

## **BAB 1. PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang Penelitian**

Ternak dan hasil produksinya merupakan sumber bahan pangan protein yang sangat penting untuk peningkatan kualitas sumber daya manusia Indonesia. Akan tetapi sumber pangan asal hewan juga dapat menimbulkan masalah kesehatan bagi manusia karena dapat menyebabkan penularan penyakit dari hewan ke manusia ketika hewan yang dikonsumsi mengalami suatu penyakit menular yang disebut zoonosis, salah satunya adalah *bovine tuberculosis*. *Bovine tuberculosis* merupakan penyakit infeksius menular dan menahun (kronik) yang disebabkan oleh *Mycobacterium bovis*. *Bovine tuberculosis* mampu menyerang berbagai inang seperti manusia, hewan domestik, hewan kesayangan, dan satwa liar. *Bovine tuberculosis* telah tersebar luas di berbagai belahan dunia seperti Afrika, Asia, Amerika Selatan, dan terutama di wilayah penghasil ternak potensial. Indonesia dikonfirmasi adanya penyakit ini secara klinis (OIE, 2009). Kejadian tuberkulosis sapi dilaporkan pertama kali menyerang sapi perah di Semarang (Jawa Tengah) oleh Penning pada tahun 1906, yang pada saat itu dilakukan uji tuberkulinasi terhadap 303 ekor sapi perah dan hasilnya ditemukan tiga ekor sapi yang bereaksi positif (reaktor) terhadap tuberkulosis (Tarmudji dan Supar, 2008).

Di bidang peternakan, *bovine tuberculosis* merupakan penyakit yang paling penting, bukan hanya karena peranannya sebagai sumber penularan

pada manusia, tetapi juga karena dapat menurunkan produktivitas sapi sehingga dapat menimbulkan kerugian ekonomi walaupun sapi tidak mati (Soejoedono, 2004). Semua bangsa (*breed*) sapi rentan terhadap infeksi *M. bovis*, umumnya anak sapi lebih rentan terhadap infeksi dibandingkan dengan sapi dewasa. Selain itu, 1% - 2% infeksi *M. bovis* pada sapi dapat berkembang menjadi *Mycobacterial mastitis* dan bakteri dikeluarkan melalui air susu sapi. Manusia dapat tertular *M. bovis* melalui saluran pencernaan, mengkonsumsi produk ternak yang tercemar atau susu yang tidak dipasteurisasi dan juga melalui saluran pernafasan secara aerosol. Selain merupakan penyakit zoonosis, *bovine tuberculosis* yang disebabkan oleh *M. bovis* juga merupakan *re-emerging disease* (Shrikrishna *et al.*, 2009).

Sampai saat ini, penanganan *bovine tuberculosis* terbatas pada penggunaan antibiotik secara intensif dalam waktu lama. Padahal penggunaan antibiotik secara terus menerus dapat menyebabkan residu antibiotik dalam daging, susu, dan jaringan organ ternak yang beresiko menimbulkan alergi, resistensi, dan keracunan pada manusia jika dikonsumsi. Penggunaan antibiotik telah ditetapkan pada Peraturan Internasional tentang batas penggunaan antibiotik dan sudah diterapkan di negara-negara Eropa dan China (Castanon, 2007; Wang *et al.*, 2011). Seperti halnya *M. tuberculosis*, *M. bovis* juga sudah mulai menjadi resisten terhadap beberapa antibiotika (*multi drug resistance*). Selain itu, pemberian antibiotik biasanya hanya berfokus pada pemusnahan agen penyebab tanpa adanya pertimbangan terhadap kondisi sistem kekebalan tubuh hospes. Salah satu

gangguan sistem kekebalan tubuh yang sering terjadi adalah hiporesponsif sel-sel imunokompeten. Hal ini menjadi parameter penting dalam melakukan pengobatan terhadap kasus infeksi akibat mikroorganisme (Yuningsih, 2005).

Peningkatan imunitas dapat dilakukan dengan terapi pemberian obat-obatan herbal untuk meminimalisir adanya resistensi terhadap bakteri target. Obat-obatan herbal dapat berasal dari buah, sayur, maupun tanaman yang memiliki kandungan sebagai imunomodulator (Hefni dkk., 2013). Penelitian mengenai tanaman obat di Indonesia telah banyak dilakukan terkait dengan kandungan bahan aktif sebagai hasil dari metabolisme sekunder dari tanaman yang mampu memberikan banyak manfaat, salah satunya untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan peningkatan sistem imun (imunomodulator). Salah satu tanaman yang banyak diteliti dan telah diketahui manfaatnya dalam bidang kedokteran adalah kelor (*Moringa oleifera Lam*). Tanaman kelor juga dikenal sebagai tanaman obat berkhasiat dengan memanfaatkan seluruh bagian dari tanaman kelor mulai dari daun, kulit batang, biji, hingga akarnya (Simbolan *et al.*, 2007).

Kandungan aktif dari tanaman kelor adalah *alkaloid, flavonoid*, seperti *quercetin* dan *kaempferol, tocopherol*, derivat *benzylisothiocyanated* dan *gliserol* (Gaikwad *et al.*, 2011). Menurut Kasolo *et al.*, (2010) kandungan fitokimia daun kelor yang diekstraksi dengan air meliputi senyawa *gallic tannin, steroids, titerpenoid, flavonoid, saponin, antraquinones, catecol tannin, alkaloid* dan *reducing sugar*. Kandungan

fitokimia kelor ini dapat bermanfaat dalam meningkatkan titer antibodi, meningkatkan konsentrasi leukosit, eritrosit, kadar haemoglobin (Hb), dan persentase neutrofil (Sudha *et al.*, 2010; Gupta *et al.*, 2010).

Daun kelor (*Moringa oleifera Lam*) juga mengandung *glucosinolate 4 alpha-L-rhamnosyloxy benzyl isothiocyanate* yang berfungsi sebagai antibiotik. Selain itu, daun kelor banyak mengandung *saponin*, *flavonoid*, dan *alkaloid* yang dapat berperan sebagai imunostimulator, sehingga mampu mengembalikan ketidakseimbangan sistem kekebalan tubuh yang terganggu dengan cara merangsang dan memperbaiki fungsi sistem kekebalan tubuh (Mustafa, 2003). Flavonoid yang terdapat dalam daun kelor telah diuji mempunyai manfaat anti-aterosklerotik, anti-inflamasi, anti-tumor, anti-thrombosis, anti-osteoporosis, dan anti-virus (Shahid *and* Bhanger, 2004).

Berdasarkan uraian tersebut, dapat terlihat adanya potensi besar dalam pemanfaatan daun kelor (*Moringa oleifera Lam*) sebagai pencegahan infeksi *bovine tuberculosis*. Oleh karena itu, perlu dilakukan uji efek pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera Lam*) untuk membuktikan efek imunostimulator ekstrak daun kelor secara *in vitro* terhadap kadar IFN- $\gamma$  sel T CD4<sup>+</sup> dan kadar IL-10 sel makrofag yang dipapar *Mycobacterium bovis*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu apakah ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera Lam*) memiliki potensi sebagai imunostimulator

terhadap kadar IFN- $\gamma$  sel T CD4<sup>+</sup> dan kadar IL-10 sel makrofag yang dipapar *Mycobacterium bovis* secara *in vitro*.

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera Lam*) terhadap perubahan kadar IFN- $\gamma$  sel T CD4<sup>+</sup> dan kadar IL-10 sel makrofag yang dipapar *Mycobacterium bovis* secara *in vitro*.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu:

1. Sebagai sumber informasi mengenai potensi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera Lam*) yang memiliki fungsi sebagai imunostimulator.
2. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang pengaruh ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera Lam*) terhadap perubahan kadar IFN- $\gamma$  sel T CD4<sup>+</sup> dan kadar IL-10 sel makrofag yang dipapar *Mycobacterium bovis* secara *in vitro* sehingga dapat menjadi acuan bagi penelitian selanjutnya.
3. Pemanfaatan herbal yang berpotensi sebagai imunostimulator pada hewan yang terinfeksi *Mycobacterium bovis* sehingga dapat mengurangi kerugian ekonomis peternak dan mengurangi angka kejadian penyakit zoonosis pada manusia.

## 1.5 Batasan Masalah

Batasan dari penelitian ini yaitu :

1. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) galur *Balb-c* jantan berumur 12-14 minggu dengan berat badan 20-30 gram (Lestarini, 2008) yang diperoleh dari *Institute of Tropical Disease* Universitas Airlangga, Surabaya dan telah mendapatkan sertifikat laik etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya No:236-KEP-UB (Lampiran 1).
2. Bakteri yang digunakan adalah bakteri *Mycobacterium bovis* yang didapatkan dari instalasi mikrobiologi Rumah Sakit drh. Soetomo, Surabaya dalam bentuk suspensi yang diencerkan menggunakan metode *McFarland* (Cappucino and Sherman, 2001).
3. Daun kelor yang digunakan didapatkan dari Matera Media, Kota Batu yang dideterminasi sebagai *Moringa oleifera Lam* dengan No. 074/089/101.8/2015 (Lampiran 2).
4. Dosis ekstrak daun kelor yang digunakan adalah 125 µg/ml, 250 µg/ml, 500 µg/ml, dan 1000 µg/ml (Lampiran 5) (Nugraha, 2013).
5. Pembuatan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera Lam*) dilakukan di Politeknik Negeri Malang. Ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera Lam*) adalah cairan coklat pekat yang diperoleh dari serbuk daun kelor yang di maserasi atau direndam dalam larutan etanol kemudian diuapkan menggunakan *rotatory evaporator* pada suhu 70°C (Lampiran 4) (Loresta, 2013).

6. Sel limfosit T yang di kultur di isolasi dari darah mencit (*Mus musculus*) galur Balb-c menggunakan metode “*Separation lymphocytes from Blood using Ficoll*” (Pollard and Walker, 2007) yang diambil melalui jantung dan ditanam dalam media kultur sebanyak  $2 \times 10^6$ .
7. Sel makrofag yang dikultur di isolasi dari cairan peritoneal mencit (*Mus musculus*) galur Balb-c dengan melakukan sentrifugasi pada suspensi sel sehingga akan didapatkan pelet yang berisi makrofag dan ditanam dalam media kultur sebanyak  $3 \times 10^4$ - $3 \times 10^5$  (Rantam, 2013).
8. Rasio perbandingan *Mycobacterium bovis* pada sel target adalah 1:10 (Hirsch et al, 2000).
9. Variabel yang diamati yaitu kadar kadar IFN- $\gamma$  sel T CD4<sup>+</sup> dan kadar IL-10 sel makrofag yang diamati menggunakan *flowcytometry*.