

**EFEK EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lam)  
TERHADAP KADAR INTERFERON- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) SEL T CD4<sup>+</sup>  
DAN INTERLEUKIN-10 (IL-10) SEL MAKROFAG YANG  
DIPAPAR *Mycobacterium bovis* SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

Oleh :

**DINA ANISA ISNU HIDAYATI  
115130100111046**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN  
PROGRAM KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2015**

**EFEK EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lam)  
TERHADAP KADAR INTERFERON- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) SEL T CD4<sup>+</sup>  
DAN INTERLEUKIN-10 (IL-10) SEL MAKROFAG YANG  
DIPAPAR *Mycobacterium bovis* SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :

**DINA ANISA ISNU HIDAYATI  
115130100111046**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN  
PROGRAM KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2015**

## LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

EFEK EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lam) TERHADAP  
KADAR INTERFERON- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) SEL T CD4<sup>+</sup> DAN INTERLEUKIN-10  
(IL-10) SEL MAKROFAG YANG DIPAPAR *Mycobacterium bovis*  
SECARA *IN VITRO*

Oleh :

**DINA ANISA ISNU HIDAYATI**  
**NIM. 115130100111046**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji  
Pada tanggal 17 Desember 2015  
Dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

**Dr. Sri Murwani, drh., MP.**  
NIP. 19630101 198903 2 001

**Prof. Dr. Pratiwi Trisunuwati, drh., M.S.**  
NIP. 19480615 197702 2 001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Hewan  
Program Kedokteran Hewan  
Universitas Brawijaya

**Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES**  
NIP. 19600903 198802 2 001

## LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : Dina Anisa Isnu Hidayati

NIM : 115130100111046

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

Efek Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera Lam*) Terhadap Kadar Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) Sel T CD4<sup>+</sup> dan Interleukin-10 (IL-10) Sel Makrofag yang Dipapar *Mycobacterium bovis* secara *In Vitro*

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang tercantum di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang,  
Yang Menyatakan,

**Dina Anisa Isnu Hidayati**  
NIM. 115130100111046

**Efek Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera Lam*) Terhadap Kadar Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) Sel T CD4<sup>+</sup> dan Interleukin-10 (IL-10) Sel Makrofag yang Dipapar *Mycobacterium bovis* Secara *In Vitro***

**ABSTRAK**

*Bovine tuberculosis* merupakan zoonosis dan penyakit kronik yang disebabkan oleh *Mycobacterium bovis*. Infeksi *M. bovis* menyebabkan hiporesponsif sel imunokompeten hospes. Daun kelor (*Moringa oleifera Lam*) memiliki kandungan flavonoid dan saponin yang bekerja sebagai imunostimulator. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak daun kelor terhadap peningkatan sitokin interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) yang diproduksi oleh sel T CD4<sup>+</sup> dan penurunan kadar interleukin 10 (IL-10) yang diproduksi oleh sel makrofag. Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental post-test control only design* menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan terbagi menjadi enam kelompok, yaitu kelompok 1 (kontrol negatif) tanpa dipapar *M. bovis* dan ekstrak daun kelor, kelompok 2 (kontrol positif) dipapar *M. bovis* tanpa ekstrak daun kelor, kelompok 3, 4, 5, dan 6 dipapar *M. bovis* dan ekstrak daun kelor dengan dosis masing-masing sebesar 125  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , 250  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , 500  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , dan 1000  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ . Kultur sel T dan sel makrofag di inkubasi selama 96 jam serta dilakukan pengukuran kadar IFN- $\gamma$  dan IL-10 menggunakan *flowcytometri*. Data dianalisis secara statistik menggunakan *one-way ANOVA* dengan CI 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan kadar IFN- $\gamma$  yang diproduksi oleh sel T CD4<sup>+</sup> memiliki korelasi positif dengan peningkatan pemberian ekstrak daun kelor dan mencapai kadar maksimal pada dosis 1000  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ . Sedangkan kadar IL-10 sel makrofag mengalami penurunan secara optimum pada dosis 125  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ . Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak daun kelor memiliki efek imunostimulator yang mampu meningkatkan produksi IFN- $\gamma$  dan menurunkan produksi IL-10.

**Kata kunci:** *Mycobacterium bovis*, Daun kelor (*Moringa oleifera Lam*), Imunostimulator, Interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ), Interleukin-10 (IL-10)

**The Effects of Kelor Leaves Extract (*Moringa oleifera* Lam) on the Levels of Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) CD4<sup>+</sup> T Cells and Interferon-10 (IL-10) Macrophage Cells exposed to *Mycobacterium bovis* in vitro**

**ABSTRACT**

Bovine tuberculosis is a zoonosis and chronic disease caused by *Mycobacterium bovis*. *M. bovis* infection causing hyporesponsive host's immunocompetent cells. Moringa leaves (*Moringa oleifera* Lam) contains flavonoids and saponin that work as an immunostimulatory agent. This study aims to determine the effects of Moringa leaves to the increase levels of cytokine interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) produced by CD4<sup>+</sup> T cells and decreased levels of interleukin-10 (IL-10) produced by macrophage. This study is a true experimental control post-test only design used Completely Randomized Design. The treatment was divided into six groups: group 1 (negative control) without being exposed to *M. bovis* and Moringa leaves extract, group 2 (positive control) exposed to *M. bovis* without Moringa leaves extract, group 3, 4, 5, and 6 exposed to *M. bovis* and Moringa leaves extract doses of 125  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , 250  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , 500, and 1000  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , respectively. Cultures of T cells and macrophages were incubated for 96 hr and measured levels of IFN- $\gamma$  and IL-10 using *flowcytometry*. Data were statistically analyzed using one-way ANOVA with CI 95%. The results showed that elevated levels of IFN- $\gamma$  produced by CD4<sup>+</sup> T cell have a positive correlation with increased dose of Moringa leaves extract and reaches maximum levels at dose of 1000  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ . While the levels of IL-10 decreased macrophage cells optimally at a dose of 125  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ . The conclusion from this study is a s extract of Moringa leave has immunostimulatory effect that is capable of increasing the production of IFN- $\gamma$  and decreasing IL- 10 production.

**Keywords:** *Mycobacterium bovis*, Moringa leaves (*Moringa oleifera* Lam), Immunostimulator, Interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ), Interleukin-10 (IL-10)

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa karena telah memberi rahmat dan pertolongan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul **“Efek Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera Lam*) Terhadap Kadar Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) Sel T CD4<sup>+</sup> dan Interleukin-10 (IL-10) Sel Makrofag yang Dipapar *Mycobacterium bovis* secara *In Vitro*”**. Penelitian ini merupakan penelitian eksplorasi dan eksperimental mengenai efek pemberian ekstrak daun kelor. Serta salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan pada Program Kedokteran Hewan, Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Universitas Brawijaya. Dalam penulisan laporan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Sri Murwani, drh., MP. selaku dosen pembimbing 1 atas bimbingan, ilmu, kesabaran, fasilitas dan waktu yang telah diberikan sehingga skripsi ini telah terselesaikan.
2. Prof. Dr. Pratiwi Trisunuwati, drh., M.S. selaku dosen pembimbing 2 atas bimbingan, ilmu, kesabaran, fasilitas dan waktu yang telah diberikan sehingga skripsi ini telah terselesaikan.
3. drh. IDP Anom Adnyana, M.Vet. selaku dosen penguji 1 atas tanggapan, saran, dan arahan untuk perbaikan skripsi.
4. drh. Riski Arya Pradikta, M.Vet. selaku dosen penguji 2 atas tanggapan, saran, dan arahan untuk perbaikan skripsi.

5. Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh., Prof. Ida, Mbak Helen, Mas Eryk, Mbak Agnes, Pak Sugeng, seluruh staf serta asisten Laboratorium *Stem Cell Institute of Tropical Disease* dan Laboratorium *Tuberculosis Institute of Tropical Disease*, Universitas Airlangga yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian.
6. Bapak Prof. Muhaimin Rifa'i, PhD. Med. Sc., Mas Bambang, seluruh staf serta asisten Laboratorium Fisiologi Hewan FMIPA, Universitas Brawijaya yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian.
7. Seluruh staf serta asisten Laboratorium Mikrobiologi PKH Universitas Brawijaya yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian.
8. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES, selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Universitas Brawijaya.
9. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi yang sudah mendanai penelitian ini sehingga membantu penulis dalam menyelesaikan studi.
10. Orang tua tercinta, bapak Drs. Imam Sutrisno, ibu Nurul Laily, dan adik Ning Lailatus Syarifatul Fajriyah yang senantiasa memberikan semangat, cinta, kasih sayang dan doa yang tiada henti demi keberhasilan penulis sehingga penulis mampu menyelesaikan studi.
11. Tim Penelitian PKM-P EKORBIOS, Septin Mauludiyana, Natiq Humayroh, Sherly Nur Hermeitasari, dan Christophorus Algriawan Bayu W. atas semangat dan kerja sama yang diberikan sehingga penelitian ini terselesaikan.
12. Orang terkasih Moh. Lutfi Purwanto, Sahabat tercinta Galuh Desita Ika Sari, dan sahabat IPA 3 Risky Ar-Rahman, Helmi Yanuar, Arfiliyah, Mesayu



Amalia, Iswanda Al-Fian, Intan Septaningtyas, Fenty, Dhika, Saadatul Huriyah yang telah memberikan semangat, dukungan, dan doa demi keberhasilan penulis sehingga mampu menyelesaikan studi.

13. Teman-teman 2011 kelas B (Bebeluck) Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya yang selalu memberikan semangat, keceriaan, dan inspirasi yang luar biasa.

14. Seluruh Sahabat seperjuangan di Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya angkatan 2011 atas segala perhatian, dorongan, penghargaan, ajaran, dukungan dan doa yang telah diberikan.

15. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan laporan PKL ini yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu.

Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan dan skripsi ini dapat memberikan manfaat dan menambah pengetahuan tidak hanya bagi penulis tetapi juga bagi pembaca.

Malang, Desember 2015

Penulis

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>ABSTRAK</b> .....	v
<b>ABSTRACT</b> .....	vi
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	x
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiv
<b>DAFTAR ISTILAH</b> .....	xv
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang Penelitian .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
1.5 Batasan Masalah .....	6
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	8
2.1 <i>Mycobacterium bovis</i> .....	8
2.1.1 Klasifikasi .....	8
2.1.2 Morfologi .....	8
2.1.3 Hospes .....	10
2.2 <i>Bovine Tuberculosis</i> .....	11
2.2.1 Etiologi .....	11
2.2.2 Patogenesis .....	12
2.2.3 Gejala klinis .....	15
2.2.4 Faktor yang Mempengaruhi Kemunculan <i>Bovine tuberculosis</i> .....	19
2.2.5 Cara Penularan .....	20
2.2.6 Diagnosa <i>Bovine Tuberculosis</i> .....	21
2.3 Daun Kelor ( <i>Moringa oleifera Lam</i> ) .....	23
2.3.1 Klasifikasi .....	23
2.3.2 Kandungan Bahan Aktif .....	25
2.4 Respon Sistem Imun terhadap Infeksi <i>Mycobacterium bovis</i> .....	26
2.4.1 Respon Imun Nonspesifik atau <i>Innate Immunity</i> .....	28
2.4.2 Respon Imun Spesifik atau <i>Adaptive Immunity</i> .....	29
2.4.3 Aktifasi Makrofag .....	30
2.4.4 Aktifitas Respon Imun Seluler .....	31
2.4.5 Apoptosis .....	33
2.5 Mekanisme Kerja Ekstrak Daun Kelor ( <i>Moringa oleifera Lam</i> ) dalam Respon Sistem Imun .....	35
<b>BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b> .....	37
3.1 Kerangka Konseptual .....	37

3.2 Hipotesis Penelitian .....	40
<b>BAB 4. METODE PENELITIAN</b> .....	41
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	41
4.2 Alat dan Bahan .....	41
4.3 Sampel Penelitian .....	42
4.4 Rancangan Penelitian .....	43
4.5 Variabel Penelitian .....	43
4.6 Prosedur Penelitian .....	44
4.6.1 Persiapan Hewan Coba Mencit .....	44
4.6.2 Pembuatan Ekstrak Daun Kelor ( <i>Moringa oleifera Lam</i> ) .....	44
4.6.3 Uji Kontaminasi Ekstrak Daun Kelor ( <i>Moringa oleifera Lam</i> ) .....	45
4.6.4 Isolasi dan Kultur Sel T .....	45
4.6.5 Isolasi dan Kultur Sel Makrofag .....	46
4.6.6 Pemberian Ekstrak Daun Kelor ( <i>Moringa oleifera Lam</i> ) pada Kultur Sel T dan Kultur Sel Makrofag .....	46
4.6.7 Pemberian <i>Mycobacterium bovis</i> pada Kultur Sel T dan Kultur Sel Makrofag .....	47
4.6.8 Panel Sel T dan Sel Makrofag .....	47
4.6.9 Deteksi Interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) Sel T CD4 <sup>+</sup> dan Interleukin 10 (IL-10) Sel Makrofag .....	48
4.6.10 Analisa Data .....	49
<b>BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	50
5.1 Efek Ekstrak Daun Kelor ( <i>Moringa oleifera Lam</i> ) terhadap Kadar Terhadap Kadar Interferon- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ ) Sel T CD4 <sup>+</sup> .....	50
5.2 Efek Ekstrak Daun Kelor ( <i>Moringa oleifera Lam</i> ) terhadap Kadar Terhadap Kadar Interleukin 10 (IL-10) Sel Makrofag .....	56
<b>BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	64
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	65
<b>LAMPIRAN</b> .....	73

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
2.1 Kerentanan spesies hewan terhadap tipe bakteri TBC .....	12
2.2 Analisis Fotokimia dari Daun Kelor ( <i>Moringa oleifera Lam</i> ) .....	26
5.1 Rata-rata Kadar IFN- $\gamma$ yang diproduksi oleh sel T CD4 <sup>+</sup> .....	52
5.2 Rata-rata Kadar IL-10 yang diproduksi oleh sel Makrofag .....	58

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
2.1 <i>Mycobacterium bovis</i> dengan pewarnaan <i>Zeihl Neelson</i> .....	9
2.2 (A) Limfoglandula sapi yang terinfeksi <i>bovine tuberculosis</i> (B) Limfoglandula sapi yang normal .....	13
2.3 Sapi pada tahapan infeksi akhir yang terinfeksi tuberkulosis dengan tanda kelemahan dan kekurusan .....	16
2.4 Area pada paru-paru yang mengalami multifokal granuloma.....	18
2.5 Tuberculous granuloma pada Limfonodul Mediastinum yang terinfeksi <i>M.bovis</i> .....	18
2.6 (A) Lesi tuberkulosis pada paru-paru sapi yang terinfeksi <i>M. bovis</i> (B) Lesi tuberkulosis pada permukaan endometrium sapi yang terinfeksi <i>M. bovis</i> .....	18
2.7 Mekanisme respon imun dari sel T CD4 <sup>+</sup> dan CD8 <sup>+</sup> terhadap bakteri intraseluler.....	32
3.1 Kerangka konseptual .....	37
5.1 Grafik Rataan Kadar Sitokin IFN- $\gamma$ yang diproduksi sel T CD4 <sup>+</sup> .....	51
5.2 Grafik Rataan Kadar Sitokin IL-10 yang diproduksi oleh Sel Makrofag ..	57

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Sertifikat Laik Etik.....	74
2. Surat Keterangan Determinasi Tanaman .....	75
3. Surat Keterangan Mencit Sehat.....	76
4. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kelor ( <i>Moringa oleifera Lam</i> ) .....	77
5. Pembuatan Sediaan Dosis dengan Homogenisasi dan Pengenceran Bertingkat.....	78
6. Perhitungan dosis <i>Mycobacterium bovis</i> .....	79
7. Skema Tahap Penelitian .....	80
8. Alur Pemeriksaan <i>Flowcytometry</i> .....	81
9. Hasil Uji Kontaminasi Ekstrak Daun Kelor ( <i>Moringa oleifera Lam</i> ).....	82
10. Laboratorium <i>Biosafety Level 3</i> .....	83
11. Gambar Hasil Uji <i>Flowcytometry</i> IFN- $\gamma$ Sel T CD4 <sup>+</sup> dan IL-10 Sel Makrofag .....	84
12. Hasil Analisa Statistik IFN- $\gamma$ Sel T CD4 <sup>+</sup> .....	88
13. Hasil Analisa Statistik IL-10 Sel Makrofag.....	91

## DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

<u>Simbol/Singkatan</u>	Keterangan
µg	Mikrogram
ANOVA	<i>Analisis of Variant</i>
APC	<i>Antigen-Presenting Cell</i>
Bcl-2	<i>B-cell lymphoma-2</i>
BNJ	Beda Nyata Jujur
C	Celcius
Cm	Centimeter
CMI	<i>Cell Mediated Immunity</i>
CTL	<i>Cytolytic T lymphocytes</i>
DISC	<i>Death-Inducing Signaling Complex</i>
DTH	<i>Delayed Type Hypersensitivity</i>
FACS	<i>Fluorescence-Activated Cell Sorting</i>
FITC	<i>Fluoresence Isothiocyanat</i>
g	Gram
IFN-γ	Interferon-Gamma
IL	Interleukin
LAF	<i>Laminar Air Flow</i>
LAM	Lipoarabinomannan
MAb	<i>Monoclonal Antibody</i>
MAPK	<i>Mitogen Activated Protein Kinase</i>
ml	Milliliter
MTBC	<i>Mycobacterium tuberculosis complex</i>
NF-κB	<i>Nuclear Factor Kappa B</i>
NK	<i>Natural Killer</i>
NO	<i>Nitric Oxide</i>
PBS	<i>Phosphat Buffer Saline</i>
PE	<i>Phycoerythrin</i>
PPD	<i>Purified Protein Derivative</i>

RAL	Rancangan Acak Lengkap
ROI	<i>Reactive Oksigen Intermediate</i>
rpm	<i>Revolutions per Minute</i>
RPMI	<i>Roswell Park Memorial Institute</i>
Sel Th	<i>Sel T Helper</i>
SPSS	<i>Statistical Product of Service Solution</i>
sTNFR2	<i>soluble TNF receptor 2</i>
TACO	<i>Tryptophan - Aspartate - Containing Coat Protein</i>
TBC	Tuberkulosis
TCR	<i>anti-T-cell-receptor</i>
TGF- $\beta$	<i>Transforming Growth Factor-Beta</i>
TLRs	<i>Toll-Like Receptors</i>
TNF- $\alpha$	<i>Tumor Necrosis Factor-Alpha</i>