. c-Rel is crucial for the induction of Foxp3(+) regulatory CD4(+) T cells but not T(H)17 cells. *Eur. J. Immunol.* 40: 671–6
- Wang L, Chen H, Liu D, Huo X, Gao J, Song X, et al. 2013. Genotypes and Mouse Virulence of *Toxoplasma gondii* Isolates from Animals and Humans in China. *PLoS One.* 8(1): e53483.
- Weil R, Israel A. 2006. Deciphering the pathway from the TCR to NF-kappa B. *Cell Death Differ.* 13: 826–33
- Zeng Y, Rudensky AY. 2007. Foxp3 in control of the regulatory T cell lineage. *Nat Immunol.* 5: 457-462.
- Yao Z, Kanno Y, Kerenyi M, Stephens G, Durant L, Watford WT, et al. 2007. Nonredundant roles for Stat5a/b in directly regulating Foxp3. *Blood.* 109: 4368–4375
- Yun DG, Lee DG. 2016. Antibacterial activity of kurkumin via apoptosis-like response in *Escherichia coli*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 100:5505-5514
- Zhang K, Lin G, Han Y, Li J. 2016. Serological diagnosis of toxoplasmosis and standardization. *Clin Chim Acta.* 461: 83-9.
- Zhao GJ, Lu ZQ, Tang LM, Wu ZS, Wang DW, Zheng JY, et al. 2012. Kurkumin inhibits suppressive capacity of naturally occurring CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in mice in vitro. *Int Immunopharmacol.* 14(1): 99-106
- Zhao HM, Xu R, Huang XY, Cheng SM, Huang MF, Yue HY, et al. 2016. Kurkumin Improves Regulatory T Cells in Gut-Associated Lymphoid Tissue of Colitis Mice. *World J Gastroenterol.* 22(23): 5374-5383.
- Zhang HM, Xu R, Huang XY, Cheng SM, Huang MF, Yue HY, et al. 2016. Kurkumin improves regulatory T Cells in Gut- Associated Lymphoid Tissue of Colitis Mice. *World J Gastroenterol.* 22(23): 5374-5383.
- Zheng SG, Wang JH, Wang P, Gray JD, Horwitz DA. 2007. IL-2 is essential for TGF-beta to convert naive CD4(+)CD25(-) cells to CD25(+)Foxp3(+) regulatory T cells and for expansion of these cells. *J. Immunol.* 178: 2018–27.

- Zheng SG, Wang JH, Stohl W, Kim KS, Gray JD, Horwitz DA. 2006. TGFbeta requires CTLA-4 early after T cell activation to induce FoxP3 and generate adaptive CD4(+) CD25(+) regulatory cells. *J. Immunol.* 176, 3321–3329.
- Ziegler SF, Buckner JH. 2009. Foxp3 and the regulation of Treg/Th17 differentiation. *Microbes Infect.* 11: 594–598
- Zenclussen AC, Gerlof K, Zenclussen ML, et al. 2005. Abnormal Tcell reactivity against paternal antigens in spontaneous abortion: Adoptive transfer of pregnancy-induced CD4+CD25+ T regulatory cells prevents fetal rejection in a murine abortion model. *Am J Pathol.* 166: 811–822.

LAMPIRAN

Tabel 1. Hasil laboratorium kadar antibodi IgM anti toksoplasma. Cat.No: MBS9310461 (1)

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Kontrol +	Kontrol +	A01	A01	A02	A02	A03	A03	A04	A04	A05	A05
B	Kontrol -	Kontrol -	B01	B01	B02	B02	B03	B03	B04	B04	B05	B05
C	Blank	Blank	C01	C01	C02	C02	C03	C03	C04	C04	C05	C05
D			D01	D01	D02	D02	D03	D03	D04	D04	D05	D05
E			A06	A06	A07	A07	A08	A08	A09	A09	A10	A10
F			B06	B06	B07	B07	B08	B08	B09	B09	B10	B10
G			C06	C06	C07	C07	C08	C08	C09	C09	C10	C10
H			D06	D06	D07	D07	D08	D08	D09	D09	D10	D10

Optic Density

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	2,348	2,266	0,271	0,302	0,263	0,267	0,219	0,204	0,235	0,241	0,276	0,247
B	0,189	0,163	0,832	0,825	0,888	0,862	0,828	0,804	0,876	0,864	0,793	0,787
C	0,066	0,064	0,486	0,478	0,529	0,538	0,555	0,584	0,543	0,558	0,494	0,506
D			0,347	0,376	0,387	0,325	0,31	0,345	0,346	0,335	0,313	0,311
E			0,278	0,269	0,241	0,215	0,246	0,276	0,213	0,221	0,245	0,217
F			0,822	0,837	0,854	0,876	0,82	0,836	0,792	0,813	0,844	0,816
G			0,523	0,518	0,561	0,559	0,493	0,481	0,561	0,533	0,566	0,542
H			0,309	0,304	0,319	0,296	0,368	0,344	0,387	0,378	0,332	0,315

**Mean
/ td
Dev
OD**

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	2,307	0,057983	0,2865	0,02192	0,265	0,002828	0,2115	0,010607	0,238	0,004243	0,2615	0,020506
B	0,176	0,018385	0,8285	0,00495	0,875	0,018385	0,816	0,016971	0,87	0,008485	0,79	0,004243
C	0,065	0,001414	0,482	0,005657	0,5335	0,006364	0,5695	0,020506	0,5505	0,020506	0,5	0,008485
D			0,3615	0,020506	0,356	0,043841	0,3275	0,024749	0,3405	0,007778	0,312	0,001414
E			0,2735	0,006364	0,228	0,018385	0,261	0,021213	0,217	0,005657	0,231	0,019799
F			0,8295	0,010607	0,865	0,015556	0,828	0,011314	0,8025	0,014849	0,83	0,019799
G			0,5205	0,003536	0,56	0,001414	0,487	0,008485	0,547	0,019799	0,554	0,016971
H			0,3065	0,003536	0,3075	0,016263	0,356	0,016971	0,3825	0,006364	0,3235	0,012021

CUT OFF : 0,326

Tabel.1. Hasil laboratorium Kadar antibodi IgM anti toksoplasma , Cat.No: MBS9310461 (lanjutan 2)

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Kontrol +	Kontrol +	A11	A11	A12	A12	A13	A13	A14	A14	A15	A15
B	Kontrol -	Kontrol -	B11	B11	B12	B12	B13	B13	B14	B14	B15	B15
C	Blank	Blank	C11	C11	C12	C12	C13	C13	C14	C14	C15	C15
D			D11	D11	D12	D12	D13	D13	D14	D14	D15	D15
E			A16	A16	A17	A17	A18	A18	A19	A19	A20	A20
F			B16	B16	B17	B17	B18	B18	B19	B19	B20	B20
G			C16	C16	C17	C17	C18	C18	C19	C19	C20	C20
H			D16	D16	D17	D17	D18	D18	D19	D19	D20	D20

Optic Density

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	2,471	2,394	0,246	0,227	0,279	0,289	0,221	0,206	0,278	0,265	0,281	0,254
B	0,181	0,177	0,738	0,739	0,798	0,817	0,845	0,816	0,832	0,814	0,801	0,826
C	0,066	0,065	0,582	0,566	0,579	0,587	1,466	1,403	1,457	1,472	1,435	1,418
D			0,361	0,388	0,328	0,352	1,61	1,663	1,626	1,641	1,628	1,633
E			0,273	0,282	0,262	0,251	0,246	0,258	0,271	0,279	0,243	0,232
F			0,825	0,851	0,254	0,284	0,323	0,319	0,299	0,316	0,318	0,301
G			1,401	1,423	0,317	0,309	0,317	0,288	0,256	0,238	0,269	0,248
H			1,607	1,621	0,328	0,303	0,313	0,286	0,284	0,311	0,327	0,305

Mean /
Std Dev
OD

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	2,4325	0,054447	0,2365	0,013435	0,284	0,007071	0,2135	0,010607	0,2715	0,009192	0,2675	0,019092
B	0,179	0,002828	0,7385	0,000707	0,8075	0,013435	0,8305	0,020506	0,823	0,012728	0,8135	0,017678
C	0,0655	0,000707	0,574	0,011314	0,583	0,005657	1,4345	0,044548	1,4645	0,010607	1,4265	0,012021
D			0,3745	0,019092	0,34	0,016971	1,6365	0,037477	1,6335	0,010607	1,6305	0,003536
E			0,2775	0,006364	0,2565	0,007778	0,252	0,008485	0,275	0,005657	0,2375	0,007778
F			0,838	0,018385	0,269	0,021213	0,321	0,002828	0,3075	0,012021	0,3095	0,012021
G			1,412	0,015556	0,313	0,005657	0,3025	0,020506	0,247	0,012728	0,2585	0,014849
H			1,614	0,009899	0,3155	0,017678	0,2995	0,019092	0,2975	0,019092	0,316	0,015556

Cut Off : 0, 329

Tabel 2. Hasil labotorium kadar antibodi IgG anti toksoplasma. Cat.No: MBS109093**Sampel**

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Kontrol +	Kontrol +	A01	A01	A02	A02	A03	A03	A04	A04	A05	A05
B	Kontrol -	Kontrol -	B01	B01	B02	B02	B03	B03	B04	B04	B05	B05
C	Blank	Blank	C01	C01	C02	C02	C03	C03	C04	C04	C05	C05
D			D01	D01	D02	D02	D03	D03	D04	D04	D05	D05
E			A06	A06	A07	A07	A08	A08	A09	A09	A10	A10
F			B06	B06	B07	B07	B08	B08	B09	B09	B10	B10
G			C06	C06	C07	C07	C08	C08	C09	C09	C10	C10
H			D06	D06	D07	D07	D08	D08	D09	D09	D10	D10

Optic Density

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.455	0.428	0.194	0.183	0.15	0.149	0.151	0.129	0.162	0.176	0.136	0.133
B	0.169	0.144	0.328	0.297	0.381	0.376	0.376	0.359	0.309	0.339	0.375	0.348
C	0.064	0.062	0.444	0.482	0.435	0.455	0.489	0.469	0.472	0.417	0.497	0.478
D	0.065	0.066	0.489	0.473	0.443	0.428	0.499	0.481	0.425	0.401	0.486	0.498
E	0.064	0.065	0.185	0.171	0.183	0.188	0.109	0.121	0.13	0.118	0.175	0.159
F	0.064	0.066	0.357	0.386	0.392	0.383	0.301	0.357	0.349	0.341	0.32	0.342
G	0.065	0.064	0.47	0.464	0.447	0.439	0.435	0.473	0.403	0.406	0.424	0.421
H	0.065	0.065	0.422	0.438	0.475	0.478	0.415	0.429	0.488	0.45	0.453	0.419

Mean /
Std Std
Dev OD

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.4415	0.019092	0.1885	0.007778	0.1495	0.000707	0.14	0.015556	0.169	0.009899	0.1345	0.002121
B	0.1565	0.017678	0.3125	0.02192	0.3785	0.003536	0.3675	0.012021	0.324	0.021213	0.3615	0.019092
C	0.063	0.001414	0.463	0.02687	0.445	0.014142	0.479	0.014142	0.4445	0.038891	0.4875	0.013435
D			0.481	0.011314	0.4355	0.010607	0.49	0.012728	0.413	0.016971	0.492	0.008485
E			0.178	0.009899	0.1855	0.003536	0.115	0.008485	0.124	0.008485	0.167	0.011314
F			0.3715	0.020506	0.3875	0.006364	0.329	0.039598	0.345	0.005657	0.331	0.015556
G			0.467	0.004243	0.443	0.005657	0.454	0.02687	0.4045	0.002121	0.4225	0.002121
H			0.43	0.011314	0.4765	0.002121	0.422	0.009899	0.469	0.02687	0.436	0.024042

CUT OFF

: 0.3065

Tabel.2. Hasil laboratorium kadar antibodi IgG anti toksoplasma. Cat.No: MBS109093 (lanjutan 2)

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Kontrol +	Kontrol +	A11	A11	A12	A12	A13	A13	A14	A14	A15	A15
B	Kontrol -	Kontrol -	B11	B11	B12	B12	B13	B13	B14	B14	B15	B15
C	Blank	Blank	C11	C11	C12	C12	C13	C13	C14	C14	C15	C15
D			D11	D11	D12	D12	D13	D13	D14	D14	D15	D15
E			A16	A16	A17	A17	A18	A18	A19	A19	A20	A20
F			B16	B16	B17	B17	B18	B18	B19	B19	B20	B20
G			C16	C16	C17	C17	C18	C18	C19	C19	C20	C20
H			D16	D16	D17	D17	D18	D18	D19	D19	D20	D20

Optic Density

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,465	0,427	0,165	0,19	0,151	0,147	0,167	0,153	0,149	0,141	0,173	0,158
B	0,153	0,142	0,317	0,311	0,375	0,366	0,374	0,409	0,37	0,375	0,315	0,301
C	0,066	0,065	0,473	0,464	0,467	0,458	0,724	0,725	0,783	0,784	0,741	0,709
D	0,065	0,064	0,442	0,473	0,49	0,473	1,376	1,374	1,366	1,378	1,358	1,389
E	0,064	0,063	0,155	0,142	0,148	0,126	0,128	0,159	0,134	0,129	0,122	0,114
F	0,065	0,065	0,346	0,342	0,143	0,16	0,183	0,178	0,178	0,151	0,125	0,113
G	0,064	0,063	0,783	0,778	0,196	0,157	0,128	0,145	0,153	0,146	0,156	0,132
H	0,065	0,064	1,355	1,361	0,111	0,134	0,159	0,147	0,171	0,152	0,133	0,105

**Mean /
Std**

Dev
OD

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,446	0,02687	0,1775	0,017678	0,149	0,002828	0,16	0,009899	0,145	0,005657	0,1655	0,010607
B	0,1475	0,007778	0,314	0,004243	0,3705	0,006364	0,3915	0,024749	0,3725	0,003536	0,308	0,009899
C	0,0655	0,000707	0,4685	0,006364	0,4625	0,006364	0,7245	0,000707	0,7835	0,000707	0,725	0,022627
D			0,4575	0,02192	0,4815	0,012021	1,375	0,001414	1,372	0,008485	1,3735	0,02192
E			0,1485	0,009192	0,137	0,015556	0,1435	0,02192	0,1315	0,003536	0,118	0,005657
F			0,344	0,002828	0,1515	0,012021	0,1805	0,003536	0,1645	0,019092	0,119	0,008485
G			0,7805	0,003536	0,1765	0,027577	0,1365	0,012021	0,1495	0,00495	0,144	0,016971
H			1,358	0,004243	0,1225	0,016263	0,153	0,008485	0,1615	0,013435	0,119	0,019799

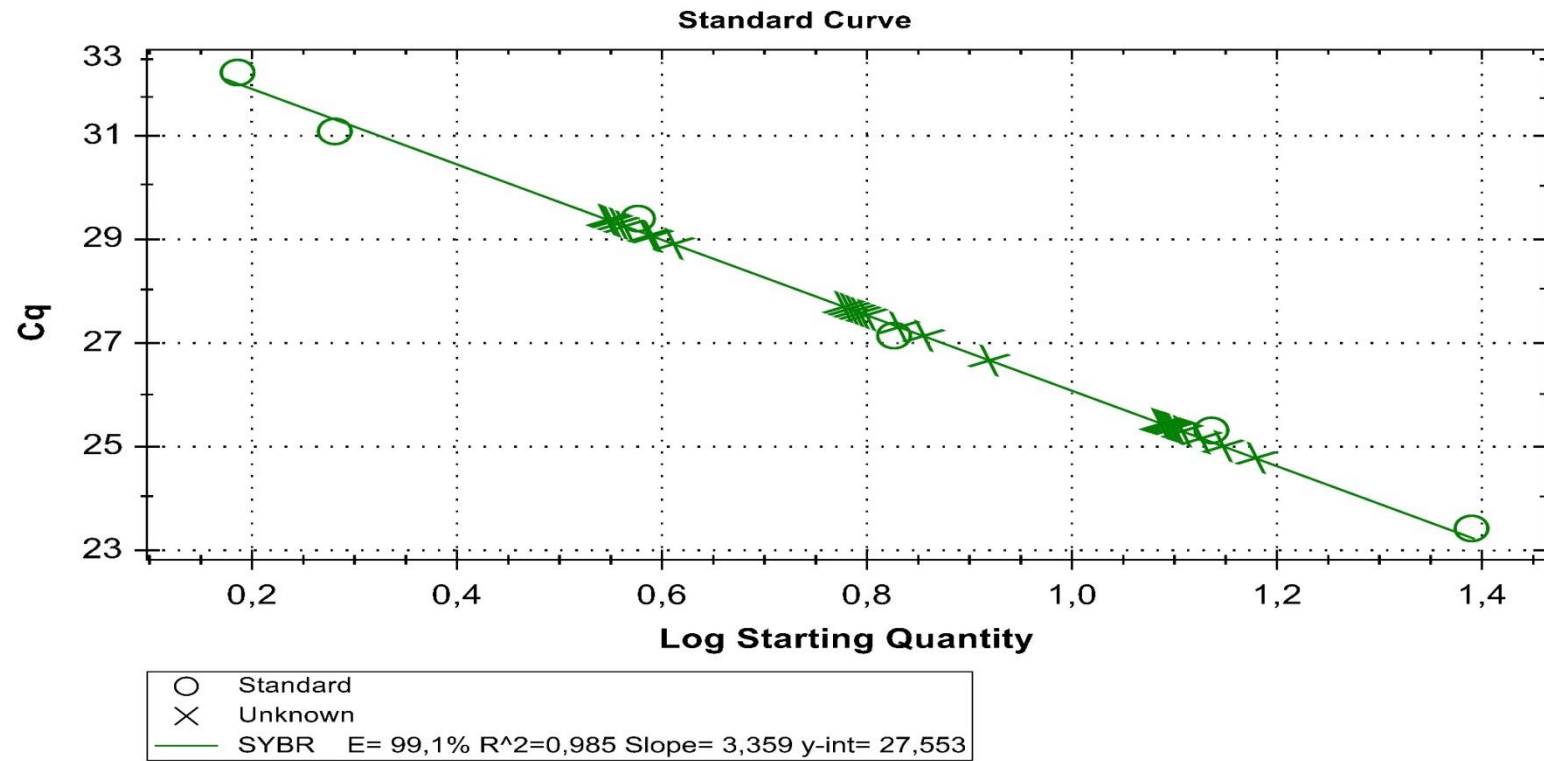
Tabel.3. Lampiran Hasil Pemeriksaan qPCR ekspresi gen Foxp3

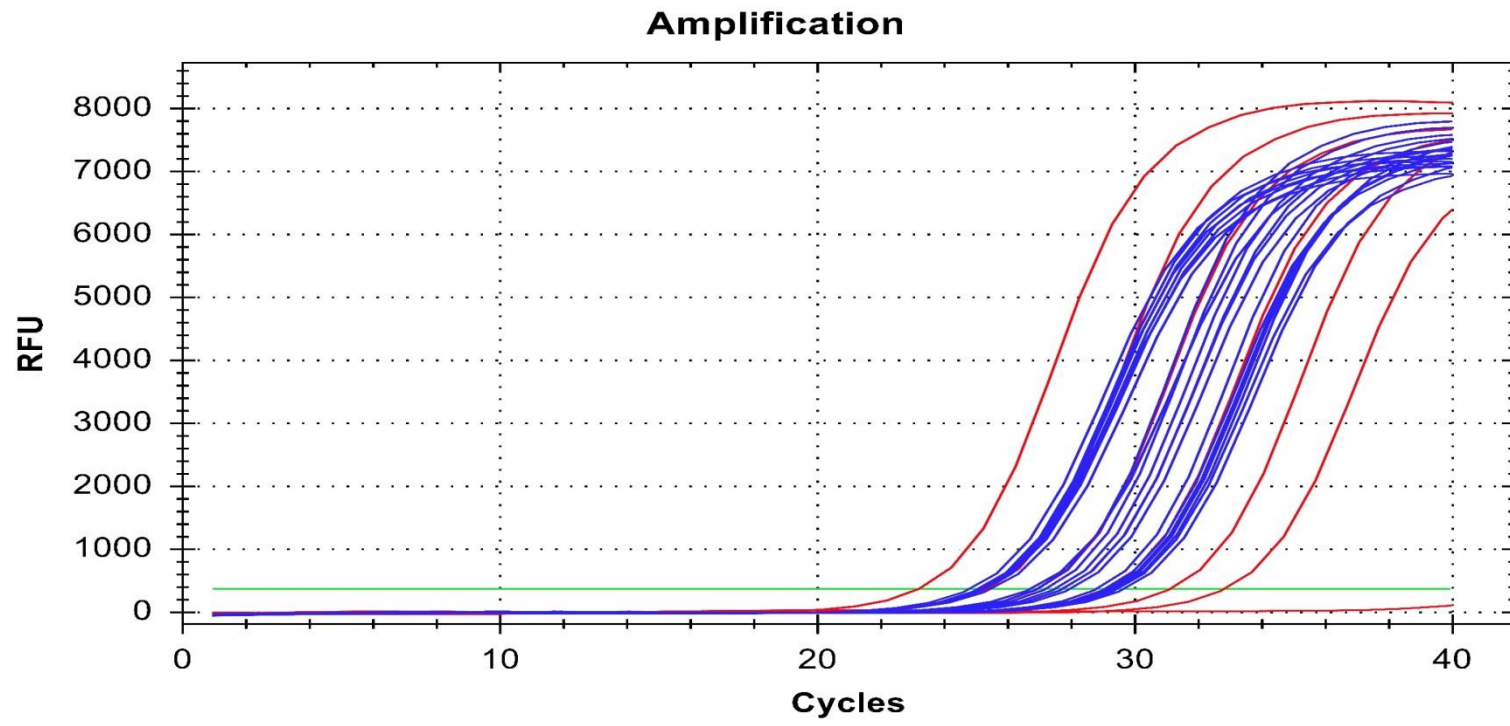
Sample	Cq	Cq Mean	Cq Std. Dev	Starting Quantity (SQ)	Log Starting Quantity	SQ Mean	SQ Std. Dev	Template	Log Template	Slope (dR)	Exp. mRNA	ER Mean	ER Std. Dev	Standart
Standard	23,21	23,21	0,085	1,98E+01	1,296	1,98E+01	0,085049	50,00000	1,69897	-3,359	14,08315976	14,07983	0,08505	Standart
Standard	23,13	23,21	0,085	1,99E+01	1,298	1,98E+01	0,085049	50,00000	1,69897	-3,359	14,16315976	14,07983	0,08505	Standart
Standard	23,30	23,21	0,085	1,97E+01	1,294	1,98E+01	0,085049	50,00000	1,69897	-3,359	13,99315976	14,07983	0,08505	Standart
B01	29,35	29,20	0,168	1,37E+01	1,135	1,38E+01	0,1680278	50,34600	1,70196	-3,359	7,93310	8,07977	0,16803	B1
B01	29,02	29,20	0,168	1,40E+01	1,146	1,38E+01	0,1680278	50,34600	1,70196	-3,359	8,26310	8,07977	0,16803	B1
B01	29,24	29,20	0,168	1,38E+01	1,139	1,38E+01	0,1680278	50,34600	1,70196	-3,359	8,04310	8,07977	0,16803	B1
C01	25,56	25,41	0,193	1,74E+01	1,242	1,76E+01	0,1929594	49,66000	1,69601	-3,359	11,74311	11,89645	0,19296	C1
C01	25,47	25,41	0,193	1,75E+01	1,244	1,76E+01	0,1929594	49,66000	1,69601	-3,359	11,83311	11,89645	0,19296	C1
C01	25,19	25,41	0,193	1,78E+01	1,251	1,76E+01	0,1929594	49,66000	1,69601	-3,359	12,11311	11,89645	0,19296	C1
D01	27,22	27,11	0,101	1,58E+01	1,198	1,59E+01	0,1006645	50,41900	1,70259	-3,359	10,06099	10,16765	0,10066	D1
D01	27,02	27,11	0,101	1,60E+01	1,204	1,59E+01	0,1006645	50,41900	1,70259	-3,359	10,26099	10,16765	0,10066	D1
D01	27,10	27,11	0,101	1,59E+01	1,201	1,59E+01	0,1006645	50,41900	1,70259	-3,359	10,18099	10,16765	0,10066	D1
Standard	25,13	25,24	0,095	1,79E+01	1,252	1,78E+01	0,0953939	25,00000	1,39794	-3,359	13,17431951	13,06432	0,09539	Standart
Standard	25,29	25,24	0,095	1,77E+01	1,248	1,78E+01	0,0953939	25,00000	1,39794	-3,359	13,01431951	13,06432	0,09539	Standart
Standard	25,30	25,24	0,095	1,77E+01	1,248	1,78E+01	0,0953939	25,00000	1,39794	-3,359	13,00431951	13,06432	0,09539	Standart
B02	29,63	29,41	0,195	1,34E+01	1,126	1,36E+01	0,1946792	50,55400	1,70376	-3,359	7,64709	7,86709	0,19468	B2
B02	29,34	29,41	0,195	1,37E+01	1,135	1,36E+01	0,1946792	50,55400	1,70376	-3,359	7,93709	7,86709	0,19468	B2
B02	29,26	29,41	0,195	1,37E+01	1,138	1,36E+01	0,1946792	50,55400	1,70376	-3,359	8,01709	7,86709	0,19468	B2
C02	25,40	25,29	0,110	1,76E+01	1,246	1,77E+01	0,1101514	50,26100	1,70123	-3,359	11,88556	11,99890	0,11015	C2
C02	25,28	25,29	0,110	1,77E+01	1,248	1,77E+01	0,1101514	50,26100	1,70123	-3,359	12,00556	11,99890	0,11015	C2
C02	25,18	25,29	0,110	1,78E+01	1,251	1,77E+01	0,1101514	50,26100	1,70123	-3,359	12,10556	11,99890	0,11015	C2

D02	27,38	27,35	0,232	1,56E+01	1,194	1,57E+01	0,2318045	50,43500	1,70273	-3,359	9,90052	9,93386	0,23180	D2
D02	27,10	27,35	0,232	1,59E+01	1,201	1,57E+01	0,2318045	50,43500	1,70273	-3,359	10,18052	9,93386	0,23180	D2
D02	27,56	27,35	0,232	1,54E+01	1,189	1,57E+01	0,2318045	50,43500	1,70273	-3,359	9,72052	9,93386	0,23180	D2
Standard	27,31	27,26	0,062	1,57E+01	1,196	1,57E+01	0,06245	12,50000	1,09691	-3,359	12,00547927	12,05548	0,06245	Standart
Standard	27,19	27,26	0,062	1,58E+01	1,199	1,57E+01	0,06245	12,50000	1,09691	-3,359	12,12547927	12,05548	0,06245	Standart
Standard	27,28	27,26	0,062	1,57E+01	1,196	1,57E+01	0,06245	12,50000	1,09691	-3,359	12,03547927	12,05548	0,06245	Standart
B03	29,59	29,30	0,281	1,34E+01	1,127	1,37E+01	0,2805352	50,31800	1,70172	-3,359	7,69391	7,98391	0,28054	B3
B03	29,28	29,30	0,281	1,37E+01	1,137	1,37E+01	0,2805352	50,31800	1,70172	-3,359	8,00391	7,98391	0,28054	B3
B03	29,03	29,30	0,281	1,40E+01	1,145	1,37E+01	0,2805352	50,31800	1,70172	-3,359	8,25391	7,98391	0,28054	B3
C03	25,12	25,32	0,188	1,79E+01	1,252	1,77E+01	0,1877054	50,21400	1,70082	-3,359	12,16693	11,96360	0,18771	C3
C03	25,36	25,32	0,188	1,76E+01	1,246	1,77E+01	0,1877054	50,21400	1,70082	-3,359	11,92693	11,96360	0,18771	C3
C03	25,49	25,32	0,188	1,75E+01	1,243	1,77E+01	0,1877054	50,21400	1,70082	-3,359	11,79693	11,96360	0,18771	C3
D03	27,69	27,55	0,151	1,53E+01	1,185	1,55E+01	0,1509967	50,25700	1,70120	-3,359	9,59568	9,73568	0,15100	D3
D03	27,39	27,55	0,151	1,56E+01	1,193	1,55E+01	0,1509967	50,25700	1,70120	-3,359	9,89568	9,73568	0,15100	D3
D03	27,57	27,55	0,151	1,54E+01	1,188	1,55E+01	0,1509967	50,25700	1,70120	-3,359	9,71568	9,73568	0,15100	D3
Standard	29,34	29,30	0,061	1,37E+01	1,135	1,37E+01	0,0608276	6,25000	0,79588	-3,359	10,98663902	11,02664	0,06083	Standart
Standard	29,33	29,30	0,061	1,37E+01	1,136	1,37E+01	0,0608276	6,25000	0,79588	-3,359	10,99663902	11,02664	0,06083	Standart
Standard	29,23	29,30	0,061	1,38E+01	1,139	1,37E+01	0,0608276	6,25000	0,79588	-3,359	11,09663902	11,02664	0,06083	Standart
B04	28,88	29,07	0,195	1,41E+01	1,150	1,39E+01	0,1951922	50,40100	1,70244	-3,359	8,40151	8,21151	0,19519	B4
B04	29,27	29,07	0,195	1,37E+01	1,138	1,39E+01	0,1951922	50,40100	1,70244	-3,359	8,01151	8,21151	0,19519	B4
B04	29,06	29,07	0,195	1,39E+01	1,144	1,39E+01	0,1951922	50,40100	1,70244	-3,359	8,22151	8,21151	0,19519	B4
C04	25,06	25,00	0,051	1,79E+01	1,254	1,80E+01	0,051316	50,34300	1,70194	-3,359	12,22319	12,27985	0,05132	C4
C04	24,96	25,00	0,051	1,80E+01	1,256	1,80E+01	0,051316	50,34300	1,70194	-3,359	12,32319	12,27985	0,05132	C4
C04	24,99	25,00	0,051	1,80E+01	1,256	1,80E+01	0,051316	50,34300	1,70194	-3,359	12,29319	12,27985	0,05132	C4
D04	27,11	27,60	0,452	1,59E+01	1,201	1,54E+01	0,4517743	50,32600	1,70179	-3,359	10,17368	9,68368	0,45177	D4
D04	27,69	27,60	0,452	1,53E+01	1,185	1,54E+01	0,4517743	50,32600	1,70179	-3,359	9,59368	9,68368	0,45177	D4
D04	28,00	27,60	0,452	1,50E+01	1,176	1,54E+01	0,4517743	50,32600	1,70179	-3,359	9,28368	9,68368	0,45177	D4
Standard	31,17	31,25	0,202	1,18E+01	1,073	1,18E+01	0,2022375	3,12500	0,49485	-3,359	10,16779878	10,08780	0,20224	Standart

Standard	31,48	31,25	0,202	1,15E+01	1,061	1,18E+01	0,2022375	3,12500	0,49485	-3,359	9,857798777	10,08780	0,20224	Standart
Standard	31,10	31,25	0,202	1,19E+01	1,076	1,18E+01	0,2022375	3,12500	0,49485	-3,359	10,23779878	10,08780	0,20224	Standart
B05	29,01	28,97	0,093	1,40E+01	1,146	1,40E+01	0,0929157	50,44500	1,70282	-3,359	8,27023	8,31357	0,09292	B5
B05	28,86	28,97	0,093	1,41E+01	1,150	1,40E+01	0,0929157	50,44500	1,70282	-3,359	8,42023	8,31357	0,09292	B5
B05	29,03	28,97	0,093	1,40E+01	1,145	1,40E+01	0,0929157	50,44500	1,70282	-3,359	8,25023	8,31357	0,09292	B5
C05	25,39	25,34	0,127	1,76E+01	1,246	1,77E+01	0,1266228	50,08800	1,69973	-3,359	11,90059	11,94726	0,12662	C5
C05	25,20	25,34	0,127	1,78E+01	1,250	1,77E+01	0,1266228	50,08800	1,69973	-3,359	12,09059	11,94726	0,12662	C5
C05	25,44	25,34	0,127	1,76E+01	1,245	1,77E+01	0,1266228	50,08800	1,69973	-3,359	11,85059	11,94726	0,12662	C5
D05	27,73	27,77	0,053	1,53E+01	1,184	1,52E+01	0,052915	50,04300	1,69934	-3,359	9,56191	9,52191	0,05292	D5
D05	27,83	27,77	0,053	1,52E+01	1,181	1,52E+01	0,052915	50,04300	1,69934	-3,359	9,46191	9,52191	0,05292	D5
D05	27,75	27,77	0,053	1,53E+01	1,183	1,52E+01	0,052915	50,04300	1,69934	-3,359	9,54191	9,52191	0,05292	D5
Standard	32,33	32,42	0,114	1,07E+01	1,028	1,06E+01	0,1137248	1,56200	0,19368	-3,359	10,01942542	9,92609	0,11372	Standart
Standard	32,55	32,42	0,114	1,05E+01	1,019	1,06E+01	0,1137248	1,56200	0,19368	-3,359	9,799425422	9,92609	0,11372	Standart
Standard	32,39	32,42	0,114	1,06E+01	1,026	1,06E+01	0,1137248	1,56200	0,19368	-3,359	9,959425422	9,92609	0,11372	Standart
B06	29,55	29,45	0,289	1,35E+01	1,129	1,36E+01	0,2891943	50,23700	1,70102	-3,359	7,73626	7,83959	0,28919	B6
B06	29,67	29,45	0,289	1,33E+01	1,125	1,36E+01	0,2891943	50,23700	1,70102	-3,359	7,61626	7,83959	0,28919	B6
B06	29,12	29,45	0,289	1,39E+01	1,142	1,36E+01	0,2891943	50,23700	1,70102	-3,359	8,16626	7,83959	0,28919	B6
C06	25,58	25,46	0,515	1,74E+01	1,241	1,75E+01	0,5150081	50,19200	1,70063	-3,359	11,70757	11,82424	0,51501	C6
C06	25,91	25,46	0,515	1,71E+01	1,233	1,75E+01	0,5150081	50,19200	1,70063	-3,359	11,37757	11,82424	0,51501	C6
C06	24,90	25,46	0,515	1,81E+01	1,258	1,75E+01	0,5150081	50,19200	1,70063	-3,359	12,38757	11,82424	0,51501	C6
D06	27,71	27,58	0,161	1,53E+01	1,184	1,54E+01	0,1609348	50,18100	1,70054	-3,359	9,57789	9,70789	0,16093	D6
D06	27,40	27,58	0,161	1,56E+01	1,193	1,54E+01	0,1609348	50,18100	1,70054	-3,359	9,88789	9,70789	0,16093	D6
D06	27,63	27,58	0,161	1,54E+01	1,187	1,54E+01	0,1609348	50,18100	1,70054	-3,359	9,65789	9,70789	0,16093	D6
Neg	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Neg	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Neg	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
B07	29,14	29,05	0,085	1,39E+01	1,142	1,39E+01	0,085049	50,35200	1,70202	-3,359	8,14293	8,22959	0,08505	B7
B07	29,05	29,05	0,085	1,40E+01	1,145	1,39E+01	0,085049	50,35200	1,70202	-3,359	8,23293	8,22959	0,08505	B7

B07	28,97	29,05	0,085	1,40E+01	1,147	1,39E+01	0,085049	50,35200	1,70202	-3,359	8,31293	8,22959	0,08505	B7
C07	25,69	25,12	0,491	1,73E+01	1,238	1,79E+01	0,4911551	50,30500	1,70161	-3,359	11,59429	12,16095	0,49116	C7
C07	24,86	25,12	0,491	1,81E+01	1,259	1,79E+01	0,4911551	50,30500	1,70161	-3,359	12,42429	12,16095	0,49116	C7
C07	24,82	25,12	0,491	1,82E+01	1,260	1,79E+01	0,4911551	50,30500	1,70161	-3,359	12,46429	12,16095	0,49116	C7
D07	27,62	27,67	0,146	1,54E+01	1,187	1,72E+01	0,1457166	50,19600	1,70067	-3,359	9,66745	9,62079	0,14572	D7
D07	27,83	27,67	0,146	1,52E+01	1,181	1,62E+01	0,1457166	50,19600	1,70067	-3,359	9,45745	9,62079	0,14572	D7
D07	27,55	27,67	0,146	1,55E+01	1,189	1,53E+01	0,1457166	50,19600	1,70067	-3,359	9,73745	9,62079	0,14572	D7
B08	29,58	29,40	0,218	1,34E+01	1,128	1,36E+01	0,2177919	50,18500	1,70057	-3,359	7,70777	7,88444	0,21779	B8
B08	29,47	29,40	0,218	1,35E+01	1,131	1,36E+01	0,2177919	50,18500	1,70057	-3,359	7,81777	7,88444	0,21779	B8
B08	29,16	29,40	0,218	1,38E+01	1,141	1,36E+01	0,2177919	50,18500	1,70057	-3,359	8,12777	7,88444	0,21779	B8
C08	24,79	24,74	0,142	1,82E+01	1,260	1,83E+01	0,1417745	49,84600	1,69763	-3,359	12,50766	12,55766	0,14177	C8
C08	24,85	24,74	0,142	1,82E+01	1,259	1,83E+01	0,1417745	49,84600	1,69763	-3,359	12,44766	12,55766	0,14177	C8
C08	24,58	24,74	0,142	1,84E+01	1,265	1,83E+01	0,1417745	49,84600	1,69763	-3,359	12,71766	12,55766	0,14177	C8
D08	26,78	26,66	0,153	1,62E+01	1,210	1,76E+01	0,1530795	50,21100	1,70080	-3,359	10,50702	10,62368	0,15308	D8
D08	26,49	26,66	0,153	1,65E+01	1,218	1,71E+01	0,1530795	50,21100	1,70080	-3,359	10,79702	10,62368	0,15308	D8
D08	26,72	26,66	0,153	1,63E+01	1,212	1,63E+01	0,1530795	50,21100	1,70080	-3,359	10,56702	10,62368	0,15308	D8





Tabel.3. Lampiran Hasil Pemeriksaan qPCR ekspresi gen Foxp3 (2)

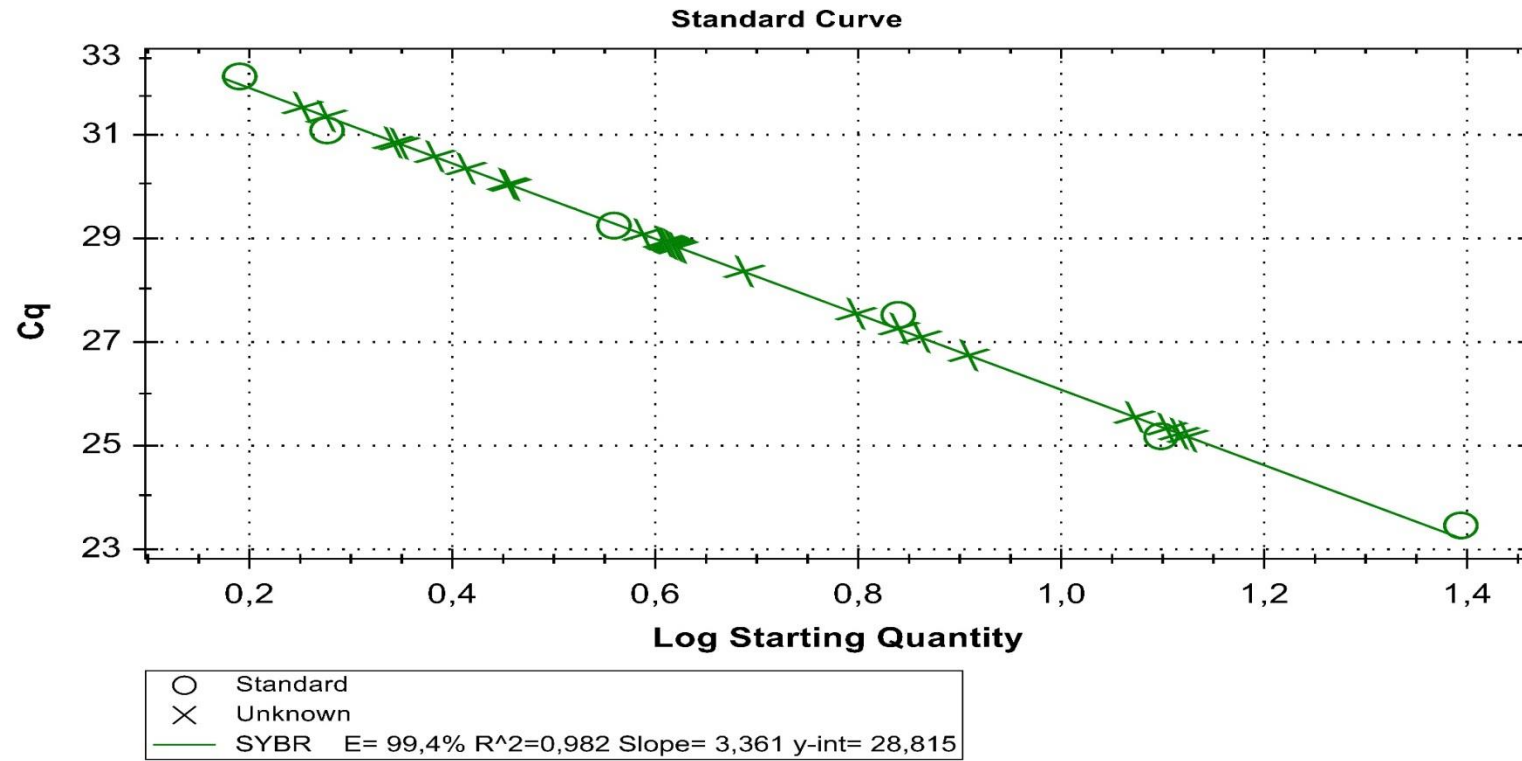
Sample	Cq	Cq Mean	Cq Std. Dev	Starting Quantity (SQ)	Log Starting Quantity	SQ Mean	SQ Std. Dev	Template	Log Template	Slope (dR)	Exp. mRNA	ER Mean	ER Std. Dev	
Standard	23,37	23,37	0,025	1,96E+01	1,293	1,96E+01	0,0251661	50,00000	1,69897	- 3,361	13,91976182	13,92310	0,02517	STANDART
Standard	23,34	23,37	0,025	1,97E+01	1,294	1,96E+01	0,0251661	50,00000	1,69897	- 3,361	13,94976182	13,92310	0,02517	STANDART
Standard	23,39	23,37	0,025	1,96E+01	1,292	1,96E+01	0,0251661	50,00000	1,69897	- 3,361	13,89976182	13,92310	0,02517	STANDART
B09	28,46	28,37	0,090	1,45E+01	1,163	1,46E+01	0,09	50,34800	1,70198	- 3,361	8,81964	8,90964	0,09000	B9
B09	28,28	28,37	0,090	1,47E+01	1,168	1,46E+01	0,09	50,34800	1,70198	- 3,361	8,99964	8,90964	0,09000	B9
B09	28,37	28,37	0,090	1,46E+01	1,165	1,46E+01	0,09	50,34800	1,70198	- 3,361	8,90964	8,90964	0,09000	B9
C09	25,72	25,58	0,145	1,73E+01	1,238	1,74E+01	0,1450287	49,55300	1,69507	- 3,361	11,58287	11,72620	0,14503	C9
C09	25,58	25,58	0,145	1,74E+01	1,241	1,74E+01	0,1450287	49,55300	1,69507	- 3,361	11,72287	11,72620	0,14503	C9
C09	25,43	25,58	0,145	1,76E+01	1,245	1,74E+01	0,1450287	49,55300	1,69507	- 3,361	11,87287	11,72620	0,14503	C9
D09	27,38	27,28	0,117	1,56E+01	1,194	1,57E+01	0,1167619	50,40100	1,70244	- 3,361	9,89810	10,00144	0,11676	D9
D09	27,15	27,28	0,117	1,59E+01	1,200	1,57E+01	0,1167619	50,40100	1,70244	- 3,361	10,12810	10,00144	0,11676	D9
D09	27,30	27,28	0,117	1,57E+01	1,196	1,57E+01	0,1167619	50,40100	1,70244	- 3,361	9,97810	10,00144	0,11676	D9
Standard	25,36	25,40	0,061	1,76E+01	1,246	1,76E+01	0,0608276	25,00000	1,39794	- 3,361	12,94152363	12,90152	0,06083	STANDART
Standard	25,37	25,40	0,061	1,76E+01	1,246	1,76E+01	0,0608276	25,00000	1,39794	- 3,361	12,93152363	12,90152	0,06083	STANDART
Standard	25,47	25,40	0,061	1,75E+01	1,244	1,76E+01	0,0608276	25,00000	1,39794	- 3,361	12,83152363	12,90152	0,06083	STANDART
B10	28,79	28,85	0,074	1,42E+01	1,153	1,42E+01	0,0737111	50,40700	1,70249	- 3,361	8,48793	8,43126	0,07371	B10
B10	28,82	28,85	0,074	1,42E+01	1,152	1,42E+01	0,0737111	50,40700	1,70249	- 3,361	8,45793	8,43126	0,07371	B10

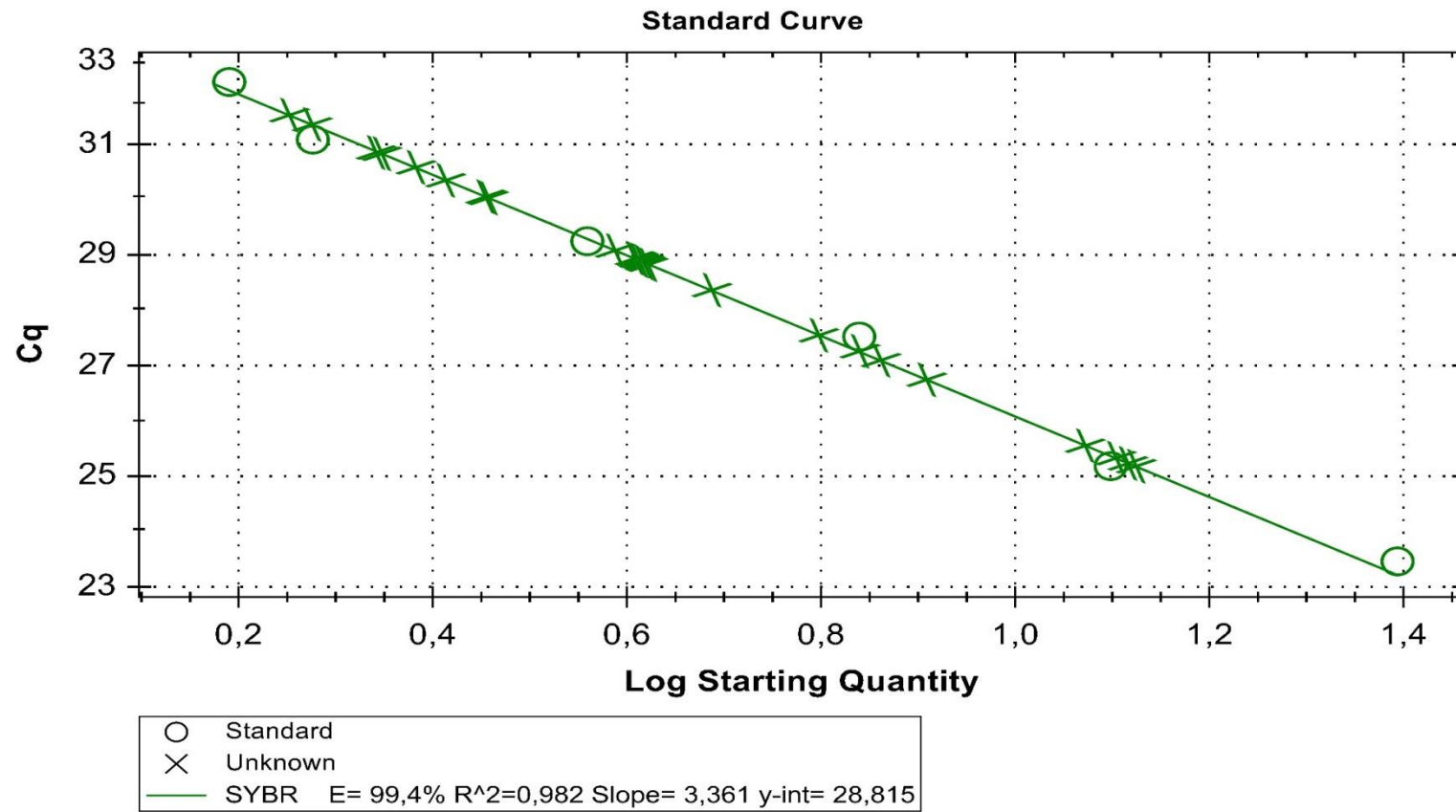
B10	28,93	28,85	0,074	1,41E+01	1,148	1,42E+01	0,0737111	50,40700	1,70249	- 3,361	8,34793	8,43126	0,07371	B10
C10	25,52	25,42	0,119	1,75E+01	1,243	1,76E+01	0,1193035	50,16000	1,70036	- 3,361	11,76510	11,86177	0,11930	C10
C10	25,46	25,42	0,119	1,75E+01	1,244	1,76E+01	0,1193035	50,16000	1,70036	- 3,361	11,82510	11,86177	0,11930	C10
C10	25,29	25,42	0,119	1,77E+01	1,248	1,76E+01	0,1193035	50,16000	1,70036	- 3,361	11,99510	11,86177	0,11930	C10
D10	27,55	27,54	0,190	1,55E+01	1,189	1,55E+01	0,1903506	50,24800	1,70112	- 3,361	9,73254	9,74587	0,19035	D10
D10	27,34	27,54	0,190	1,57E+01	1,195	1,55E+01	0,1903506	50,24800	1,70112	- 3,361	9,94254	9,74587	0,19035	D10
D10	27,72	27,54	0,190	1,53E+01	1,184	1,55E+01	0,1903506	50,24800	1,70112	- 3,361	9,56254	9,74587	0,19035	D10
Standard	27,48	27,42	0,067	1,55E+01	1,191	1,56E+01	0,0665833	12,50000	1,09691	- 3,361	11,83328545	11,88995	0,06658	STANDART
Standard	27,44	27,42	0,067	1,56E+01	1,192	1,56E+01	0,0665833	12,50000	1,09691	- 3,361	11,87328545	11,88995	0,06658	STANDART
Standard	27,35	27,42	0,067	1,57E+01	1,195	1,56E+01	0,0665833	12,50000	1,09691	- 3,361	11,96328545	11,88995	0,06658	STANDART
B11	28,98	28,93	0,050	1,40E+01	1,147	1,41E+01	0,0503322	50,26200	1,70124	- 3,361	8,30213	8,34880	0,05033	B11
B11	28,94	28,93	0,050	1,41E+01	1,148	1,41E+01	0,0503322	50,26200	1,70124	- 3,361	8,34213	8,34880	0,05033	
B11	28,88	28,93	0,050	1,41E+01	1,150	1,41E+01	0,0503322	50,26200	1,70124	- 3,361	8,40213	8,34880	0,05033	
C11	25,08	25,28	0,206	1,79E+01	1,253	1,77E+01	0,2055075	50,17000	1,70044	- 3,361	12,20481	12,00814	0,20551	C11
C11	25,49	25,28	0,206	1,75E+01	1,243	1,77E+01	0,2055075	50,17000	1,70044	- 3,361	11,79481	12,00814	0,20551	
C11	25,26	25,28	0,206	1,77E+01	1,249	1,77E+01	0,2055075	50,17000	1,70044	- 3,361	12,02481	12,00814	0,20551	
D11	26,78	26,70	0,091	1,62E+01	1,210	1,63E+01	0,0907377	50,21400	1,70082	- 3,361	10,50353	10,58686	0,09074	D11
D11	26,60	26,70	0,091	1,64E+01	1,215	1,63E+01	0,0907377	50,21400	1,70082	- 3,361	10,68353	10,58686	0,09074	
D11	26,71	26,70	0,091	1,63E+01	1,212	1,63E+01	0,0907377	50,21400	1,70082	- 3,361	10,57353	10,58686	0,09074	
Standard	29,55	29,47	0,104	1,35E+01	1,129	1,35E+01	0,1040833	6,25000	0,79588	- 3,361	10,77504726	10,85838	0,10408	STANDART
Standard	29,50	29,47	0,104	1,35E+01	1,130	1,35E+01	0,1040833	6,25000	0,79588	- 3,361	10,82504726	10,85838	0,10408	STANDART

Standard	29,35	29,47	0,104	1,37E+01	1,135	1,35E+01	0,1040833	6,25000	0,79588	- 3,361	10,97504726	10,85838	0,10408	STANDART
B12	28,68	28,81	0,136	1,43E+01	1,156	1,42E+01	0,1357694	50,36000	1,70209	- 3,361	8,59929	8,47262	0,13577	B12
B12	28,95	28,81	0,136	1,41E+01	1,148	1,42E+01	0,1357694	50,36000	1,70209	- 3,361	8,32929	8,47262	0,13577	
B12	28,79	28,81	0,136	1,42E+01	1,153	1,42E+01	0,1357694	50,36000	1,70209	- 3,361	8,48929	8,47262	0,13577	
C12	25,18	25,16	0,015	1,78E+01	1,251	1,78E+01	0,0152753	50,29100	1,70149	- 3,361	12,10129	12,11796	0,01528	C12
C12	25,15	25,16	0,015	1,79E+01	1,252	1,78E+01	0,0152753	50,29100	1,70149	- 3,361	12,13129	12,11796	0,01528	
C12	25,16	25,16	0,015	1,78E+01	1,251	1,78E+01	0,0152753	50,29100	1,70149	- 3,361	12,12129	12,11796	0,01528	
D12	27,23	27,07	0,203	1,58E+01	1,198	1,59E+01	0,2025669	50,24700	1,70111	- 3,361	10,05257	10,21590	0,20257	D12
D12	26,84	27,07	0,203	1,62E+01	1,208	1,59E+01	0,2025669	50,24700	1,70111	- 3,361	10,44257	10,21590	0,20257	
D12	27,13	27,07	0,203	1,59E+01	1,201	1,59E+01	0,2025669	50,24700	1,70111	- 3,361	10,15257	10,21590	0,20257	
Standard	31,43	31,45	0,097	1,16E+01	1,063	1,15E+01	0,0971253	3,12500	0,49485	- 3,361	9,906809077	9,88348	0,09713	STANDART
Standard	31,56	31,45	0,097	1,14E+01	1,058	1,15E+01	0,0971253	3,12500	0,49485	- 3,361	9,776809077	9,88348	0,09713	STANDART
Standard	31,37	31,45	0,097	1,16E+01	1,066	1,15E+01	0,0971253	3,12500	0,49485	- 3,361	9,966809077	9,88348	0,09713	STANDART
B13	29,13	29,12	0,061	1,39E+01	1,142	1,39E+01	0,061101	50,40600	1,70248	- 3,361	8,14796	8,16129	0,06110	B13
B13	29,05	29,12	0,061	1,40E+01	1,145	1,39E+01	0,061101	50,40600	1,70248	- 3,361	8,22796	8,16129	0,06110	
B13	29,17	29,12	0,061	1,38E+01	1,141	1,39E+01	0,061101	50,40600	1,70248	- 3,361	8,10796	8,16129	0,06110	
C13	30,66	30,52	0,146	1,23E+01	1,091	1,25E+01	0,1457166	50,05000	1,69940	- 3,361	6,62830	6,76497	0,14572	C13
C13	30,37	30,52	0,146	1,26E+01	1,101	1,25E+01	0,1457166	50,05000	1,69940	- 3,361	6,91830	6,76497	0,14572	
C13	30,54	30,52	0,146	1,25E+01	1,096	1,25E+01	0,1457166	50,05000	1,69940	- 3,361	6,74830	6,76497	0,14572	
D13	31,46	31,46	0,060	1,15E+01	1,062	1,15E+01	0,06	49,98400	1,69883	- 3,361	5,83023	5,83023	0,06000	D13
D13	31,40	31,46	0,060	1,16E+01	1,064	1,15E+01	0,06	49,98400	1,69883	- 3,361	5,89023	5,83023	0,06000	

D13	31,52	31,46	0,060	1,15E+01	1,060	1,15E+01	0,06	49,98400	1,69883	-	5,77023	5,83023	0,06000	
Standard	32,49	32,59	0,091	1,05E+01	1,022	1,04E+01	0,0907377	1,56200	0,19368	3,361	9,85903806	9,75570	0,09074	STANDART
Standard	32,66	32,59	0,091	1,03E+01	1,015	1,04E+01	0,0907377	1,56200	0,19368	3,361	9,68903806	9,75570	0,09074	STANDART
Standard	32,63	32,59	0,091	1,04E+01	1,016	1,04E+01	0,0907377	1,56200	0,19368	3,361	9,71903806	9,75570	0,09074	STANDART
B14	28,71	28,84	0,159	1,43E+01	1,155	1,42E+01	0,1594783	50,10100	1,69985	3,361	8,57682	8,44348	0,15948	B14
B14	28,80	28,84	0,159	1,42E+01	1,152	1,42E+01	0,1594783	50,10100	1,69985	3,361	8,48682	8,44348	0,15948	
B14	29,02	28,84	0,159	1,40E+01	1,146	1,42E+01	0,1594783	50,10100	1,69985	3,361	8,26682	8,44348	0,15948	
C14	29,81	29,96	0,133	1,32E+01	1,120	1,30E+01	0,1331666	50,09900	1,69983	3,361	7,47687	7,33021	0,13317	C14
C14	29,99	29,96	0,133	1,30E+01	1,114	1,30E+01	0,1331666	50,09900	1,69983	3,361	7,29687	7,33021	0,13317	
C14	30,07	29,96	0,133	1,29E+01	1,112	1,30E+01	0,1331666	50,09900	1,69983	3,361	7,21687	7,33021	0,13317	
D14	30,87	30,74	0,163	1,21E+01	1,084	1,23E+01	0,1625833	50,00800	1,69904	3,361	6,41953	6,54619	0,16258	D14
D14	30,56	30,74	0,163	1,24E+01	1,095	1,23E+01	0,1625833	50,00800	1,69904	3,361	6,72953	6,54619	0,16258	
D14	30,80	30,74	0,163	1,22E+01	1,086	1,23E+01	0,1625833	50,00800	1,69904	3,361	6,48953	6,54619	0,16258	
Neg	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	
Neg	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	
Neg	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	
B15	28,85	28,87	0,186	1,42E+01	1,151	1,41E+01	0,1855622	50,19600	1,70067	3,361	8,43405	8,41738	0,18556	B15
B15	29,06	28,87	0,186	1,39E+01	1,144	1,41E+01	0,1855622	50,19600	1,70067	3,361	8,22405	8,41738	0,18556	
B15	28,69	28,87	0,186	1,43E+01	1,156	1,41E+01	0,1855622	50,19600	1,70067	3,361	8,59405	8,41738	0,18556	
C15	29,87	29,97	0,096	1,31E+01	1,118	1,30E+01	0,0960902	50,19700	1,70068	3,361	7,41402	7,31069	0,09609	C15
C15	30,06	29,97	0,096	1,29E+01	1,112	1,30E+01	0,0960902	50,19700	1,70068	3,361	7,22402	7,31069	0,09609	
C15	29,99	29,97	0,096	1,30E+01	1,114	1,30E+01	0,0960902	50,19700	1,70068	3,361	7,29402	7,31069	0,09609	

D15	30,62	30,80	0,167	1,24E+01	1,093	1,28E+01	0,1670329	50,14600	1,70024	- 3,361	6,66551	6,48551	0,16703	D15
D15	30,83	30,80	0,167	1,22E+01	1,085	1,25E+01	0,1670329	50,14600	1,70024	- 3,361	6,45551	6,48551	0,16703	
D15	30,95	30,80	0,167	1,21E+01	1,081	1,22E+01	0,1670329	50,14600	1,70024	- 3,361	6,33551	6,48551	0,16703	
B16	28,78	28,90	0,150	1,42E+01	1,153	1,41E+01	0,1497776	50,14500	1,70023	- 3,361	8,50553	8,38220	0,14978	B16
B16	29,07	28,90	0,150	1,39E+01	1,144	1,41E+01	0,1497776	50,14500	1,70023	- 3,361	8,21553	8,38220	0,14978	
B16	28,86	28,90	0,150	1,41E+01	1,150	1,41E+01	0,1497776	50,14500	1,70023	- 3,361	8,42553	8,38220	0,14978	
C16	30,19	30,34	0,210	1,28E+01	1,108	1,27E+01	0,21	49,82600	1,69746	- 3,361	7,10485	6,95485	0,21000	C16
C16	30,25	30,34	0,210	1,28E+01	1,106	1,27E+01	0,21	49,82600	1,69746	- 3,361	7,04485	6,95485	0,21000	
C16	30,58	30,34	0,210	1,24E+01	1,094	1,27E+01	0,21	49,82600	1,69746	- 3,361	6,71485	6,95485	0,21000	
D16	31,78	31,66	0,153	1,12E+01	1,050	1,21E+01	0,1530795	50,16100	1,70037	- 3,361	5,50507	5,62174	0,15308	D16
D16	31,49	31,66	0,153	1,15E+01	1,061	1,17E+01	0,1530795	50,16100	1,70037	- 3,361	5,79507	5,62174	0,15308	
D16	31,72	31,66	0,153	1,13E+01	1,052	1,13E+01	0,1530795	50,16100	1,70037	- 3,361	5,56507	5,62174	0,15308	

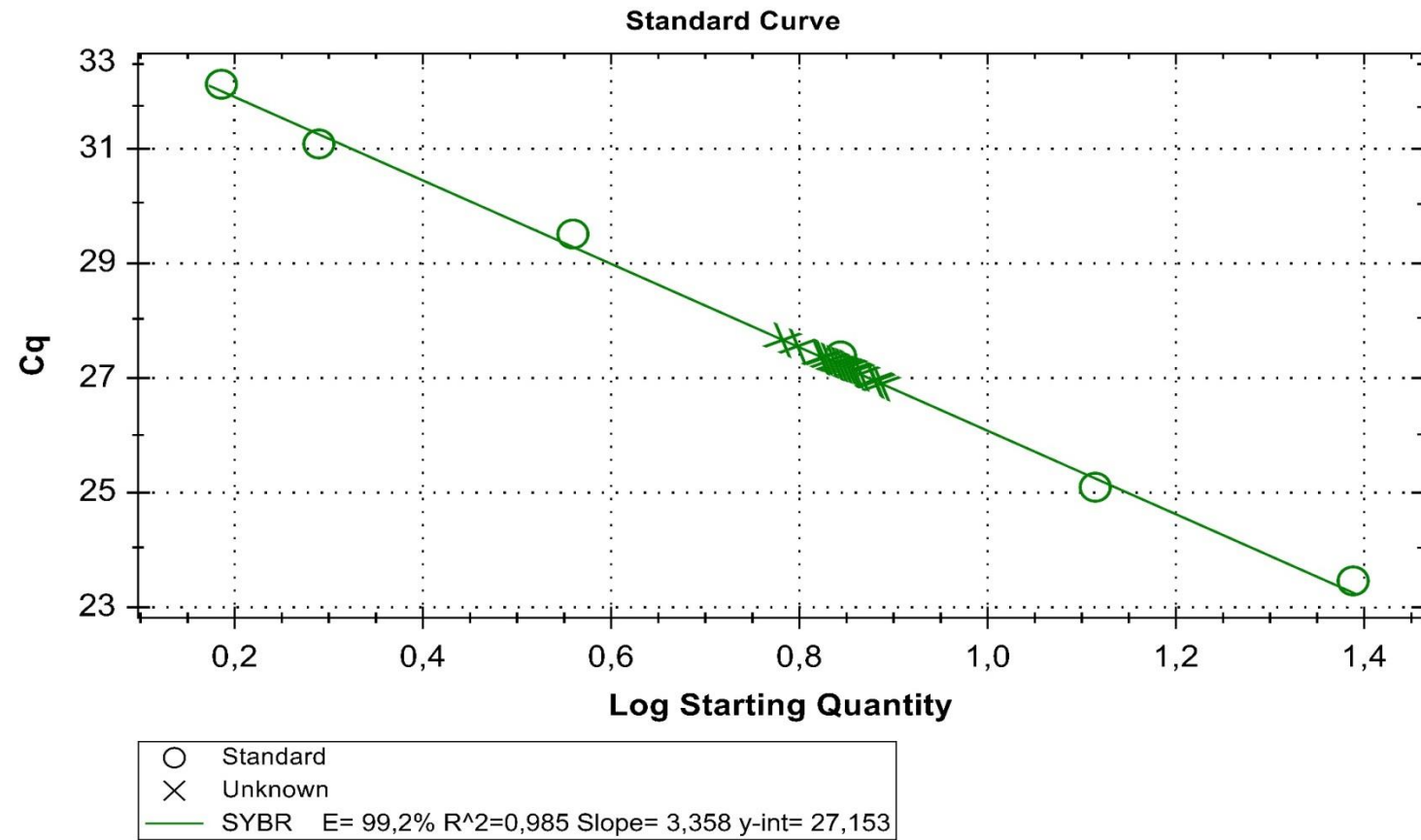


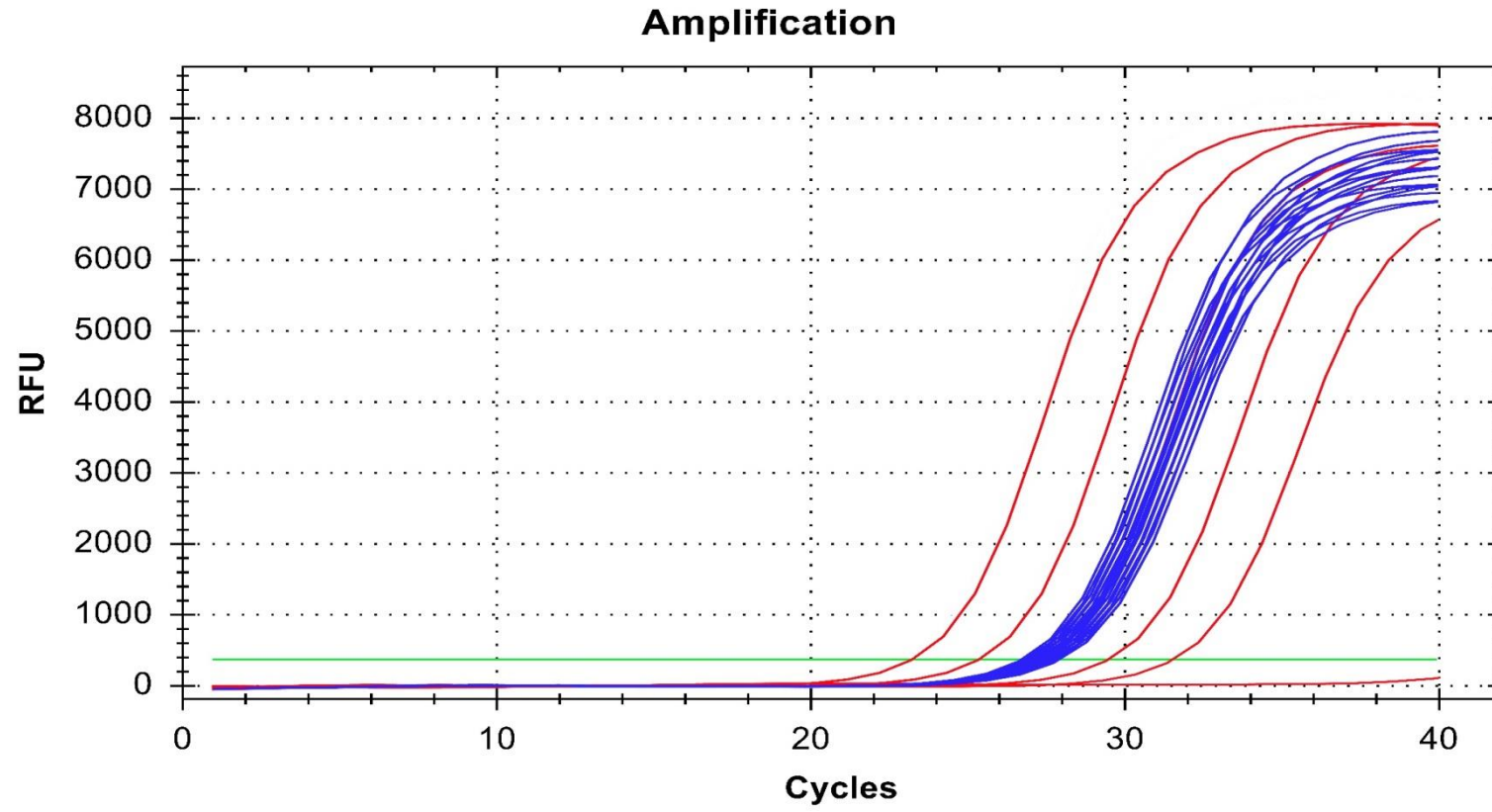


Tabel.3. Lampiran Hasil Pemeriksaan qPCR ekspresi gen Foxp3 (3)

Sample	Cq	Cq Mean	Cq Std. Dev	Starting Quantity (SQ)	Log Starting Quantity	SQ Mean	SQ Std. Dev	Template	Log Template	Slope (dR)	Exp. mRNA	ER Mean	ER Std. Dev	
Standard	23,21	23,26	0,117	1,98E+01	1,296	1,97E+01	0,1171893	50,00000	1,69897	-3,358	14,08485873	14,03819	0,11719	STANDART
Standard	23,39	23,26	0,117	1,96E+01	1,292	1,97E+01	0,1171893	50,00000	1,69897	-3,358	13,90485873	14,03819	0,11719	STANDART
Standard	23,17	23,26	0,117	1,98E+01	1,297	1,97E+01	0,1171893	50,00000	1,69897	-3,358	14,12485873	14,03819	0,11719	STANDART
A17	27,13	27,21	0,156	1,59E+01	1,201	1,58E+01	0,156205	50,06800	1,69956	-3,358	10,16288	10,08288	0,15620	A17
A17	27,11	27,21	0,156	1,59E+01	1,201	1,58E+01	0,156205	50,06800	1,69956	-3,358	10,18288	10,08288	0,15620	
A17	27,39	27,21	0,156	1,56E+01	1,193	1,58E+01	0,156205	50,06800	1,69956	-3,358	9,90288	10,08288	0,15620	
B17	27,08	26,96	0,265	1,59E+01	1,202	1,60E+01	0,2650157	49,21800	1,69212	-3,358	10,23785	10,35451	0,26502	B17
B17	27,15	26,96	0,265	1,59E+01	1,200	1,60E+01	0,2650157	49,21800	1,69212	-3,358	10,16785	10,35451	0,26502	
B17	26,66	26,96	0,265	1,63E+01	1,213	1,60E+01	0,2650157	49,21800	1,69212	-3,358	10,65785	10,35451	0,26502	
C17	27,12	27,08	0,183	1,59E+01	1,201	1,59E+01	0,183303	50,19700	1,70068	-3,358	10,16912	10,20912	0,18330	C17
C17	27,24	27,08	0,183	1,58E+01	1,198	1,59E+01	0,183303	50,19700	1,70068	-3,358	10,04912	10,20912	0,18330	
C17	26,88	27,08	0,183	1,61E+01	1,207	1,59E+01	0,183303	50,19700	1,70068	-3,358	10,40912	10,20912	0,18330	
Standard	25,27	25,28	0,012	1,77E+01	1,249	1,77E+01	0,011547	25,00000	1,39794	-3,358	13,03571745	13,02905	0,01155	STANDART
Standard	25,29	25,28	0,012	1,77E+01	1,248	1,77E+01	0,011547	25,00000	1,39794	-3,358	13,01571745	13,02905	0,01155	STANDART
Standard	25,27	25,28	0,012	1,77E+01	1,249	1,77E+01	0,011547	25,00000	1,39794	-3,358	13,03571745	13,02905	0,01155	STANDART
D17	27,47	27,57	0,224	1,55E+01	1,191	1,54E+01	0,2236813	49,99400	1,69892	-3,358	9,82503	9,72170	0,22368	D17
D17	27,42	27,57	0,224	1,56E+01	1,193	1,54E+01	0,2236813	49,99400	1,69892	-3,358	9,87503	9,72170	0,22368	
D17	27,83	27,57	0,224	1,52E+01	1,181	1,54E+01	0,2236813	49,99400	1,69892	-3,358	9,46503	9,72170	0,22368	
A18	27,23	27,15	0,071	1,58E+01	1,198	1,58E+01	0,070946	49,85300	1,69769	-3,358	10,06915	10,14582	0,07095	A18
A18	27,09	27,15	0,071	1,59E+01	1,202	1,58E+01	0,070946	49,85300	1,69769	-3,358	10,20915	10,14582	0,07095	
A18	27,14	27,15	0,071	1,59E+01	1,200	1,58E+01	0,070946	49,85300	1,69769	-3,358	10,15915	10,14582	0,07095	

B18	27,28	27,28	0,110	1,57E+01	1,196	1,57E+01	0,11	49,80500	1,69727	-3,358	10,02056	10,02056	0,11000	B18
B18	27,39	27,28	0,110	1,56E+01	1,193	1,57E+01	0,11	49,80500	1,69727	-3,358	9,91056	10,02056	0,11000	
B18	27,17	27,28	0,110	1,58E+01	1,199	1,57E+01	0,11	49,80500	1,69727	-3,358	10,13056	10,02056	0,11000	
Standard	27,36	27,39	0,030	1,56E+01	1,194	1,56E+01	0,03	12,50000	1,09691	-3,358	11,95657618	11,92658	0,03000	STANDART
Standard	27,42	27,39	0,030	1,56E+01	1,193	1,56E+01	0,03	12,50000	1,09691	-3,358	11,89657618	11,92658	0,03000	STANDART
Standard	27,39	27,39	0,030	1,56E+01	1,193	1,56E+01	0,03	12,50000	1,09691	-3,358	11,92657618	11,92658	0,03000	STANDART
C18	27,53	27,41	0,256	1,55E+01	1,189	1,56E+01	0,2557994	50,00200	1,69899	-3,358	9,76480	9,88147	0,25580	C18
C18	27,59	27,41	0,256	1,54E+01	1,188	1,56E+01	0,2557994	50,00200	1,69899	-3,358	9,70480	9,88147	0,25580	
C18	27,12	27,41	0,256	1,59E+01	1,201	1,56E+01	0,2557994	50,00200	1,69899	-3,358	10,17480	9,88147	0,25580	
D18	27,13	27,15	0,171	1,59E+01	1,201	1,59E+01	0,1708801	49,78600	1,69711	-3,358	10,17111	10,15111	0,17088	D18
D18	26,99	27,15	0,171	1,60E+01	1,204	1,59E+01	0,1708801	49,78600	1,69711	-3,358	10,31111	10,15111	0,17088	
D18	27,33	27,15	0,171	1,57E+01	1,195	1,59E+01	0,1708801	49,78600	1,69711	-3,358	9,97111	10,15111	0,17088	
A19	27,08	27,38	0,444	1,59E+01	1,202	1,56E+01	0,4439595	49,91900	1,69827	-3,358	10,21722	9,91722	0,44396	A19
A19	27,17	27,38	0,444	1,58E+01	1,199	1,56E+01	0,4439595	49,91900	1,69827	-3,358	10,12722	9,91722	0,44396	
A19	27,89	27,38	0,444	1,51E+01	1,179	1,56E+01	0,4439595	49,91900	1,69827	-3,358	9,40722	9,91722	0,44396	
Standard	29,86	29,86	0,006	1,31E+01	1,119	1,31E+01	0,0057735	6,25000	0,79588	-3,358	10,4674349	10,46410	0,00577	STANDART
Standard	29,86	29,86	0,006	1,31E+01	1,119	1,31E+01	0,0057735	6,25000	0,79588	-3,358	10,4674349	10,46410	0,00577	STANDART
Standard	29,87	29,86	0,006	1,31E+01	1,118	1,31E+01	0,0057735	6,25000	0,79588	-3,358	10,4574349	10,46410	0,00577	STANDART
B19	26,98	27,04	0,067	1,60E+01	1,205	1,60E+01	0,0665833	50,08700	1,69973	-3,358	10,31232	10,25566	0,06658	B19
B19	27,11	27,04	0,067	1,59E+01	1,201	1,60E+01	0,0665833	50,08700	1,69973	-3,358	10,18232	10,25566	0,06658	
B19	27,02	27,04	0,067	1,60E+01	1,204	1,60E+01	0,0665833	50,08700	1,69973	-3,358	10,27232	10,25566	0,06658	
C19	26,73	26,99	0,233	1,63E+01	1,211	1,60E+01	0,2330236	50,05500	1,69945	-3,358	10,56326	10,30326	0,23302	C19
C19	27,06	26,99	0,233	1,59E+01	1,202	1,60E+01	0,2330236	50,05500	1,69945	-3,358	10,23326	10,30326	0,23302	
C19	27,18	26,99	0,233	1,58E+01	1,199	1,60E+01	0,2330236	50,05500	1,69945	-3,358	10,11326	10,30326	0,23302	
D19	27,2	27,19	0,066	1,58E+01	1,199	1,58E+01	0,0655744	49,91000	1,69819	-3,358	10,09749	10,10749	0,06557	D19
D19	27,12	27,19	0,066	1,59E+01	1,201	1,58E+01	0,0655744	49,91000	1,69819	-3,358	10,17749	10,10749	0,06557	D19
D19	27,25	27,19	0,066	1,58E+01	1,197	1,58E+01	0,0655744	49,91000	1,69819	-3,358	10,04749	10,10749	0,06557	D19
Standard	31,46	31,58	0,139	1,15E+01	1,062	1,14E+01	0,1386843	3,12500	0,49485	-3,358	9,878293627	9,76163	0,13868	STANDART





Tabel.4. Lampiran Hasil laboratorium kadar TNF-alpha. Kit Cat. No. LS-F5192

Mean / STD DEV

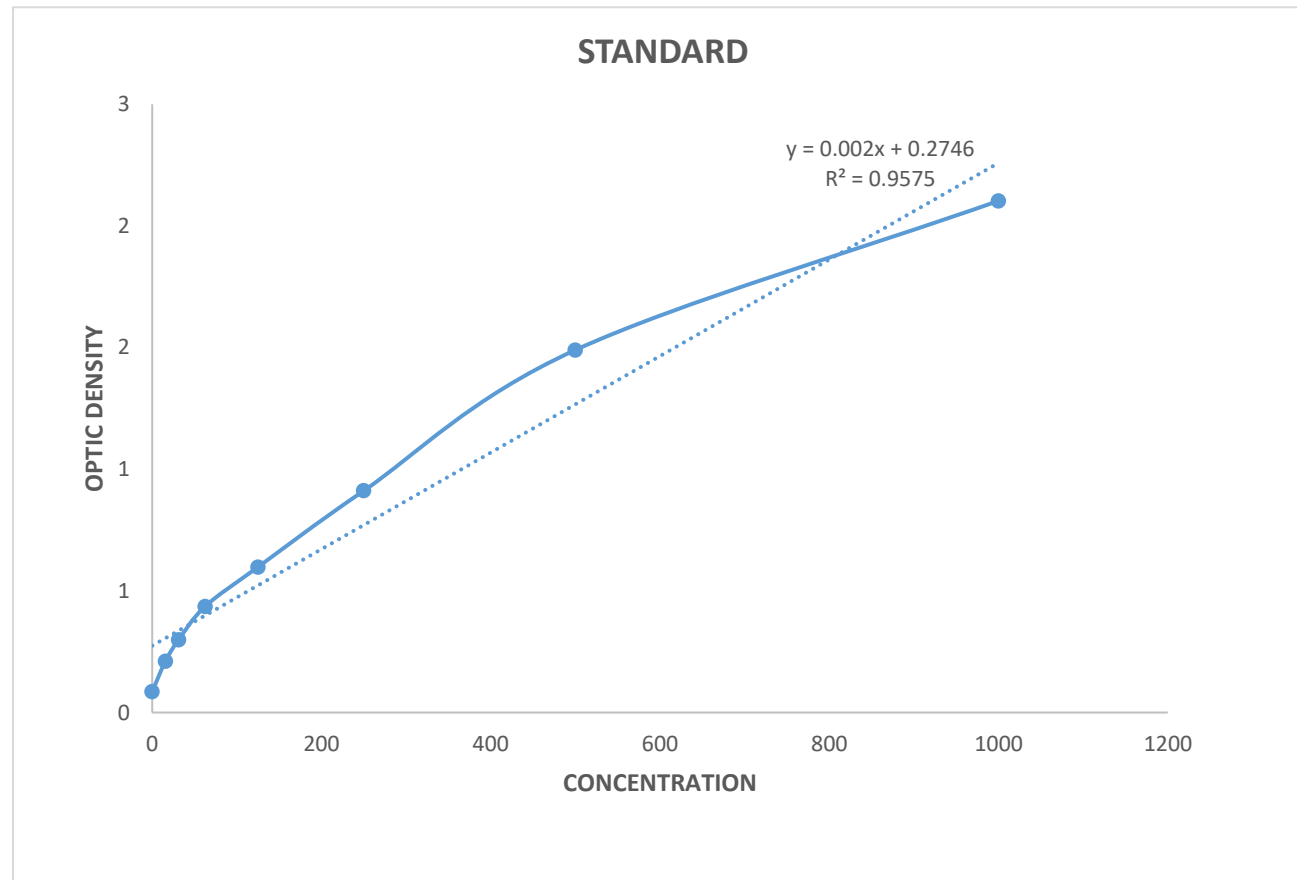
OD

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	2,103	0,106	0,257	0,013	0,260	0,013	0,263	0,021	0,262	0,013	0,257	0,016
B	1,490	0,095	0,316	0,011	0,309	0,023	0,315	0,019	0,306	0,024	0,314	0,011
C	0,912	0,029	0,275	0,008	0,276	0,017	0,287	0,014	0,281	0,011	0,286	0,019
D	0,598	0,011	0,268	0,004	0,273	0,008	0,268	0,023	0,271	0,005	0,271	0,006
E	0,436	0,006	0,262	0,013	0,259	0,008	0,261	0,016	0,263	0,020	0,255	0,013
F	0,299	0,010	0,308	0,027	0,314	0,015	0,312	0,020	0,318	0,013	0,313	0,028
G	0,211	0,010	0,283	0,016	0,282	0,005	0,281	0,012	0,288	0,016	0,280	0,001
H	0,086	0,014	0,272	0,015	0,270	0,019	0,273	0,022	0,272	0,013	0,267	0,013

Sample / Concentration (pg/ml)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	TNF#1	1000	A01	2,045295	A02	3,492899	A03	4,699236	A04	4,457969	A05	1,804028
B	TNF#2	500	B01	30,27357	B02	26,89583	B03	29,79104	B04	25,68949	B05	29,54977
C	TNF#3	250	C01	10,73092	C02	11,21345	C03	16,52134	C04	13,62613	C05	15,79753
D	TNF#4	125	D01	7,353177	D02	9,76585	D03	7,111909	D04	8,559513	D05	8,800781
E	TNF#5	62,5	A06	4,216701	A07	2,769097	A08	3,734167	A09	4,940503	A10	1,080226
F	TNF#6	31,25	B06	26,65456	B07	29,3085	B08	28,5847	B09	31,47991	B10	28,82597
G	TNF#7	15,63	C06	14,5912	C07	13,86739	C08	13,38486	C09	16,7626	C10	12,90233
H	NEG	0	D06	9,042048	D07	8,076979	D08	9,524583	D09	9,283315	D10	6,629375

Conc	OD
1000	2,103
500	1,490
250	0,912
125	0,598
62,5	0,436
31,25	0,299
15,63	0,211
0	0,086



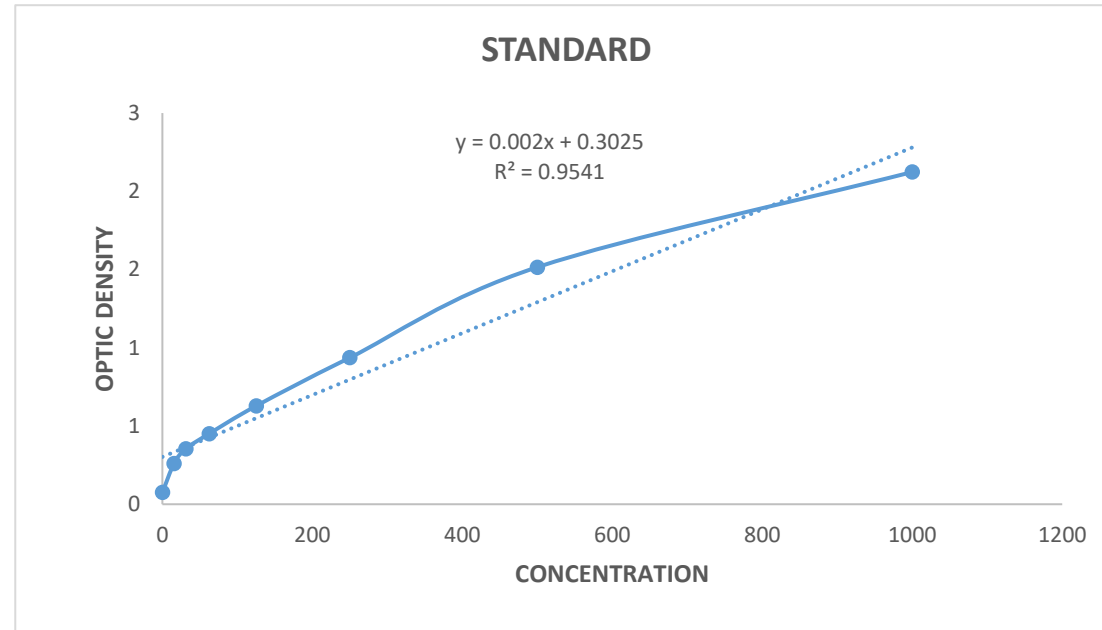
TABEL.4. Lampiran Hasil laboratorium kadar TNF-alpha. Kit Cat. No. LS-F5192 (lanjutan 2).**Mean / STD DEV OD**

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	2,123	0,120	0,286	0,011	0,291	0,008	0,293	0,016	0,290	0,009	0,292	0,009
B	1,515	0,116	0,350	0,013	0,336	0,016	0,346	0,030	0,325	0,011	0,345	0,009
C	0,937	0,022	0,307	0,023	0,303	0,011	0,352	0,019	0,345	0,010	0,353	0,022
D	0,628	0,003	0,306	0,016	0,291	0,011	0,402	0,023	0,396	0,019	0,398	0,021
E	0,451	0,013	0,292	0,027	0,281	0,016	0,280	0,018	0,267	0,008	0,283	0,035
F	0,354	0,017	0,343	0,030	0,283	0,008	0,259	0,029	0,274	0,013	0,273	0,016
G	0,261	0,024	0,359	0,017	0,280	0,022	0,283	0,012	0,284	0,018	0,270	0,009
H	0,075	0,001	0,384	0,016	0,267	0,013	0,268	0,010	0,285	0,029	0,275	0,010

Sample / Concentration (pg/ml)

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	TNF#1	1000	A11	3,427047	A12	5,839774	A13	6,563593	A14	5,115956	A15	6,081047
B	TNF#2	500	B11	34,30996	B12	27,55433	B13	32,13851	B14	22,24632	B15	31,65596
C	TNF#3	250	C11	13,5605	C12	11,63032	C13	35,03378	C14	31,89724	C15	35,51633
D	TNF#4	125	D11	12,83669	D12	5,598502	D13	59,16106	D14	56,26579	D15	57,23088
E	TNF#5	62,5	A16	6,32232	A17	0,773046	A18	0,531773	A19	-5,98259	A20	1,738137
F	TNF#6	31,25	B16	30,93214	B17	1,97941	B18	-9,84296	B19	-2,60477	B20	-3,08732
G	TNF#7	15,63	C16	38,65287	C17	0,2905	C18	1,738137	C19	2,220683	C20	34,4100
H	NEG	0	D16	50,71651	D17	-5,74132	D18	-5,25877	D19	2,703228	D20	36,5175

Conc	OD
1000	2,123
500	1,515
250	0,937
125	0,628
62,5	0,451
31,25	0,354
15,63	0,261
0	0,075



Tabel. 5. Lampiran Uji kesamaan variabel (kadar IgM, IgG, TNF α , ekspresi gen FOXP3) pada kondisi sebelum injeksi takizoid (BIT) antar kelompok penelitian: uji statistik dengan metode Oneway Anova.

Variabel		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	P
IgG 1hr BIT	Between Groups	0.002	4	.000	1.015	0.431
	Within Groups	0.007	15	.000		
	Total	0.009	19			
IgM 1hr BIT	Between Groups	0.001	4	.000	0.231	0.917
	Within Groups	0.010	15	.001		
	Total	0.011	19			
FOXP3 1hr BIT	Between Groups	0.172	4	.043	0.731	0.585
	Within Groups	0.881	15	.059		
	Total	1.053	19			
TNF α 1hr BIT	Between Groups	2.176	4	.544	0.388	0.814
	W (ithin Groups	21.021	15	1.401		
	Total	23.197	19			

Tabel.6. Lampiran Kadar IgG, IgM, TNF α , dan ekspresi gen FOXP3 pasca injeksi takizoid: uji statistik dengan metode Oneway Anova

Variabel		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig
IgG 3 hr PIT	Between Groups	.125	4	.031	36.793	.000
	Within Groups	.013	15	.001		
	Total	.138	19			
IgM 3 hr PIT	Between Groups	.879	4	.220	276.346	.000
	Within Groups	.012	15	.001		
	Total	.891	19			
FOXP3 3 hr PIT	Between Groups	12.804	4	3.201	89.433	.000
	Within Groups	.537	15	.036		
	Total	13.341	19			
TNF α 3 hr PIT	Between Groups	2088.657	4	522.164	69.007	.000
	Within Groups	113.502	15	7.567		
	Total	2202.159	19			

Keterangan. PIT; Tiga hari pasca injeksi takizoid

$p < 0,05$

Tabel 7. Lampiran Kadar antibodi IgM anti toksoplasma tiga hari dan tujuh hari pasca intervensi: uji statistik dengan metode Paired Samples Test.

Kelompok	Paired Differences							t	Df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference						
				Lower	Upper					
C.lo nga 125 mg (K1)	Pair 1	IgMA - IgMB	-0.55 25	0.0470 549	0.0235 275	-0.6273 749	-0.4776 251	-23.483	3	0,000
	Pair 2	IgMB - IgMC	0.230 125	0.0486 028	0.0243 014	0.1527 871	0.3074 629	9.47	3	0.002
	Pair 3	IgMB - IgMD	0.43 95	0.0615 183	0.0307 591	0.3416 107	0.5373 893	14.288	3	0.001
	Pair 4	IgMC - IgMD	0.209 375	0.0350 627	0.0175 314	0.1535 824	0.2651 676	11.943	3	0.001
C.lo nga 500 mg (K2)	Pair 1	IgMA - IgMB	-0.572 125	0.0461 815	0.0230 907	-0.64 561	-0.49 864	-24.777	3	0,000
	Pair 2	IgMB - IgMC	0.31 125	0.0214 534	0.0107 267	0.2771 128	0.3453 872	29.016	3	0,000
	Pair 3	IgMB - IgMD	0.507 625	0.0402 935	0.0201 467	0.4435 091	0.5717 409	25.196	3	0,000
	Pair 4	IgMC - IgMD	0.196 375	0.0510 055	0.0255 028	0.1152 138	0.2775 362	7.7	3	0.005
Spir amis in 60 (K3)	Pair 1	IgMA - IgMB	-0.55 25	0.0470 549	0.0235 275	-0.6273 749	-0.4776 251	-23.483	3	0,000
	Pair 2	IgMB - IgMC	0.230 125	0.0486 028	0.0243 014	0.1527 871	0.3074 629	9.47	3	0.002
	Pair 3	IgMB - IgMD	0.43 95	0.0615 183	0.0307 591	0.3416 107	0.5373 893	14.288	3	0.001
	Pair 4	IgMC - IgMD	0.209 375	0.0350 627	0.0175 314	0.1535 824	0.2651 676	11.943	3	0.001

Plac ebo (K4)	Pair	IgMA - IgMB	-0.56	0.0327	0.0163	-0.6208	-0.5166			
	1		875	172	586	104	896	-34.768	3	0,000
	Pair	IgMB - IgMC	-0.608	0.027	0.013	-0.6523	-0.5638			
	2		125	804	902	674	826	-43.744	3	0,000
Nor mal (K5)	Pair	IgMB - IgMD	-0.802	0.0181	0.0090	-0.8312	-0.7734			
	3		375	539	769	618	882	-88.397	3	0,000
	Pair	IgMC - IgMD	-0.19	0.0168	0.0084	-0.2210	-0.1674			
	4		425	597	299	776	224	-23.043	3	0,000
	Pair	IgMA - IgMB	-0.04	0.0289	0.0144	-0.0925	-0.0004			
	1		65	165	583	127	873	-3.216	3	0,049
	Pair	IgMB - IgMC	0.02	0.0472	0.0236	-0.0536	0.0966			
	2		15	246	123	449	449	0.911	3	0,43
	Pair	IgMB - IgMD	-0.005	0.0297	0.0148	-0.0526	0.0419			
	3		375	276	638	782	282	-0.362	3	0,742
	Pair	IgMC - IgMD	-0.026	0.0315	0.0157	-0.0770	0.0232			
	4		875	314	657	485	985	-1.705	3	0,187

Keterangan. IgM A; TgM sebelum injeksi takizoid, IgMB; IgM pasca injeksi takizoid, IgMC; 3 hari pasca pemberian C. longa, IgMD; 7 hari pasca pemberian C.longa.

P < 0,05.

Tabel.8. Lampiran perbandingan kadar antibodi IgM anti toksoplasma ,tiga hari pasca intervensi ekstrak C. Longa.

Dependent Variable	Ke-lom-pok	Ke-lom-pok (K)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
IgMC	Curcumin 125 mg	Curcumin 500	.0170000	.0206174	.919	-.046665	.080665
		Spiramisin 60	-.0306250	.0206174	.586	-.094290	.033040
		Placebo	-.9005000 [*]	.0206174	.000	-.964165	-.836835
		Normal	.2536250 [*]	.0206174	.000	.189960	.317290
	Curcumin 500 mg	Curcumin 125	-.0170000	.0206174	.919	-.080665	.046665
		Spiramisin 60	-.0476250	.0206174	.195	-.111290	.016040
		Placebo	-.9175000 [*]	.0206174	.000	-.981165	-.853835
		Normal	.2366250 [*]	.0206174	.000	.172960	.300290
	Spiramisin 60mg	Curcumin 125	.0306250	.0206174	.586	-.033040	.094290
		Curcumin 500	.0476250	.0206174	.195	-.016040	.111290
		Placebo	-.8698750 [*]	.0206174	.000	-.933540	-.806210
		Normal	.2842500 [*]	.0206174	.000	.220585	.347915
	Placebo	Curcumin 125	.9005000 [*]	.0206174	.000	.836835	.964165
		Curcumin 500	.9175000 [*]	.0206174	.000	.853835	.981165
		Spiramisin 60	.8698750 [*]	.0206174	.000	.806210	.933540
		Normal	1.1541250 [*]	.0206174	.000	1.090460	1.217790
Normal	Curcumin 125	-.2536250 [*]	.0206174	.000	-.317290	-.189960	
	Curcumin 500	-.2366250 [*]	.0206174	.000	-.300290	-.172960	
	Spiramisin 60	-.2842500 [*]	.0206174	.000	-.347915	-.220585	
	Placebo	-1.1541250 [*]	.0206174	.000	-1.217790	-1.090460	

Tabel 9. Lampiran perbandingan kadar antibodi IgM anti toksoplasma ,tujuh hari pasca intervensi ekstrak C. Longa.

Dependent Variable	Kelompok	Kejadian	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
IgMD	Curcumin 125mg	Curcumin 500	.0258750	.0133744	.342	-.015424	.067174
		Spiramisin 60	-.0087500	.0133744	.963	-.050049	.032549
		Placebo	-1.2822500*	.0133744	.000	-1.323549	-1.240951
		Normal	.0392500	.0133744	.066	-.002049	.080549
	Curcumin 500mg	Curcumin 125	-.0258750	.0133744	.342	-.067174	.015424
		Spiramisin 60	-.0346250	.0133744	.123	-.075924	.006674
		Placebo	-1.3081250*	.0133744	.000	-1.349424	-1.266826
		Normal	.0133750	.0133744	.851	-.027924	.054674
	Spiramisin 60mg	Curcumin 125	.0087500	.0133744	.963	-.032549	.050049
		Curcumin 500	.0346250	.0133744	.123	-.006674	.075924
		Placebo	-1.2735000*	.0133744	.000	-1.314799	-1.232201
		Normal	.0480000*	.0133744	.019	.006701	.089299
	Placebo	Curcumin 125	1.2822500*	.0133744	.000	1.240951	1.323549
		Curcumin 500	1.3081250*	.0133744	.000	1.266826	1.349424
		Spiramisin 60	1.2735000*	.0133744	.000	1.232201	1.314799
		Normal	1.3215000*	.0133744	.000	1.280201	1.362799
Normal	Curcumin 125	-.0392500	.0133744	.066	-.080549	.002049	
	Curcumin 500	-.0133750	.0133744	.851	-.054674	.027924	
	Spiramisin 60	-.0480000*	.0133744	.019	-.089299	-.006701	
	Placebo	-1.3215000*	.0133744	.000	-1.362799	-1.280201	

Tabel 10. Lampiran kadar antibodi IgG anti toksoplasma pasca injeksi takizoid, dan pasca intervensi ekstrak *C. longa*: uji statistik dengan metode Paired Samples Test.

Kelompok	Paired Differences						t	df	Sig. (2-tailed)	
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference						
				Lower	Upper					
C.longa 125 mg (K1)	Pair 1	IgGA - IgGB.	-0.183 875	0.0527 832	0.0263 916	-0.2678 648	-0.0998 852	-6.967	3	0.006
	Pair 2	IgGB - IgGC	-0.11 225	0.0347 599	0.0173 799	-0.1675 607	-0.0569 393	-6.459	3	0.008
	Pair 3	IgGB - IgGD	-0.10 925	0.0477 013	0.0238 507	-0.1851 535	-0.0333 465	-4.581	3	0.02
	Pair 4	IgGC - IgGD	0.003	0.0222 972	0.0111 486	-0.0324 799	0.0384 799	0.269	3	0.805
C.longa 500 mg (K2)	Pair 1	IgGA - IgGB	-0.209 125	0.0145 852	0.0072 926	-0.2323 334	-0.1859 166	-	3	0.000
	Pair 2	IgGB - IgGC	-0.09 275	0.0295 085	0.0147 542	-0.1397 046	-0.0457 954	-6.286	3	0.008
	Pair 3	IgGB - IgGD	-0.09 275	0.0295 085	0.0147 542	-0.1397 046	-0.0457 954	-6.286	3	0.008
	Pair 4	IgGC - IgGD	0.0073 750	0.0362 247	0.0181 124	-0.0502 666	0.0650 166	0.407	3	0.711
Spiramisin 60 mg (K3)	Pair 1	IgGA - IgGB	-0.18 575	0.042 502	0.021 251	-0.2533 801	-0.1181 199	-8.741	3	0.003
	Pair 2	IgGB - IgGC	-0.120 875	0.017 041	0.0085 205	-0.147 991	-0.093 759	-	3	0.001
	Pair 3	IgGB - IgGD	-0.120 875	0.017 041	0.0085 205	-0.147 991	-0.093 759	-	3	0.001
	Pair 4	IgGC - IgGD	-0.0217 500	0.0206 175	0.0103 038	-0.0545 571	0.0110 571	-2.110	3	0.125
Placebo (K4)	Pair 1	IgGA - IgGB	-0.19 925	0.0411 208	0.0205 604	-0.2646 823	-0.1338 177	-9.691	3	0.002
	Pair 2	IgGB - IgGC	-0.399 375	0.0455 693	0.0227 847	-0.471 886	-0.3268 641	-	3	0.000
	Pair 3	IgGB - IgGD	-1.015 625	0.0355 067	0.0177 534	-1.0721 242	-0.9591 258	-	3	0.000
	Pair 4	IgGC - IgGD	-0.61 625	0.0386 642	0.0193 321	-0.6777 733	-0.5547 267	-	3	0.000
Normal (K5)	Pair 1	IgGA - IgGB	-0.021 375	0.01 675	0.008 375	-0.048 028	0.005 278	-2.552	3	0.084
	Pair 2	IgGB - IgGC	0.00 225	0.0336 192	0.0168 096	-0.0512 456	0.0557 456	0.134	3	0.902
	Pair 3	IgGB - IgGD	0.014 875	0.0155 047	0.0077 524	-0.0097 964	0.0395 464	1.919	3	0.151
	Pair 4	IgGC - IgGD	0.012 625	0.033 265	0.0166 325	-	0.06555 71	0.759	3	0.503

Keterangan. IgM A; Kadar IgM sebelum injeksi takizoid, IgMB; Kadar IgM pasca injeksi takizoid, IgMC; Kadar IgM tiga hari pasca pemberian *C. longa*, IgMD; Kadar IgM 7 hari pasca pemberian *C.longa*.

Tabel 11. Lampiran perbandingan kadar antibodi IgG anti toksoplasma tiga hari pasca intervensi ekstrak *C. longa*.

Dependent Variable	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval Lower Bound	Upper Bound
IgGC	Curcumin 125	Curcumin 500	.0027500	.0179594	1.000	-.052707	.058207
		Spiramisin 60	-.0031250	.0179594	1.000	-.058582	.052332
		Placebo	-.2955000 [*]	.0179594	.000	-.350957	-.240043
	Curcumin 500	Normal	.3062500 [*]	.0179594	.000	.250793	.361707
		Curcumin 125	-.0027500	.0179594	1.000	-.058207	.052707
		Spiramisin 60	-.0058750	.0179594	.997	-.061332	.049582
	Spiramisin 60	Placebo	-.2982500 [*]	.0179594	.000	-.353707	-.242793
		Normal	.3035000 [*]	.0179594	.000	.248043	.358957
		Curcumin 125	.0031250	.0179594	1.000	-.052332	.058582
	Placebo	Curcumin 500	.0058750	.0179594	.997	-.049582	.061332
		Placebo	-.2923750 [*]	.0179594	.000	-.347832	-.236918
		Normal	.3093750 [*]	.0179594	.000	.253918	.364832
	Normal	Curcumin 125	.2955000 [*]	.0179594	.000	.240043	.350957
		Curcumin 500	.2982500 [*]	.0179594	.000	.242793	.353707
		Spiramisin 60	.2923750 [*]	.0179594	.000	.236918	.347832
	Normal	Normal	.6017500 [*]	.0179594	.000	.546293	.657207
		Curcumin 125	-.3062500 [*]	.0179594	.000	-.361707	-.250793
		Curcumin 500	-.3035000 [*]	.0179594	.000	-.358957	-.248043
		Spiramisin 60	-.3093750 [*]	.0179594	.000	-.364832	-.253918
			Placebo	-.6017500 [*]	.0179594	.000	-.657207

P < 0.05.

Tabel 12. Lampiran perbandingan kadar antibodi IgG anti toksoplasma tujuh hari pasca intervensi ekstrak *C. longa*.

Dependent Variable	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
IgGD	Curcumin 125	Curcumin 500	-.0002500	.0185032	1.000	-.057387	.056887
		Spiramisin 60	-.0061250	.0185032	.997	-.063262	.051012
		Placebo	-.9147500*	.0185032	.000	-.971887	-.857613
		Normal	.3158750*	.0185032	.000	.258738	.373012
	Curcumin 500	Curcumin 125	.0002500	.0185032	1.000	-.056887	.057387
		Spiramisin 60	-.0058750	.0185032	.998	-.063012	.051262
		Placebo	-.9145000*	.0185032	.000	-.971637	-.857363
		Normal	.3161250*	.0185032	.000	.258988	.373262
	Spiramisin 60	Curcumin 125	.0061250	.0185032	.997	-.051012	.063262
		Curcumin 500	.0058750	.0185032	.998	-.051262	.063012
		Placebo	-.9086250*	.0185032	.000	-.965762	-.851488
		Normal	.3220000*	.0185032	.000	.264863	.379137
	Placebo	Curcumin 125	.9147500*	.0185032	.000	.857613	.971887
		Curcumin 500	.9145000*	.0185032	.000	.857363	.971637
		Spiramisin 60	.9086250*	.0185032	.000	.851488	.965762
		Normal	1.2306250*	.0185032	.000	1.173488	1.287762
	Normal	Curcumin 125	-.3158750*	.0185032	.000	-.373012	-.258738
		Curcumin 500	-.3161250*	.0185032	.000	-.373262	-.258988
		Spiramisin 60	-.3220000*	.0185032	.000	-.379137	-.264863
		Placebo	-1.2306250*	.0185032	.000	-1.287762	-1.173488

P < 0,05

Tabel 13. Lampiran ekspresi gen FOXP3 pasca intervensi ekstrak *Curcuma longa*.

Kelompok			Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
			Mean	Std. Dev	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
						Lower	Upper			
C.longa 125 mg (K1)	Pair 9	FOXA – FOXB	1.945	0.20936	0.10468	1.61185	2.27815	18.58	3	0.000
	Pair 10	FOXB – FOXC	-4.000	0.13491	0.06745	-4.21467	-3.78533	-59.3	3	0,000
	Pair 11	FOXB – FOXD	-1.845	0.29103	0.14552	-2.3081	-1.3819	-12.679	3	0.001
	Pair 12	FOXC – FOXD	2.155	0.3606	0.1803	1.5812	2.7288	11.952	3	0.001
C.longa 500 mg (K2)	Pair 9	FOXA – FOXB	1.8725	0.08421	0.04211	1.7385	2.0065	44.471	3	0,000
	Pair 10	FOXB – FOXC	-4.0575	0.44124	0.22062	-4.75961	-3.35539	-18.391	3	0,000
	Pair 11	FOXB – FOXD	-1.8025	0.68427	0.34213	-2.89133	-0.71367	-5.268	3	0.013
	Pair 12	FOXC – FOXD	2.255	0.27815	0.13907	1.8124	2.6976	16.214	3	0.001
Spiramisin 60 mg (K3)	Pair 9	FOXA – FOXB	1.4325	0.38239	0.1912	0.82403	2.04097	7.492	3	0.005
	Pair 10	FOXB – FOXC	-3.3625	0.39016	0.19508	-3.98333	-2.74167	-17.237	3	0,000
	Pair 11	FOXB – FOXD	-1.55	0.49686	0.24843	-2.34061	-0.75939	-6.239	3	0.008
	Pair 12	FOXC – FOXD	1.8125	0.25461	0.1273	1.40736	2.21764	14.238	3	0.001
Placebo (K4)	Pair 9	FOXA – FOXB	1.835	0.11504	0.05752	1.65195	2.01805	31.903	3	0,000
	Pair 10	FOXB – FOXC	1.2625	0.17652	0.08826	0.98162	1.54338	14.305	3	0.001
	Pair 11	FOXB – FOXD	2.2275	0.40681	0.2034	1.58018	2.87482	10.951	3	0.002
	Pair 12	FOXC – FOXD	0.965	0.25146	0.12573	0.56487	1.36513	7.675	3	0.005
Normal (K5)	Pair 9	FOXA – FOXB	-0.0125	0.37349	0.18674	-0.6068	0.5818	-0.067	3	0.951
	Pair 10	FOXB – FOXC	0.0175	0.15108	0.07554	-0.2229	0.2579	0.232	3	0.832
	Pair 11	FOXB – FOXD	0.2925	0.34856	0.17428	-0.26213	0.84713	1.678	3	0.192
	Pair 12	FOXC – FOXD	0.275	0.41741	0.20871	-0.3892	0.9392	1.318	3	0.279

P < 0,05

Tabel 14. Lampiran ekspresi gen FOXP3 tiga hari pasca intervensi *C. longa*.

Dependent Variable	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
FOXC	Curcumin 125	Curcumin 500	-.08750	.16967	.984	-.6114	.4364
		Spiramisin 60	.08250	.16967	.987	-.4414	.6064
		Placebo Normal	4.94750*	.16967	.000	4.4236	5.4714
		Normal	1.86000*	.16967	.000	1.3361	2.3839
	Curcumin 500	Curcumin 125	.08750	.16967	.984	-.4364	.6114
		Spiramisin 60	.17000	.16967	.850	-.3539	.6939
		Placebo Normal	5.03500*	.16967	.000	4.5111	5.5589
		Normal	1.94750*	.16967	.000	1.4236	2.4714
	Spiramisin 60	Curcumin 125	-.08250	.16967	.987	-.6064	.4414
		Curcumin 500	-.17000	.16967	.850	-.6939	.3539
		Placebo Normal	4.86500*	.16967	.000	4.3411	5.3889
		Normal	1.77750*	.16967	.000	1.2536	2.3014
	Placebo	Curcumin 125	-4.94750*	.16967	.000	-5.4714	-4.4236
		Curcumin 500	-5.03500*	.16967	.000	-5.5589	-4.5111
		Spiramisin 60	-4.86500*	.16967	.000	-5.3889	-4.3411
		Normal	-3.08750*	.16967	.000	-3.6114	-2.5636
	Normal	Curcumin 125	-1.86000*	.16967	.000	-2.3839	-1.3361
		Curcumin 500	-1.94750*	.16967	.000	-2.4714	-1.4236
		Spiramisin 60	-1.77750*	.16967	.000	-2.3014	-1.2536
		Placebo	3.08750*	.16967	.000	2.5636	3.6114

p < 0,05

Tabel.15. lampiran ekspresi gen FOXP3 tujuh hari pasca intervensi C. longa.

Dependent Variable	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
FOXD	Curcumin 125	Curcumin 500	.01250	.26914	1.000	-.8186	.8436
		Spiramisin 60	-.26000	.26914	.866	-1.0911	.5711
		Placebo	3.75750*	.26914	.000	2.9264	4.5886
	Curcumin 500	Normal	-.02000	.26914	1.000	-.8511	.8111
		Curcumin 125	-.01250	.26914	1.000	-.8436	.8186
		Spiramisin 60	-.27250	.26914	.846	-1.1036	.5586
	Spiramisin 60	Placebo	3.74500*	.26914	.000	2.9139	4.5761
		Normal	-.03250	.26914	1.000	-.8636	.7986
		Curcumin 125	.26000	.26914	.866	-.5711	1.0911
	Placebo	Curcumin 500	.27250	.26914	.846	-.5586	1.1036
		Placebo	4.01750*	.26914	.000	3.1864	4.8486
		Normal	.24000	.26914	.896	-.5911	1.0711
	Normal	Curcumin 125	-3.75750*	.26914	.000	-4.5886	-2.9264
		Curcumin 500	-3.74500*	.26914	.000	-4.5761	-2.9139
		Spiramisin 60	-4.01750*	.26914	.000	-4.8486	-3.1864
		Normal	-3.77750*	.26914	.000	-4.6086	-2.9464
	Normal	Curcumin 125	.02000	.26914	1.000	-.8111	.8511
		Curcumin 500	.03250	.26914	1.000	-.7986	.8636
		Spiramisin 60	-.24000	.26914	.896	-1.0711	.5911
		Placebo	3.77750*	.26914	.000	2.9464	4.6086

Tabel.16. Lampiran perbandingan kadar TNF α pasca intervensi.

Kelompok	Paired Differences									
			Mean	Std. Dev	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		T	df	Sig. (2-tailed)
						Lower	Upper			
C.long a 125 mg (K1)	Pair 1	TNFA - TNFB	-244.88 625	29.516 465	14.758 233	-291.853 533	-197.918 967	-16.593	3	0,000
	Pair 2	TNFB - TNFC	151.39 525	32.985 525	16.492 762	98.907 919	203.882 581	9.179	3	0.003
	Pair 3	TNFB - TNFD	199.64 875	32.749 136	16.374 568	147.537 566	251.759 934	12.193	3	0.001
	Pair 4	TNFC - TNFD	48.2 535	33.948 945	16.974 473	-5.766 847	102.273 847	2.843	3	0.066
C.long a 500 mg (K2)	Pair 1	TNFA - TNFB	-253. 934	23.004 943	11.502 472	-290.539 998	-217.328 002	-22.076	3	0,000
	Pair 2	TNFB - TNFC	141.1 415	15.573 421	7.78 671	116.360 712	165.922 288	18.126	3	0,000
	Pair 3	TNFB - TNFD	196. 633	16.540 069	8.270 034	170.314 059	222.951 941	23.777	3	0,000
	Pair 4	TNFC - TNFD	55.4 915	12.917 452	6.458 726	34.936 952	76.046 049	8.592	3	0.003
Spira misin 60 (K3)	Pair 1	TNFA - TNFB	-267.20 675	38.065 943	19.032 971	-327.778 159	-206.635 341	-14.039	3	0.001
	Pair 2	TNFB - TNFC	168.28 625	26.750 819	13.37 541	125.719 727	210.852 773	12.582	3	0.001
	Pair 3	TNFB - TNFD	219.55 575	3.409 669	1.704 835	214.130 205	224.981 295	128.784	3	0,000
	Pair 4	TNFC - TNFD	51.2 695	30.029 561	15.01 478	3.485 768	99.053 232	3.415	3	0.042
Placebo (K4)	Pair 1	TNFA - TNFB	-256.61 725	43.327 225	21.663 613	-325.560 534	-187.673 966	-11.846	3	0.001
	Pair 2	TNFB - TNFC	-60.31 825	31.887 119	15.943 559	-111.057 772	-9.578 728	-3.783	3	0.032
	Pair 3	TNFB - TNFD	-266.0 035	58.518 033	29.259 016	-359.118 748	-172.888 252	-9.091	3	0.003
	Pair 4	TNFC - TNFD	-205.68 525	57.951 902	28.975 951	-297.899 657	-113.470 843	-7.098	3	0.006
Nor mal (K5)	Pair 1	TNFA - TNFB	0.00 075	5.13 143	2.565 715	-8.1 645	8.166	0	3	1,000
	Pair 2	TNFB - TNFC	2.1 075	5.319 244	2.659 622	-6.356 604	10.571 604	0.792	3	0.486
	Pair 3	TNFB - TNFD	0	7.255 389	3.627 694	-11.544 943	11.544 943	0	3	1000
	Pair 4	TNFC - TNFD	-2.1 075	3.535 839	1.76 792	-7.733 809	3.518 809	-1.192	3	0.319

Tabel. 17. Lampiran kadar TNF α tiga hari pasca intervensi *C. longa*.

Dependent Variable	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
						Lower Bound	Upper Bound	
TNFC	Curcumin 125	Curcumin 500	-13.873000	14.421981	.868	-58.40699	30.66099	
		Spiramisin 60	-6.909750	14.421981	.988	-51.44374	37.62424	
		Placebo	-222.521000*	14.421981	.000	-267.05499	-177.98701	
	Curcumin 500	Normal	95.819500*	14.421981	.000	51.28551	140.35349	
		Curcumin 125	13.873000	14.421981	.868	-30.66099	58.40699	
		Spiramisin 60	6.963250	14.421981	.988	-37.57074	51.49724	
	Spiramisin 60	Placebo	-208.648000*	14.421981	.000	-253.18199	-164.11401	
		Normal	109.692500*	14.421981	.000	65.15851	154.22649	
		Curcumin 125	6.909750	14.421981	.988	-37.62424	51.44374	
	Placebo	Curcumin 500	-6.963250	14.421981	.988	-51.49724	37.57074	
		Placebo	-215.611250*	14.421981	.000	-260.14524	-171.07726	
		Normal	102.729250*	14.421981	.000	58.19526	147.26324	
	Normal	Curcumin 125	222.521000*	14.421981	.000	177.98701	267.05499	
		Curcumin 500	208.648000*	14.421981	.000	164.11401	253.18199	
		Spiramisin 60	215.611250*	14.421981	.000	171.07726	260.14524	
	Normal	Normal	318.340500*	14.421981	.000	273.80651	362.87449	
		Curcumin 125	-95.819500*	14.421981	.000	-140.35349	-51.28551	
		Curcumin 500	-109.692500*	14.421981	.000	-154.22649	-65.15851	
		Spiramisin 60	-102.729250*	14.421981	.000	-147.26324	-58.19526	
			Placebo	-318.340500*	14.421981	.000	-362.87449	-273.80651

Tabel. 18. Lampiran kadar TNF α tujuh hari pasca intervensi *C. longa*.

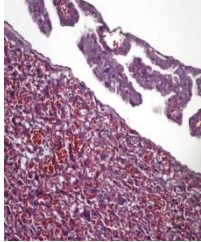
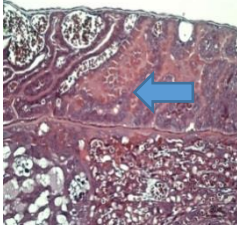
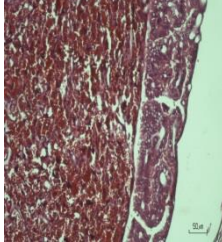
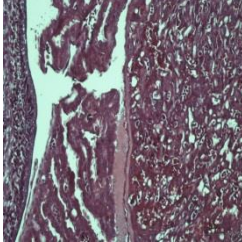
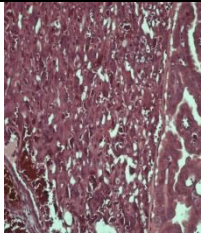
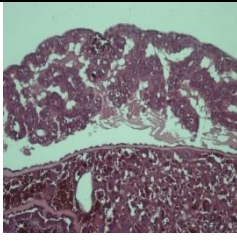
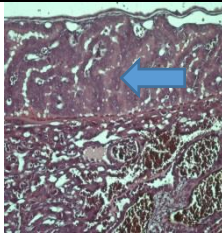
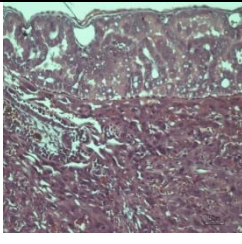
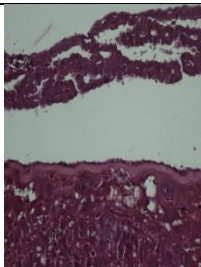
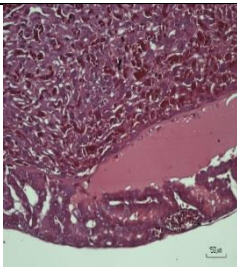
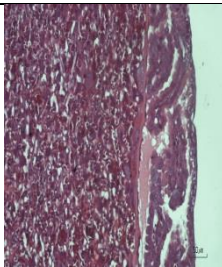
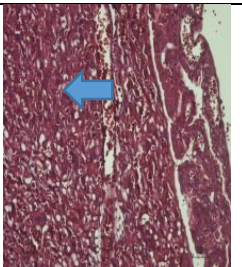
Dependent Variable	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
						Lower Bound	Upper Bound	
TNFD	Curcumin 125	Curcumin 500	-6.635000	16.050344	.993	-56.19725	42.92725	
		Spiramisin 60	-3.893750	16.050344	.999	-53.45600	45.66850	
		Placebo	-476.459750*	16.050344	.000	-526.02200	-426.89750	
	Curcumin 500	Normal	45.458500	16.050344	.080	-4.10375	95.02075	
		Curcumin 125	6.635000	16.050344	.993	-42.92725	56.19725	
		Spiramisin 60	2.741250	16.050344	1.000	-46.82100	52.30350	
	Spiramisin 60	Placebo	-469.824750*	16.050344	.000	-519.38700	-420.26250	
		Normal	52.093500*	16.050344	.037	2.53125	101.65575	
		Curcumin 125	3.893750	16.050344	.999	-45.66850	53.45600	
	Placebo	Curcumin 500	-2.741250	16.050344	1.000	-52.30350	46.82100	
		Placebo	-472.566000*	16.050344	.000	-522.12825	-423.00375	
		Normal	49.352250	16.050344	.051	-21000	98.91450	
	Normal	Curcumin 125	476.459750*	16.050344	.000	426.89750	526.02200	
		Curcumin 500	469.824750*	16.050344	.000	420.26250	519.38700	
		Spiramisin 60	472.566000*	16.050344	.000	423.00375	522.12825	
	Normal	Normal	521.918250*	16.050344	.000	472.35600	571.48050	
		Curcumin 125	-45.458500	16.050344	.080	-95.02075	4.10375	
		Curcumin 500	-52.093500*	16.050344	.037	-101.65575	-2.53125	
		Spiramisin 60	-49.352250	16.050344	.051	-98.91450	21000	
			Placebo	-521.918250*	16.050344	.000	-571.48050	-472.35600

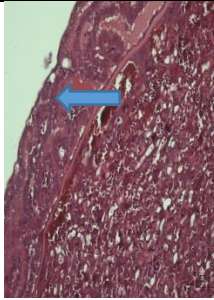
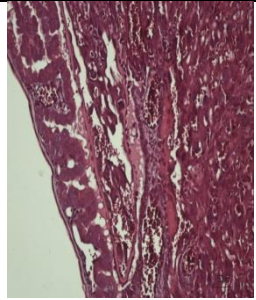
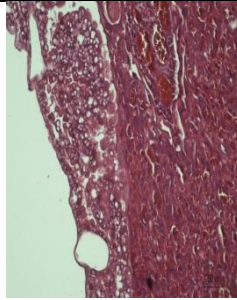
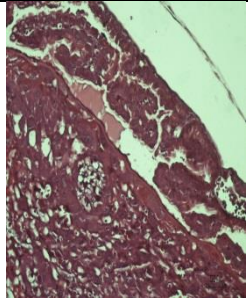
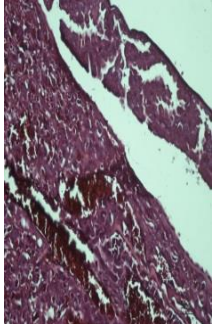
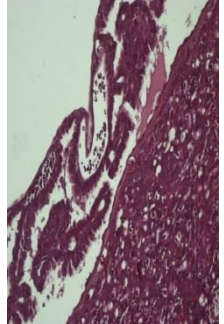
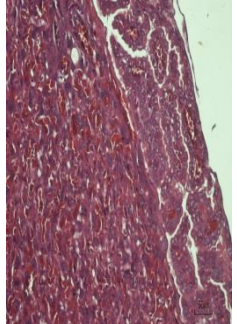
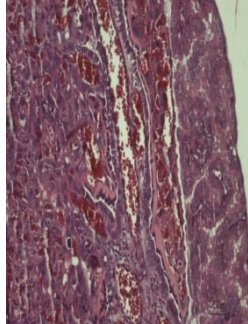
Tabel. 19. Lampiran kejadian abortus dibandingkan antar kelompok.

Kelompok (K)	Jumlah (n)	Aborus		P
		Ya	Tidak	
K1	4		4	1.000
K2	4		4	
K1	4		4	0.028
K3	4	3	1	
K1	4		4	0.005
K4	4	4		
K1	4		4	1.000
K5	4		4	
K2	4		4	0.028
K3	4	3	1	
K2	4		4	0.005
K4	4	4		
K2	4		4	1.000
K5	4		4	
K3	4	3	1	0.285
K4	4	4		
K3	4	3	1	0.028
K5	4		4	
K4	4	4		0.005
K5	4		4	

Keterangan : K1 (intervensi ekstrak 125 mg/KgBB/hari), K1 (intervensi ekstrak 125 mg/KgBB/hari) K2 (intervensi ekstrak 500 mg/KgBB/hari), K3 (kontrol positif: intervensi spiramisin 60 mg/KgBB/hari), K1 (Kontrol negatif: intervensi larutan aquadest 0,2 ml/hari), K5 (Tanpa intervensi. N = sampel. P = uji kemagnaan (p < 0.05).

Lampiran Gambaran Histopatologi Jaringan Plasenta

Kelompok	1	2	3	4
K1		 <div data-bbox="600 698 823 784" style="border: 1px solid black; padding: 2px; width: fit-content; margin: 5px auto;">Kongestif kapiler</div>		
K2			 <div data-bbox="863 1128 1075 1205" style="border: 1px solid black; padding: 2px; width: fit-content; margin: 5px auto;">Edema ekstra vask</div>	
K3				 <div data-bbox="1110 1572 1329 1608" style="border: 1px solid black; padding: 2px; width: fit-content; margin: 5px auto;">Haemorrhagik</div>

K4	 <div data-bbox="384 555 576 611" style="border: 1px solid black; padding: 2px; width: fit-content; margin: 0 auto;">Nekrosis</div>			
K5				



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(RESEARCH CENTER FOR BIOLOGY)

Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta - Bogor KM. 46 Cibinong 16911
Telp. (+62 21) 87907636 - 87907604, Fax. 87907612
Website: www.biologi.lipi.go.id



Cibinong, 16 Juni 2016

Nomor : Mo/IPH.1.02/If.07/VI/2016
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i), **dr. Tigor P. Simanjuntak, SPOG., M.Kes.**
NPM : P 0201402931
Mhs. Univ. Hasanuddin
Program Pascasarjana, Fak. Kedokteran
Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Makassar
90245

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Kunyit Kuning	<i>Curcuma longa</i> L.	Zingiberaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.





KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
INSTITUT PERTANIAN BOGOR

PUSAT STUDI SATWA PRIMATA

Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat
Primate Research Center - Bogor Agricultural University

Jalan Lodaya II No. 5 Bogor 16151
Tel. +62-251-8320417, 8313637 Fax. +62-251-8360712

LAPORAN HISTOPATOLOGI

No Sampel	: D17.PA.104	No Lab	: -
ID Hewan	: Tercantum	Pengirim / Pemilik	: dr Tigor S.
Jenis Hewan	: <i>Mus musculus</i>	Telp / Fax / Alamat	: 0812-1105-912
Jenis Kelamin	: Betina	Terima Sampel	: 20 April 2017
Umur	: -	Klinisi	: Alas Permintaan Sendiri

SEJARAH KLINIS: Sampel organ uterus dikoleksi dari mencit yang digunakan pada suatu penelitian.

ID Hewan	Evaluasi mikroskopis pada <i>placental site</i>
1	Kongesti kapiler tampak pada <i>placental site</i> secara menyeluruh.
2	Kongesti kapiler tampak pada <i>placental site</i> secara menyeluruh, edema ringan tampak pada multifokal area.
3	Kongesti kapiler tampak pada <i>placental site</i> secara menyeluruh.
4	Kongesti kapiler tampak pada <i>placental site</i> secara menyeluruh, edema ringan tampak pada multifokal area.
5	Kongesti kapiler tampak pada <i>placental site</i> secara menyeluruh, edema ringan tampak pada multifokal area.
6	Kongesti kapiler tampak pada <i>placental site</i> secara menyeluruh, edema ringan tampak pada multifokal area.
7	Kongesti kapiler tampak pada <i>placental site</i> secara menyeluruh.
8	Kongesti kapiler tampak pada <i>placental site</i> secara menyeluruh, edema ringan tampak pada multifokal area.
9	Kongesti kapiler tampak pada <i>placental site</i> secara menyeluruh, nekrosis dengan derajat keparahan sedang dan hamorrhagi serta edema ringan tampak pada multifokal area.
10	Kongesti kapiler tampak pada <i>placental site</i> secara menyeluruh, edema ringan tampak pada multifokal area.
11	Kongesti kapiler tampak pada <i>placental site</i> secara menyeluruh, nekrosis dengan derajat keparahan sedang dan hamorrhagi serta edema ringan tampak pada multifokal area.
12	Kongesti kapiler tampak pada <i>placental site</i> secara menyeluruh, nekrosis dengan derajat keparahan sedang dan hamorrhagi serta edema ringan tampak pada multifokal area.

ID Hewan	Evaluasi mikroskopis pada <i>placental site</i>
13	Kongesti kapiler tampak pada <i>placental site</i> secara menyeluruh, nekrosis dengan derajat keparahan sedang dan hemorragi serta edema ringan tampak pada multifokal area.
14	Kongesti kapiler tampak pada <i>placental site</i> secara menyeluruh, nekrosis dengan derajat keparahan sedang dan hemorragi serta edema ringan tampak pada multifokal area.
15	Kongesti kapiler tampak pada <i>placental site</i> secara menyeluruh, nekrosis dengan derajat keparahan sedang dan hemorragi serta edema ringan tampak pada multifokal area.
16	Kongesti kapiler tampak pada <i>placental site</i> secara menyeluruh, nekrosis dengan derajat keparahan sedang dan hemorragi serta edema ringan tampak pada multifokal area.
17	Kongesti kapiler tampak pada <i>placental site</i> secara menyeluruh.
18	Kongesti kapiler tampak pada <i>placental site</i> secara menyeluruh.
19	Kongesti kapiler tampak pada <i>placental site</i> secara menyeluruh.
20	Kongesti kapiler tampak pada <i>placental site</i> secara menyeluruh.

Mengetahui,
Kepala Laboratorium Patologi Anatomi


drh Silvia AP, MSi, APVet (Patologist)

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
 RSPTN Universitas Hasanuddin
RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar
 Sekretariat : Lantai 2 Gedung Laboratorium Terpadu FKUH
 JL.PERINTIS KEMERDEKAAN KAMPUS TAMALANREA KM.10 MAKASSAR 90245
 Contact Person: dr. Agussalim Bukhari, MMed, PhD, SpGK Telp. 081241830858, Fax : 0411-581431

REKOMENDASI PERSETUJUAN ETIK

Nomor : 535 /H4.8.4.5.31/PP36-KOMETIK/2016

Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, RSPTN UH, RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo setelah melalui pembahasan dan penilaian, memutuskan penelitian berjudul:

Analisis Antibodi IgM-IgG Toxoplasma, TNF-Alpha, Interferon Gamma, Pada Mencit Hamil Yang Terinfeksi Toxoplasma Gondii : Kajian Intervensi Curcumin Dihubungkan Dengan Luaran Kehamilan

dengan Peneliti Utama: **dr.Tigor P. Simanjuntak.,SpOG**

No. Register

U	H	1	6	0	3	0	1	7	4
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Yang diterima pada tanggal : **8 Maret 2016**

Perbaikan diterima pada tanggal : **12 April 2016**

dapat disetujui untuk dilaksanakan di Laboratorium Biomolekular Dan Immunologi FK UNHAS Makassar.

Persetujuan Etik ini berlaku satu tahun sejak tanggal ditetapkan. Laporan perkembangan penelitian diserahkan kepada KEPK FKUH, RSPTN UH dan RSWS Makassar setiap tiga bulan/enam-bulan/satu tahun.

Pada akhir penelitian, **laporan akhir penelitian** harus diserahkan kepada KEPK FKUH, RSPTN UH dan RSWS Makasar paling lambat **2 Mei 2017**. Jika ada perubahan protokol dan /atau perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan kajian etik penelitian (amandemen protokol).

Makassar, 2 Mei 2016

Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fak. Kedokteran Unhas

Ketua



Prof.Dr.dr.Survani As'ad,M.Sc.Sp.GK
 NIP 19600504 1986 01 2 002



Sekretaris



dr. Agussalim Bukhari,PhD ,SpGK
 NIP 19700821 1999 03 1 001

Lampiran Foto Proses Penelitian

Lampiran : Foto Penelitian

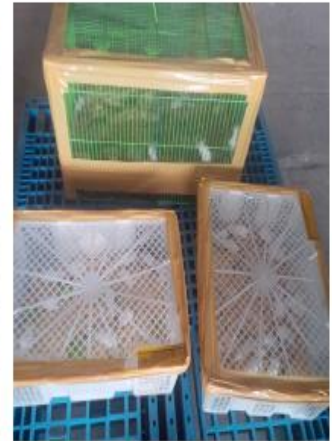
SIMANJUNTAK TP.

Analisis Kadar Antibodi Ig-IgM Anti Toksoplasma, Kadar TNF- α , Ekspresi Gen Foxp3, dan Histopatologi Jaringan Plasenta Mencit Hamil Muda dengan Toxoplasmosis Akut: Intervensi dengan Ekstrak *Curcuma Longa*

Dibimbing oleh Prof. Dr. dr. Syahrul Rauf, Sp.OG(K)., Prof. dr. Irawan Yusuf, Ph.D., Dr. dr. Andi Mardiah Tahir, Sp.OG(K).



Pengurusan di kantor Karantina, Bandara SOETA – Cengkareng Menuju Makassar.



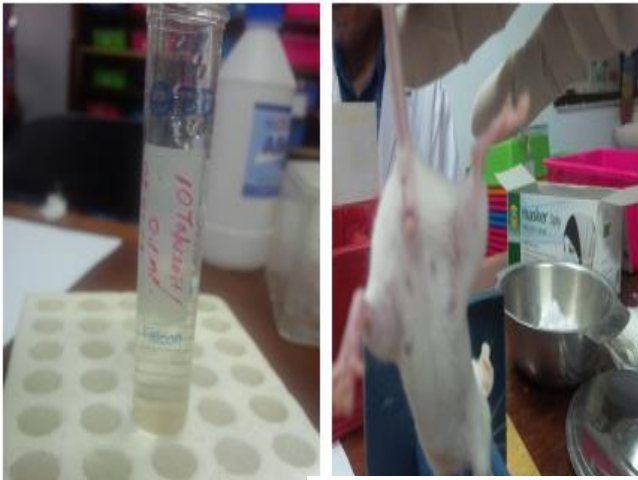
Kandang Mecit : Tahap Adaptasi



Tahap Pemodelan: Proses Penghamilan



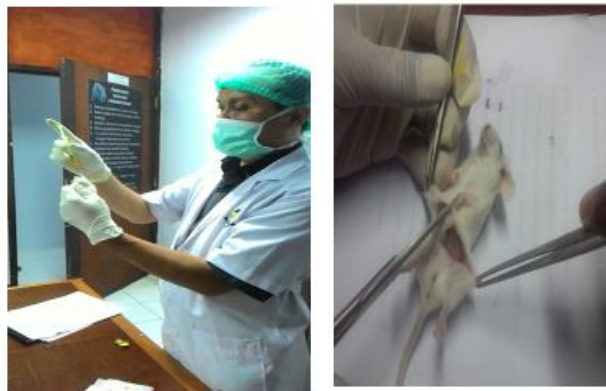
Tahap Pemodelan: Injeksi Takizoid Toxoplasma Gondii



Preparasi Ekstrak Kunyit



Memberi Makan dan Lapatomi



Rahim dan Janin



Pengambilan Sampel Darah

