

**PERKEMBANGAN SEL T CD4⁺ DAN CD62L⁺ PADA ORGAN
SPLEEN MENCIT BALB/C BUNTING YANG DIINFEKSI
Salmonella Typhimurium SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK
ETHSANOL DAUN *Polycias obtusa* DAN *Elephantopus scaber***

SKRIPSI

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Oleh :

NidaAsfi

105090107111007



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

2014

**PERKEMBANGAN SEL T CD4⁺ DAN CD62L⁺ PADA
ORGANSPLEEN MENCIT BALB/C BUNTING YANG
DIINFEKSI *Salmonella Typhimurium* SETELAH PEMBERIAN
EKSTRAK ETHSANOL DAUN *Polyciasobtusa* DAN
*Elephantopusscaber***

SKRIPSI

**SebagaisalahsatusaratuntukmemperolehgelarSarjanaSainsdalambi
dangBiologi**

Oleh :

NidaAsfi

105090107111007



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

2014

HALAMAN PENGESAHANSKRIPSI

**Perkembangan sel T CD4⁺ dan CD62L⁺ pada Organ *Spleen*
Mencit Balb/c bunting yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*
setelah pemberian ekstrak Etanol daun *Policias obtuse* dan
*Elephantopus scaber***

Oleh:

Nida Asfi

105090107111007

Telah dipertahankan di depan majelis Penguji pada tanggal 10 Juli 2014
Dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar Sarjana
Sains dalam Bidang Biologi

**Menyetujui
Pembimbing**

Dr. Ir. Mochamad Sasmito Djati.MS

NIP. 196103041994031001

**Mengetahui
Ketua Program Studi S1 Biologi**

Rodliyati Azrianingsih, S.Si., MAggr.Sc., Ph.D

NIP.19700128-199412-2-001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini

Nama : Nida Asfi

Nim : 105090107111007

Judul Skripsi :

Perkembangan sel T CD4⁺ dan CD62L⁺ pada Organ *Spleen* Mencit Balb/c bunting yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* setelah pemberian ekstrak Etanol daun *Policias obtuse* dan *Elephantopus scaber*

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Skripsi yang disusun ini adalah benar-benar karya saya sendiri dan bukan hasil plagiat dari hasil karya orang lain. Karya-karya yang tercantum dalam Daftar Pustaka skripsi ini semata-mata hanya digunakan sebagai acuan atau referensi.
2. Apabila dikemudian hari diketahui isi skripsi saya ini adalah merupakan hasil plagiat dari karya orang lain maka saya bersedia menanggung akibat hukum dari keadaan tersebut

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala tanggung jawab dan kesadaran

Malang, 19 Juli 2014
Yang menyatakan

NidaAsfi
105090107111007

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi yang disusun oleh penulis ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum sebagai sumber referensi dan pembelajaran lebih lanjut, dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka yang ada dalam skripsi ini diperkenankan untuk dicantumkan, namun pengutipan hanya dapat dilakukan sejjin penulis dan harus disertai dengan aturan penulisan ilmiah dan etika penulisan yakni dengan menyebutkannya



Perkembangan sel T CD4⁺ dan CD62L pada Organ *Spleen* Mencit Balb/c bunting yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* setelah pemberian ekstrak Etanol daun *Policias obtuse* dan *Elephantopus scaber*

NidaAsfi dan Moch.Sasmito Djati
Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Brawijaya

ABSTRAK

Policias obtuse dan *Elephantopus scaber* merupakan tanaman yang memiliki kemampuan Immunomodulator. Penelitian menggunakan dua tanaman obat ini secara bersama diharapkan dapat diketahui manfaat sinergis antara kedua tanaman obatini. Penelitian ini dilakukan menggunakan hewan coba mencit Balb/C *Musmusculus* yang diinfeksi dengan bakteri *Salmonella typhi* (dosis 10⁸). Treatment diberikancara oral dari ekstrak etanol daun Tapak liman dan Kedondong laut dengan perbandingan dosis antara kedua yaitu (0%:100%; dan50%:50%) dengan dosis awal *Elephantopus scaber* dan *Polyscias obtuse* sebesar 50mg/KgBB. Pembedahan dilakukan pada hari ke-14 dan ke-18 setelah dilakukan injeksi. Sel limfosit diisolasi dari organ spleen, dianalisa dengan flowcitometry dan dianalisa hasil dengan *one way* ANOVA menggunakan SPSS 16.0 dan dilanjutkan uji Tukey. Berdasarkan hasil yang didapatkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak etanol daun Kedondong laut dan Tapak liman menurunkan jumlah relative sel TCD4⁺ secara signifikan yaitu sebesar 6,29% dibandingkan kontrol positif 18,9%, dan dibandingkan dengan pemberian ekstrak daun tapak liman saja tidak menurun secara signifikan yaitu sebesar 9.22% hal tersebut menunjukkan adanya efek imunosupresan dari Tapak liman dan Kedondong laut yang diberikan bersamaan. Jumlah relative sel T CD62L⁺ menunjukkan peningkatan yang cukup signifikan pada perlakuan pemberian ekstrak etanol daun Kedondong laut dan Tapak liman yaitu sebesar 14,19% dibandingkan kontrol yaitu 5,35%, dan menurun pada perlakuan pemberian tapak liman saja, hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanoldaun Kedondong laut dan Tapak liman mempengaruhi proliferasi sel naive

Kata kunci: *Elephantopus scaber*, *Polyscias obtusa*, Spleen

The development of CD4 + T cells and CD62L on Spleen of BALB / c Pregnant mice infected with Salmonella typhimurium after administration *Polycias obtusa* and *Elephantopus scaber* leaves ethanol extract

NidaAsfi and Moch.Sasmito Djati

Biology Department, Faculty of Mathematic and Natural Science
Brawijaya University

ABSTRAC

Polyscias obtusa and *Elephantopus scaber* is a plant that has immunomodulators effect. This research using these two herbs are expected to know the benefits of synergy between these two medicinal plants. This research was conducted using experimental animals Balb / C mice *Mus musculus* infected with the bacterium *Salmonella typhi* (108 doses). Treatment was administered orally from the ethanol extract of the leaves *Polyscias obtuse* and *Elephantopus scaber* with dose (0%: 100% and 50%: 50%) with an initial dose of *Elephantopus scaber* and *Polyscias obtusa* by 50mg/KgBB. Surgery performed on the 14th day and 18th after injection. Lymphocytes isolated from the spleen organ, analyzed with flowcytometry and analyzed the results with one way ANOVA using SPSS 16.0 and Tukey test continued. Based on the results obtained that the treatment of ethanol extract of leaves *Polyscias obtuse* and *Elephantopus scabers* shown the relative number of cells was lower significantly TCD4⁺ is equal to 6.29% compared to positive controls 18.9%, and compared with *Elephantopus scaber* leaf extract alone did not decrease significantly ie at 9,22% it showed immune suppressive effects of *Polyscias obtusa* and *Elephantopus scaber* given simultaneously. Relative number of CD62L⁺ T cells showed a significant increase in treatment of ethanol extract of leaves Kedondong laut and Tapak liman is equal to 14.19% compared to controls 5.35%, and decreased in treatment just *Elephantopusscaber*, this shows that the ethanol extract of leaves *Physciasobtusa* and *Elephantopus scaber* makes cell proliferation naïve affect.

Kata kunci: *Elephantopus scaber*, *Polyscias obtusa*, Spleen,

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas limpahan berkat, rahmat, taufik, serta hidayahNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan dengan baik penyusunan skripsi yang berjudul “Perkembangan sel T CD4⁺ dan CD62L pada Organ *Spleen* Mencit Balb/c bunting yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* setelah pemberian ekstrak Etanol daun *Policia sobtusa* dan *Elephantopus scaber*”.

Penulis merasa bahwa bahwa pada penulisan skripsi ini tentunya tidak lepas dari berbagai kendala, namun berkat bantuan, bimbingan, kerjasama dan dukungan dari berbagai pihak dan berkah dari Allah SWT berbagai kendala tersebut dapat diatasi. Oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Ayahanda Syamsudin dan Ibunda Siti Zahroh tercinta, serta saudara-saudaraku Qurni Restiani dan Syahrul hikam terima kasih atas doa, motivasi seta dukungan secara moril dan materi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Dr. Ir. M. SasmitoDjati., MS selaku dosen pembimbing yang telah membimbing, memberikritikan, saran, sertaarahan yang membangunskripsiini.
3. Muhimin Rifa’I, S.Si, PhD. Med Sc dan Drs. Aries Soewondo, M.Si selaku dosen penguji yang telah memberikan banyak masukan yang sangat membangun skripsi ini.
4. Teman-teman tim penelitian Ainun fadhilah, Nurul faizah dan Roffico terima kasih atas kerjasamanya yang baik
5. Bapak Harmaji dan Mbak Nanik selaku laboran laboratorium Fisiologi Hewan dan Mikrobiologi.
6. B.Z. Habibie, Arani M., R. Ayu S.H., Dinia R., Lutviyana R, Ela O., Diajeng A.M dan Tenty L. yang senantiasa member motivasi, dukungan dan kasih sayang.
7. Keluarga besar Mahasiswa Biologi Universitas Brawijaya angkatan 2010 terima kasih atas do’a, dukungan dan kebersamaannya.

8. Terima kasih juga kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua dan menjadi bahan masukan bagi dunia pendidikan, namun penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu kritik, saran serta masukan yang membangun sangat penulis harapkan.

Malang, 19 Juli 2014

Penulis

Nida Asfi

105090107111007



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	iv
ABSTRAK	v
ABSTRAC	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan.....	3
1.4 Manfaat.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 <i>Polyscias obtusa</i>	4
2.1.1 Sistematika dan morfologi <i>Polyscias obtusa</i>	4
2.1.2 Kandungan senyawa kimia <i>Polyscias obtusa</i>	5
2.2 <i>Elephantphopus scaber</i>	6
2.2.1 Sistematika dan morfologi <i>Elephantphopus scaber</i>	6
2.2.1 Kandungan senyawa kimia <i>Elephantphopus scaber</i>	7
2.3 <i>Salmonella thypimurium</i>	9
2.4 Sistem Imun dalam tubuh.....	11
2.5 Repon Imun Terhadap Bakteri.....	15
2.6. Flowcytometry.....	18

BAB III METODE PENELITIAN.....	19
3.1 Waktu dan Tempat	19
3.2 Alat dan Bahan	19
3.3 Cara kerja	19
3.3.1 Persiapan rancangan percobaan	19
3.3.2 Proses perkawinan mencit.....	20
3.3.3 Ekstraksi daun <i>Polyscias obtusa</i>	21
3.3.4 Ekstraksi daun <i>Elephantopus scaber</i>	21
3.3.5 Pemberian ekstrak daun Kedondong laut dan Tapak liman	22
3.3.6 Injeksi <i>Salmonella thypimurium</i> pada mencit.....	22
3.3.7 Isolasi Sel dari organ <i>Spleen</i>	23
3.3.8 Analisa Flowcytometry.....	23
3.3.9 Analisa data.....	23
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	 24
4.1 Analisa jumlah relatif sel T CD4 ⁺	24
4.2 Analisa jumlah relatif sel T CD62L ⁺	27
 BAB V PENUTUP.....	 30
 Daftarpustaka	 31
Lampiran.....	34

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Morfologi Kedondonglaut	4
2. Morfologi Tapak Liman.....	6
3. Organ-organ limfoid	12
4. Penampang melintang dan membujur organ spleen	13
5. Mekanisme respon imun.....	16
6. Jumlah relative sel T CD4 ⁺ CD62L ⁻ setelah perlakuan.....	23
7. Profil jumlah relative Sel T CD4 ⁺ CD62L ⁻ setelah perlakuan	25
8. Jumlah relatif sel T CD ⁺ CD62L ⁺ setelah perlakuan	26
9. Profil jumlah relatif sel T CD ⁺ CD62L ⁺ setelah perlakuan.....	27



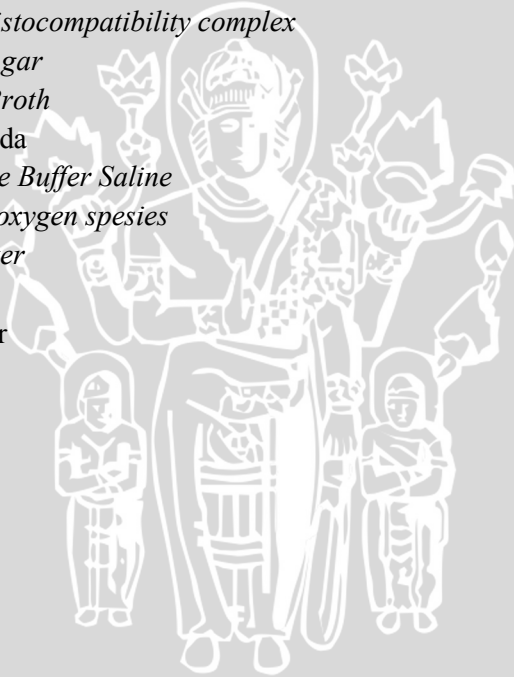
DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Tabel uji normalitas sel T CD4 ⁺	33
2. Tabel uji homogenitas sel T CD4 ⁺	33
3. Tabel uji signifikansi sel T CD4 ⁺	34
4. Tebel uji normalitas sel TCD4 ⁺ CD62L ⁺	35
5. Tabel uji homogenitas sel TCD4 ⁺ CD62L ⁺	35
6. Tabel uji signifikansi sel TCD4 ⁺ CD62L ⁺	36
7. Gambar hasil pengamatan fase estrus	38
8. Gambar vaginal plaque padamencitsetelahdikawinkan	39
9. Gambar mencit setelah dilakukan section	39
10. Gambar bone marrow yang diisolasi dari tubuh mencit	40



DAFTAR SINGKATAN

APC	: <i>Antigen presenting cell</i>
CD	: <i>Cluster of differentiation</i>
CMI	: <i>Cell mediated immunity</i>
FITC	: <i>Flouresceinisothiocyanate</i>
FSC	: <i>Forward scatter</i>
HSC	: <i>Hematopoietic stem cell</i>
HSD	: <i>High signification</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
mg	: <i>Milligram</i>
MHC	: <i>Mayor Histocompatibility complex</i>
NA	: <i>Nutrien Agar</i>
NB	: <i>Nutrien Broth</i>
NO	: <i>Nitritoksida</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
ROS	: <i>Reactive oxygen spesies</i>
SSC	: <i>Side scatter</i>
Th	: <i>T helper</i>
μl	: <i>Mikroliter</i>



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara iklim tropis dimana hal tersebut menjadikan Indonesia sebagai media yang baik bagi makhluk hidup. Sebagian besar makhluk hidup dapat berkembang baik di Indonesia tidak terkecuali bakteri. Beberapa bakteri memberikan beberapa kontribusi yang bersifat patogen. Berbagai macam penyakit yang disebabkan oleh bakteri, baik penyakit kulit hingga penyakit dalam.

Salah satu bakteri di daerah tropis yang bersifat pathogen bagi manusia yaitu *Salmonella thypimurium*, yang menyebabkan bermacam penyakit seperti demam thypoid, typhus, disentri dsb. (Arisman, 2009). Kasus yang sering terjadi yang disebabkan oleh penyakit ini adalah thypus. Penyakit ini bisa menyerang siapa saja anak kecil hingga orang dewasa. Sebagian besar para ahli klinis memberi antibiotik dan obat sintetik untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini. Namun tanpa disadari ternyata antibiotik dan obat sintetik memberi banyak efek samping yang berbahaya. Berdasarkan Murtidjo (1992) penggunaan antibiotik dapat memperburuk keadaan karena antibiotik akan meningkatkan mutasi kromosom bakteri sehingga membuat bakteri menjadi resisten.

Bagi ibu hamil penggunaan antibiotik dapat menghambat perkembangan janin dan hingga dapat menyebab kelahiran cacat. Sehingga dibutuhkan alternatif yang dapat meminimalisir penggunaan antibiotik. Salah satu alternative yang dapat digunakan yaitu penggunaan tanaman obat yang mampu memberikan immnustimulan yang dapat menstimuli sistem imun sehingga mengurangi resiko terinfeksi bakteri dan juga mengurangi resiko penggunaan antibiotik (Hollman, 1996).

Beberapa tanaman yang dapat dijadikan alternatif sebagai tanaman obat yaitu tanaman kedondong laut. Kedondong laut (*Polyscias obtusa*) memiliki kandungan senyawa dari kelompok asam oleonic saponin. Berdasarkan Francis et al. (2002) saponin merupakan senyawa yang penting untuk nutrisi pada hewan dan manusia. Saponin juga dapat berperan pada permeabilitas membrane, sebagai imunostimulan, agen antikarsinogenik, dan hypocholestrolaemic. Nilani (2006) menyebutkan bahwa di dalam daun kelompok *Polyscias* mengandung senyawa

panaxidol. Senyawa tersebut merupakan derivat senyawa saponin yang mampu memberi efek perlindungan pada sel otak, melalui sistem peningkatan pertahanan tubuh. Selain Kedondong laut tumbuhan *Elephantopus scaber* juga merupakan tumbuhan yang mengandung zat besi besi (Fe) sebanyak 45,4% dan 30,2% (Junirianto, 1987). Berdasarkan Hoffbrand (2005) zat besi ini penting dalam pembentukan hemoglobin. Kurangnya zat besi dapat menyebabkan terjadinya anemias dimana sel eritrosit tampak kecil dan pucat. Menurut Guyton (1998) Fe dikenal sebagai agen eritropoietic. Sehingga dengan dilakukannya penelitian menggunakan dua tanaman ini sekaligus diharapkan formulasi kedua tanaman ini mampu memberikan peningkatan sistem imun sekaligus memberikan peningkatan kesehatan.

Sistem imun memiliki kemampuan mengenali dan menyerang antigen asing yang masuk dan menginfeksi tubuh. Sistem imun menjaga kondisi tubuh dari antigen melalui sistem limfatik dan peredaran darah sebagai lalulintas ke seluruh tubuh (Gurr, 1992). Salah satu organ limfoid sekunder yang mampu menangkap antigen lebih banyak dari pada organ limfoid sekunder lainnya adalah spleen. Respon imun terhadap antigen diawali dengan diaktifkannya beberapa sel limfosit T dan B. Aktivasi sel limfosit ditandai diekspresikannya beberapa subset sel limfosit seperti sel T CD4 dan CD62L. Sehingga dengan dilakukan pengamatan pada organ spleen diharapkan akan terlihat peningkatan sistem imun mencit *Mus musculus* BALB/C bunting setelah diberikan suplemen imunomodulator.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang dilatarbelakangi oleh uraian di atas yaitu;

- a. Bagaimana perubahan jumlah Sel T CD4 dan CD62L pada spleen (*Mus musculus*) bunting yang diinfeksi *Salmonella thypimurium* setelah pemberian ekstrak etanol *Polyscias obtusa* dan *Elephantopus scaber* secara bersamaan?
- b. Berapakah dosis formulasi antara ekstrak daun *Polyscias obtusa* dan *Elephantopus scaber* yang tepat sebagai immunomodulator?

1.3 Tujuan

Penelitian ini dilaksanakan dengan tujuan sebagai berikut;

- a. Untuk mengetahui perubahan jumlah Sel T CD4 dan CD62L pada spleen (*Mus musculus*) bunting yang diinfeksi *Salmonella*

thypimurium setelah pemberian ekstrak etanol *Polyscias obtusa* dan *Elephantopin scaber* secara bersamaan

- b. Untuk mengetahui dosis formulasi antara ekstrak daun *Polyscias obtusa* dan *Elephantopin scaber* yang tepat sebagai immunomodulator

1.4 Manfaat

1. Kajian awal dosis formulasi *Polyscias obtusa* dan *Elephantopus scaber* sebagai pertimbangan untuk pengujian klinis lebih lanjut
2. Eksplorasi tanaman obat Indonesia sebagai alternatif obat untuk immunomodulator
3. Meningkatkan nilai ekonomis tanaman obat *Polyscias obtusa* dan *Elephantopus*



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Polyscias obtusa*

2.1.1 Sistematika dan Morfologi *Polyscias obtusa*

Polyscias obtusa dikenal dengan nama kedondong laut di Indonesia. *Polyscias obtusa* merupakan tanaman asli Asia Tenggara dan dapat dengan mudah tumbuh di daerah tropis basah. Tanaman ini merupakan jenis tanaman semak tegak, dengan tinggi 1 sampai 2,5 meter, memiliki daun kelipatan 3 yang berbentuk seperti bulu burung, dengan bagian atas yang memendek dengan panjang 5 sampai 10 cm. Bagian bawah daun tumbuhan ini lebih besar dari bagian atasnya, dan memiliki bentuk yang tajam serta bergerigi. Daun tumbuhan kedondong laut juga memiliki aroma yang khas (Luz, 1995).

Dalam sistematika (taksonomi), tumbuhan kedondong laut dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Apiales
Suku	: Araliaceae
Marga	: <i>Polyscias</i>
Spesies	: <i>Polyscias obtusa</i>



Gambar 2.1.1.1. Morfologi Kedondong laut (Dok. penelitian)

2.1.2 Kandungan senyawa kimia *Polyscias obtusa*

Berdasarkan telaah fitokimia dari beberapa spesies *polyscias* mengandung saponin dalam bentuk triterpenoid. Francis et al (2002) menyebutkan bahwa senyawa saponin merupakan steroid atau glikosa triterpenoid yang penting untuk nutrisi manusia dan hewan. Saponin juga diketahui dapat berperan pada perubahan permeabilitas membrane, sebagai imunostimulan, agen antikarsinogen, dan *hypocholesterolaemic*. Berdasarkan Zhang (1999) Saponin dapat digunakan sebagai bahan tambahan pada pecan ternak untuk menggantikan pemberian antibiotik. Karena berdasarkan hasil penelitian Zhang (2009) menunjukkan bahwa saponin dapat meningkatkan fungsi imun pada ayam dengan mekanisme sebagai antibakteri dan anti viral, serta aman dikonsumsi oleh hewan pada kondisi tertentu yang akhirnya dapat meningkatkan sistem imun hewan ternak.

Polyscias obtusa mengandung beberapa senyawa kimia lain selain saponin, diantaranya yaitu flavonoid. Flavonoid merupakan suatu senyawa antioksidan yang penting, sehingga dapat menangkal radiasi bebas. Flavonoid juga berperan penting pada reaksi anti inflamasi ketika terjadi infeksi (Lee, et al., 2010). Senyawa lain yang terkandung dalam *Polyscias obtusa* yaitu polifenol dan tannin yang terletak pada bagian kulit batang dan daun. Daun *Polyscias* mengandung senyawa golongan saponin, steroid, tritepenoid, flavonoid, asam fenolat, dan tannin (Istiyawati, 1994). Nilani (2006) menemukan adanya panaxidol di dalam daun *Polyscias fructicosa*. Senyawa ini juga merupakan derivate saponin. Hyun et al. (2004) menyebutkan bahwa panaxidol dapat memberi efek perlindungan pada sel otak.

Pemeriksaan fitokimia daun kedondong laut menyebutkan adanya senyawa flavonoida, steroida dan triterpenoida, saponin serta tanin. Dari ekstrak etanol telah diisolasi suatu senyawa yang diduga sebagai saponin triterpenoida. Fraksi n-heksana yang telah diisolasi yang diduga termasuk senyawa golongan steroida atau triterpenoida. Dari fraksi etil asetat ditemukan adanya golongan senyawa asam fenolat yang diduga sebagai asam p-hidroksi benzoat dan asam vanilat, serta satu senyawa yang belum diidentifikasi. Flavonoida ditemukan pada ekstrak etanol, fraksi diklormetana, fraksi etil asetat dan fraksi air. Dari fraksi air telah diisolasi suatu senyawa flavonoida yang mirip kelompok auron (Istiyawati. 1994).

2.2 *Elephantopus scaber* L

2.2.1 Sistematika dan Morfologi *Elephantopus scaber* L.

Tapak liman atau *Elephantopus scaber* L. merupakan tumbuhan liar yang masuk dalam famili Asteraceae. Tanaman ini dalam bahas melayu sering disebut tutup bumi, dalam bahasa Madura dikenal dengan tapak tangan atau talpak lana. tapak liman memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom	:Plantae
Divisi	:Magnoliophyta
Kelas	:Magnoliopsida
Subkelas	:Asterales
Ordo	:Asterales
Famili	:Asteraceae
Genus	: <i>Elephantopus scaber</i> L.



Gambar 2.2.1.1 Tapak liman *Elephantopus scaber* L.

Tapak liman tumbuh liar kadang ditemukan dalam jumlah banyak di lading, ditepi jalan, di tepi parit, dan pematang. Tapak liman dapat tumbuh di daerah dataran rendah sampai pada daerah dengan ketinggian 1.200 mdpl Syukur (2001). Tumbuhan ini termasuk dalam tumbuhan terna tegak berumur panjang, memiliki batang yang pendek dan kaku, dapat tumbuh sampai mencapai 30-60cm dan berambut kasar. Tapak liman memiliki daun berbentuk jorong tepi melengkung, bergerigi tumpul, ujung tumpul, permukaan berambut kasar, tulang

munyirip dengan warna hijau tua. Tangkai bunga keluar dari tengah-tengah roset dengan tinggi 60-75 cm. Batang tangkai bunga kecil, letaknya jarang, panjang 3-9 cm, lebar 1-3 cm. Tumbuhan ini memiliki bunga majemuk berbentuk bongkol letaknya di ujung batang, berwarna ungu, mekar pada siang hari dan menutup kembali pada sore hari. Buah dari tumbuhan ini berupa bongkah yang keras, berambut, berwarna hitam. Akarnya tunggang yang besar berwarna putih (Steenis et. al., 2003).

2.2.2 Kandungan senyawa kimia *Elephantopus scaber* L.

Tapak liman mengandung elephantopin, deoxyelephantopin, isodeoxyelephantopin, 11,1 dihydrooxyelephantopin, elephantin, efriedelinol, stigmasterol, triacontan-1-ol, lupeol, lepueol acetate. Stigmasterol turunan steroid, yang dapat memacu gairah seksual. Bunga dari tumbuhan ini mengandung flavonoid luteolin-7-glicosida. Flavonoid mempunyai bermacam-macam efek, yaitu efek anti tumor, imunostimulan, anti oksidan, analgesic, antiradang, anti virus, anti bakteri dan anti fungi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Erniati (2007) membuktikan bahwa senyawa flavonoid dapat meningkatkan aktivitas IL-2 dan proliferasi limfosit. Proliferasi limfosit akan mempengaruhi sel CD4+, kemudian menyebabkan sel Th1 teraktivasi. Flavonoid diduga dapat memicu proliferasi dan diferensiasi sel T dan sel B, yang diduga melalui produksi sitokin yakni IL-2, IL-4, dan IL-1.

Akar dari tanaman Tapak liman mengandung epipirrolinol, lupeol dan stigmasterol. Stigmasterol dalam fraksi air daun tapak liman secara tidak langsung dapat menstimulus eritropoiesis. Stigmasterol dapat menstimulus produksi hormone testosterone. Stigmasterol merupakan golongan fitosterol yang dapat mengalami berbagai transformasi struktur dalam tumbuhan, terutama pada rantai sampingnya. Senyawa hasil transformasi tersebut diantaranya adalah saponin steroid. Stigmasterol merupakan prekursor testosterone yang dapat dikonservasi menjadi testosterone oleh jaringan perifer (Taufiqurrahman, 1999). Hormon testosterone ini dapat menstimulus eritropoiesis secara langsung pada Hematopoietic stem cell (HSC) di sumsum tulang, efek eritropoietik melibatkan induksi IGF-I melalui mekanisme mediasi reseptor androgen. Androgen merangsang erytroid colony-forming unit di sumsum tulang dan mempromosikan diferensiasi mereka ke sel eritrosit (TER-119⁺). Testosteron dapat meningkatkan absorbsi besi pada usus, penggabungan zat besi pada sel darah dan sintesis hemoglobin

(Coviello, 2008). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Moriyama (1975) efek testoteron dan eritropoietin pada koloni eritrosit dalam kultur bone marrow hormone androgen tidak hanya menstimulasi produksi hormon EPO tetapi juga menstimulasi HSC untuk berproliferasi dan berdiferensiasi membentuk eritrosit (TER-199+).

Berdasarkan telaah lebih lanjut tentang kandungan senyawa fitokimia pada akar dan daun tumbuhan Tapak liman didapatkan zat besi sebanyak 45,4% dan 30,2% (Junirianto, 1987). Sedangkan berdasarkan Hoffbrand (2005) zat besi ini penting dalam pembentukan hemoglobin. Besi organik dari makanan sebagaimana diabsorpsi sebagai heme dan sebagian dipecah dalam usus menjadi besi anorganik. Kurangnya zat besi dapat menyebabkan terjadinya anemias dimana sel eritrosit tampak kecil dan pucat. Menurut Guyton (1998) Fe dikenal sebagai agen eritropoietic. Keberadaan Fe dalam tubuh dapat menstimulus produksi hormon EPO pada ginjal. Menurut Hoffbrand (2005) Eritropoietic merangsang eritropoiesis dengan meningkatkan jumlah sel progenitor yang terikat untuk proses eritropoiesis. BFUE dan CFUE lanjut yang mempunyai reseptor eritropoietin terangsang untuk berproliferasi berdiferensiasi menghasilkan hemoglobin. Eritropoiesis merupakan proses pembentukan eritrosit yang dapat dikenali pertama kali di sumsum tulang, yaitu pronormoblas. Pronormoblas ini menyebabkan terbentuknya suatu rangkaian normoblas yang makin kecil melalui pembelahan sel. Normoblas mengandung pembelahan sel yang semakin banyak dalam sitoplasma sejalan dengan hilangnya RNA dan aparatus yang mensintesis protein, sedangkan kromatin inti menjadi semakin padat. Inti akhirnya dikeluarkan dari normoblas dalam sumsum tulang dan menghasilkan stadium retikulosit (TER-119+VLA-4+) yang masih mengandung sedikit RNA ribosom dan masih mampu mensintesis hemoglobin. TER-119+VLA-4+ berada selama 1-2 hari dalam sumsum tulang dan beredar di daerah tepi sebelum menjadi sel eritrosit matur (TER-199+), terutama di *spleen* saat RNA hilang seluruhnya.

Tapak Liman memiliki rasa agak pahit, pedas, dan sejuk. Tapak liman ini berkhasiat sebagai pereda demam, antibiotik, antiradang, peluruh dahak, peluruh haid, afrodisiak, menghilangkan bengkak, penawar racun, mempercepat pengelaran nanah, dan pelembut kulit Kusuma (2005). Selain itu menurut Harina (2006) Tapak liman memiliki efek melincinkan, Tapak liman juga dapat digunakan sebagai peluruh

kencing, penurun panas, antioksidan dan penambah darah. Sebagai obat penambah darah, Tapak liman dapat diminum dengan cara merebus 15-30 g herba kering dan kemudian diminum airnya.

2.3 *Salmonella thypimurium*

Salmonella thypimurium merupakan salah satu kelompok bakteri gram negative yang berbentuk batang yang termasuk dalam family *Enterobacteriaceae*, genus *Salmonella*. Bakteri ini bersifat motil dan patogenik dengan karakteristik pertumbuhan yang mampu mereduksi nitrat menjadi nitrit (Sunarno, 2007). Bakteri dapat berkembang baik dalam makrofag dan bertahan dari enzim-enzim lisozom (Lestarini, 2008). *Salmonellathypimurium* bersifat toksik terhadap makrofag yang ditandai dengan makropinositosis pada makrofag yang terinfeksi diikuti dengan kematian sel. *Salmonella* juga mempunyai kemampuan bermultiplikasi dalam sel non fagosit seperti hepatosit dan epitel intestinal. Mikroba ini di dalam sel tinggal dalam vakuola. Hal ini memungkinkan bakteri tersebut terlindungi dari makrofag dan respon humoral. Namun antigen bakteri yang mencapai sitoplasma akan didegradasi dan menghasilkan fragmen peptide yang berikatan dengan MHC I untuk dipresentasikan ke CD8.

Salmonellathypimurium dibagi menjadi 3 serovar berdasarkan antigen utama yang dimiliki yaitu O (*somatic*), Vi (*capsular/surface*), dan H (*Flagellar*). Membran sel tersusun atas molekul kompleks glikolipid yang dikenal dengan nama lipopolisakarida (LPS) atau endotoksin. Endotoksin dibagi menjadi 3 lapisan yaitu, O-*spesific polysaccharide* dibagian dalam. Struktur LPS yang demikian lengkap menjadikan bakteri ini lebih resisten terhadap enzim yang akan memproses antigen. Struktur LPS bakteri tersebut akan memperlambat pemrosesan dan menghambat aktivasi epitop tertentu. Hal ini juga adapt menghambat aktivitas sel T, khususnya CD4 karena pada umumnya sel tersebut lebih mengenali epitop peptide daripada polisakarida (Sunarno 2007).

Salmonella thypimurium sebagai agen penyebab typhoid yang dikarenakan antigen Vi yang dimilikinya mampu mereduksi pengeluaran IL-8 yang berperan untuk menginduksi PMN (neutrofil) (Sunarno 2007). Pada respon imun seluler makrofag yang berperan pada proses fagositosis teraktivasi oleh adanya sitokin IFN- γ yang diproduksi oleh sel T. IFN- γ akan memacu makrofag untuk membunuh agen infeksi melalui *respiratory burst*, dengan proses oksidatif yang memproduksi

radikal bebas dan nitrit oksida sert aktivasi sel T CD8 yang akan melisis sel yang terinfeksi (Lestarini, 2008).

Secara singkat mekanisme infeksi sistemik *Salmonella thypimurium* dapat digambarkan dalam beberapa fase. Fase I terjadi sekitar 1 jam setelah infeksi secara intravena atau intraperitoneal. Fase II dimulai sejak setelah fase I terlewati dimana fase ini disebut fase pertumbuhan eksponensial *Salmonella thypimurium* di dalam tubuh host. Bakteri ini masuk ke dalam sirkulasi darah melalui pembuluh limfe, melakukan invasi ke hepar dan spleen untuk selanjutnya melakukan multiplikasi. Neutrofil sangat penting pada fase ini sebagai pertahanan host dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Fase III terjadi setelah 3-7 hari, pertumbuhan bakteri pesat di hepar dan spleen. Makrofag yang teraktivasi bukan untuk membunuh tetapi untuk meningkatkan killing sel, NK dengan produksi sitokinnya. Fase pembersihan terjadi setelah minggu ketiga infeksi yang melibatkan imun adaptif khususnya sel T (Sunarno 2007).

NK sel mampu menghasilkan TNF α yang dibutuhkan untuk produksi IFN γ . IFN γ mampu meningkatkan CMI (cell mediated immunity) dengan mengaktivasi makrofag dan menginduksi diferensiasisel Th menjadi Th1. Sel T CD4 berfungsi dalam membantu aktivasi dan diferensiasi sel B. Selain membantu sel B membentuk antibodi, sel T CD4 juga terlibat dalam pembentukan sel T CD8 spesifik *Salmonella thypimurium* dan mengatur pembentukan granuloma untuk membatasi penyebaran bakteri. Sel T CD8 akan melisis sel yang terinfeksi dan memproduksi sitokin yang dibutuhkan untuk pengerahan dan aktivasi sel-sel fagosit. Sel T CD4 yang teraktivasi akan memproduksi IL-2 yang dibutuhkan oleh sel T untuk berkembang menjadi Th. Diferensiasi sel T CD4 akan menyebabkan terjadinya infeksi kronis, sedangkan ketika terjadi defisiensi sel B, tubuh masih mampu mengontrol dan mengeliminasi infeksi *Salmonella thypimurium* (Sunarno, 2007).

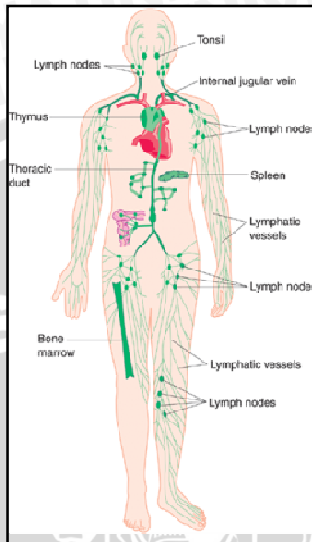
2.4 Sistem Imun dalam tubuh

Imunitas merupakan pertahanan tubuh, sedangkan sistem imunitas atau sistem kekebalan merupakan suatu sistem yang berfungsi sebagai pertahanan dalam tubuh dari substansi asing dari luar tubuh seperti bakteri, virus, fungi dan makromolekul seperti protein dan polisarida yang bersifat parasitik yang dapat menyebabkan penyakit (Abbas dan Lichtmann, 2005). Berdasarkan Paul (2008), sistem kekebalan adalah

sistem perlindungan tubuh terhadap pengaruh luar biologis yang dilakukan oleh sel dan organ khusus pada suatu organism. Hal tersebut sesuai dengan Weissman (1978), yang menyatakan bahwa define sistem imun ialah sistem peratahan yang dimiliki vertebrata yang bertugas untuk melindungi tubuh mikroorganisme penyebab penyakit. Keberadaan Sel imun akan akan senantiasa menjaga sel, jaringan, ataupun organ tubuh agar dapat berfungsi secara normal.

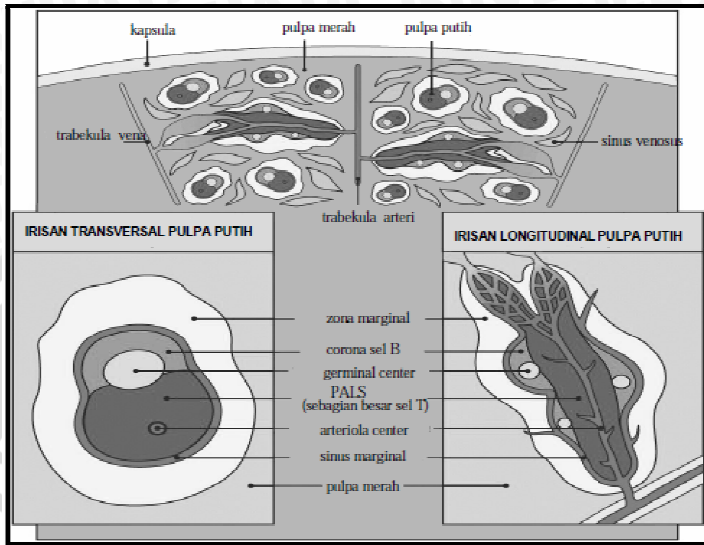
Limfosit adalah sel yang berfungsi dalam respon yang terbentuk melalui jalur limfoid. Sel limfosit memiliki peranan penting dalam proses respon imun spesifik karena sel-sel limfosit dapat mengenal setiap jenis antigen, baik antigen intraseluler maupun ekstraseluler, seperti antigen di dalam darah atau di dalam cairan tubuh lainnya. Fungsi utama limfosit ada memberikan respon terhadap antigen dalam bentuk antibodi yang bersirkulasi di dalam darah atau dalam pengembangan imunitas seluler (Paul, 2008). Guyton dan Hall (2006) mengatakan bahwa limfosit manusia berjumlah sekitar 30% dari jumlah normal sel darah putih. Limfosit dapat membentuk ratusan juta antibodi dan limfosit sensitif yang berbeda. Masing-masing jenis sifatnya spesifik untuk antigen yang khusus. Limfosit dibentuk di dalam sumsum tulang belakang dan berdiferensiasi menjadi sel T dan sel Limfosit B.

Sel imun merupakan sel-sel yang bekerja dalam sistem imun, sel tersebut bekerja secara kompleks dan saling berkesinambungan dalam sistem imun. Sel-sel imunokompeten banyak ditemukan dalam jaringan dan organ yang disebut sistem limfoid. Organ limfoid dapat dibedakan menjadi dua yaitu organ limfoid primer dan organ limfoid sekunder. Organ limfoid primer yaitu timus dan Sumsum tulang, sedangkan organ limfoid sekunder meliputi limpa, kelenjar getah bening, peyer patch, Appendix, adenod, dan tonsil (Rifa'i, 2004).



Gambar 2.4.1. Organ-organ limfoid (Betz, 2002)

Sel-sel limfosit dihasilkan oleh organ limfoid primer yang pada gilirannya akan menuju ke organ limfoid sekunder. Baik limfosit B maupun limfosit T berasal dari sumsum tulang, namun hanya limfosit B yang mengalami pematangan pada sumsum tulang. Limfosit T melakukan migrasi dari sumsum tulang menuju organ timus sebelum masak dan mengalami pematangan pada organ ini. Limfosit tersebut disebut limfosit B dan T, karena berturut-turut mengalami proses pematangan pada bone marrow (sumsum tulang) dan thymus (timus). Limfosit yang telah mengalami pematangan pada organ limfoid primer segera memasuki peredaran darah untuk menuju organ limfoid sekunder. Organ limfoid sekunder merupakan organ limfoid perifer tempat terjadinya penangkapan antigen oleh sel-sel imunokompeten. (Murphy dkk., 2008).



Gambar 2.4.2. Penampang melintang dan membujur organ spleen (Murphy dkk., 2008).

Spleen adalah kelenjar tanpa saluran yang berhungan erat dengan sistem sirkulasi dan berfungsi menghancurkan sel darah merah tua. Spleen termasuk salah satu organ sistem limfoid. Sistem limfoid berfungsi untuk melindungi tubuh dari kerusakan akibat zat asing. Sel-sel pada sistem imun dikenal dengan sel imunokompeten yaitu sel yang mampu membedakan sel tubuh dengan zat asing yang meyebabkan inaktivasi atau perusakan benda-benda asing. Sel imunokompeten terdiri atas sel limfosit, makrofag, retikuloendotel, dan sel plasma. Spleen merupakan organ limfoid terbesar yang terletak dibagian depan dan dekat dengan punggung rongga perut diantara diafragma dan lambung (Krall, 1992).

Secara anatomi spleen normal berbentuk pipih. Fungsi spleen yaitu mengakumulasi limfosit dan makrofag, degradasi eritrosit, tempat cadangan darah, dan sebagai organ pertahanan terhadap infeksi partikel asing yang masuk ke dalam darah. Spleen dibungkus oleh kapsula, yang terdiri dari dua lapisan, yaitu satu lapisan jaringan penyokong yang tebal dan satu lapisan otot halus. Perpanjangan kapsula ke dalam parenkim spleen disebut trabekula. Trabekula mengandung arteri, vena, saraf dan pembuluh limfe. Parenkim spleen disebut pulpa yang terdiri dari pulpa

merah dan pulpa putih. Pulpa merah berwarna merah gelap pada potongan spleen segar. Pulpa merah terdiri dari sinusoid spleen, yang merupakan tempat penghancuran darah merah yang telah tua. Pulpa putih tersebar dalam pulpa merah, berbentuk oval dan berwarna putih kelabu. Pulpa putih terdiri atas peritonal lymphoid shafts (PALS) folikel limfoid, dan zona marginal. Folikel limfoid umumnya tersusun atas sel limfosit B, makrofag, dan sel debris (Murphy dkk., 2008)

Zona marginalis spleen banyak mengandung antibodi dalam darah sehingga memiliki peran utama dalam aktivasi imunologis spleen. Banyak arteriol pulpa yang berasal dari arteri sentralis meluas keluar dan menjauhi pulpa putih tetapi kemudian membalik dan mencurahkan isinya ke kedalam sinus-sinus dari zona marginalis yang mengelilingi nodulus. Akibatnya daerah ini berperan penting dalam menyaring sel darah dan melancarkan sel imun. Zona marginals tidak hanya memidahkan antigen tetapi juga limfosit T dan B yang dikeluarkan dari darah. Pada saat limfosit keluar dari sirkulasi sistemik dan menerobos pulpa putih limfosit melewati sel dendritik dalam zona marginalis. Jika terdapat sel T sel B dan antigen yang sesuai maka timbul suatu respon imun. Sel B aktif bermigrasi ke pusat nodulus pulpa putih, kemudian menghasilkan sel plasma. Proliferasi limfosit merupakan penanda adanya fase aktivasi dari respon imun tubuh (Burmester, 2003).

Mekanisme proliferasi diawali dengan aktivasi sistem imunitas selluler yang dimulai dari pengenalan APC oleh sel T. APC merupakan sel yang mampu mengekspresikan MHC kelas I dan MHC kelas II. Antigen yang dipresentasikan melalui MHC kelas I nantinya akan dikenali oleh sel T $CD8^+$ dan mengaktifkan sel T $CD8^+$ tersebut berproliferasi dan menginduksi apoptosis sel APC (Murphy, 2008).

MHC kelas II pada permukaan sel APC akan dikenal oleh sel T $CD4^+$ yang telah teraktivasi akan mensintesis sitokin yaitu, IL-2, IL-2 yang dihasilkan ini dapat berfungsi sebagai growth factor bagi sel T $CD4^+$ itu sendiri agar dapat berproliferasi dan berdiferensiasi. Sel T $CD4^+$ akan berdiferensiasi menjadi sel Th1 dan Th2. Sel Th1 akan mengaktifkan sel T $CD8^+$. Disamping itu, sel T $CD8^+$ juga diaktifkan oleh IL-2. Masing-masing sel teraktivasi baik sel $CD4^+$ maupun $CD8^+$ akan membentuk sel memori (Campbell, dkk, 2012).

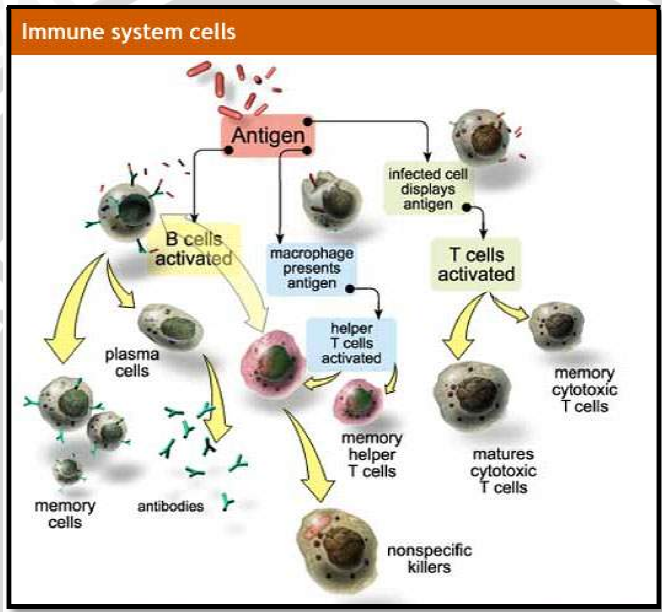
2.5 Respon imun terhadap Bakteri

Sistem kekebalan tubuh meliputi sistem kekebalan non spesifik (alami) dan sistem kekebalan spesifik (adaptif). Sistem kekebalan tubuh berperan melawan antigen asing yang masuk dan menginfeksi tubuh (Carpenter, 2004). Mekanisme kedua sistem kekebalan tersebut tidak dapat dipisahkan satu sama lainnya, keduanya saling meningkatkan efektivitasnya dan terjadi interaksi sehingga menghasilkan suatu aktivitas biologik yang seirama dan serasi (Fenner dan Fransk, 1995). Sistem imun non spesifik merupakan sistem kekebalan secara alami diperoleh tubuh dan proteksi yang diberikan tidak terlalu kuat. Semua agen penyakit yang masuk ke dalam tubuh akan dihancurkan oleh sistem kekebalan tersebut sehingga proteksi yang diberikannya tidak spesifik terhadap penyakit tertentu. Sedangkan sistem imun spesifik terdiri dari sistem berperantara sel (*Cell Mediated Immunity*) dan sistem kekebalan berperantara antibodi (*Antibody Mediated Immunity*) atau yang lebih dikenal dengan sistem kekebalan humoral (Butcher dan Miles, 2003).

Antigen yang mampu melewati sistem pertahanan non spesifik akan bertemu dengan makrofag yang akan berfungsi sebagai *Antigen Presenting Cells* (APC). *Antigen Presenting Cells* akan mempresentasikan antigen kepada limfosit T melalui molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC). Sel T *helper* (Th) mengenali antigen yang berikatan dengan MHC II. Sel T *cytotoxic* atau sel T penghambat mengenali antigen yang berikatan dengan MHC I. Interaksi sel Th dengan APC akan berperan dalam kekebalan humoral dengan menginduksi keluarnya sitokin yang merupakan alat komunikasi antar sel. Kemampuan interaksi ini akan menginduksi pematangan sel limfosit B menjadi sel plasma yang akan menghasilkan antibodi (Weir, 1990).

Ketika limfosit menemukan agen penginfeksi pada jaringan limphoid maka sel-sel tersebut akan tetap tinggal pada jaringan limphoid dan mengadakan proliferasi dan deferensiasi menjadi sel yang disebut sel efektor. Sel-sel efektor mempunyai kemampuan untuk melawan antigen. Ketika terjadi infeksi di daerah peripheral, maka sel dendritik akan segera menangkap antigen tersebut dan segera membawanya dari tempat infeksi ke lymph node melalui pembuluh lymphatic afferent. Pada lymph node sel dendritik akan menampilkan antigen yang ditangkap dalam bentuk peptida ke sel T yang bersirkulasi di daerah tersebut. Peptida ditampilkan pada permukaan APC dalam keadaan terikat oleh MHC. Limfosit mengenali antigen yang terikat

oleh MHC itu. Sel dendritik juga memproduksi sitokine untuk membantu aktivasi sel T. Sehingga sel T akan membunuh antigen tersebut (Burmester, 2003). Berikut ini merupakan gambar mekanisme respon imun;



Gambar 2.6.1 Mekanisme respon imun (Burmester, 2003).

Respon imun non spesifik (alami) dimulai dengan pengenalan komponen bakteri seperti LPS dan DNA, diikuti pengambilan dan penghancuran bakteri oleh sel fagosit yang memfasilitasi proteksi host terhadap infeksi. Peran ini dilakukan oleh makrofag, sel NK, dan neutrofil. Adapun pengeluaran mediator inflamasi berfungsi untuk meningkatkan respon imun. Makrofag mensekresikan IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-15, IL-18, TNF alfa bekerja sinergis untuk meningkatkan aktivasi sel T dan respon radang akut. IL-12 mengaktifkan sel NK dan memicu CD4 menjadi Th1 (Hardy, et al. 2007). IL-15 penting untuk respon inflamasi fungsi antimikrobal neutrofil, stimulasi CD8, serta perkembangan, survival dan fungsi sel NK. IL-18 menginduksi IFN γ , ko-aktivasi Th1 dan perkembangan sel NK. Makrofag mampu menghancurkan bakteri dengan *respiratory burst* yang menghasilkan

reactive oxygen sepsies (ROS) seperti superoksida, hydrogen peroksida dan nitrogen oksida (NO) (Bellanti, 1993).

Nitrit oksida (NO) diproduksi bersama dengan L-sitrulin melalui oksidasi enzimatik dari L-arginin. Produksi NO distimulasi oleh $IFN\gamma$, $TNF\alpha$, IL-1 dan IL-2. NO merupakan implikasi respons terhadap bakteri intraselluler seperti *Salmonellathypimurium*, yang tercermin dengan melimpahnya NO di bagian luar fagosom. Antara ROI dan NO dapat berinteraksi dengan membentuk spesies antimikroba yang lebih toksik seperti peroksi-nitrit yang dapat meningkatkan daya bunuh makrofag terhadap *Salmonellathypimurium*. Sedangkan pada imun spesifik (adaptif) sel yang berperan adalah APC, sel T dan sel B. Sel dendritik merupakan APC yang penting dalam inisiasi respon imun yang diperantarai sel T dan bersama dengan makrofag mempresentasikan antigen yang diproses dari bakteri intrasel gram negative seperti *Salmonella thypimurium* (Sujudi, 2006).

Sel T diperlukan untuk ekspresi penuh imunitas terhadap *Salmonella thypimurium*. Sel T dengan *Cluster of diferetiation 4* (CD4) berfungsi dalam membantu aktivasi dan diferensiasi sel B. Selain membantu sel B membentuk antibodi juga membantu pembentukan *Cluster of diferetiation* CD8 spesifik *Salmonella thypimurium* dan pengaturan pembentukan granuloma untuk membatasi penyebaran bakteri. CD8 ini dapat melisis sel yang terinfeksi dan memproduksi sitokin yang dibutuhkan untuk penerah dan aktivasi fagosit. Ketika distimulasi CD4 akan memproduksi IL-2 yang dibutuhkan sel T untuk berkembang menjadi Th. Defisiensi CD4 menyebabkan terjadinya infeksi krusial sedangkan pada defisiensi sel B masih mampu mengontrol dan mengeliminasi infeksi *Salmonella* sp. Sehingga dapat disimpulkan bahwa CD4 bukan sekedar memberi bantuan sel B saja namun juga berperan untuk mengaktifkan fagosit (Brooks, 2001). Selain menginduksi aktivasi sel T CD8, sel T CD4 yang mengekspresikan molekul CD25 merupakan sel yang secara alami dapat berfungsi sebagai sel regulator (Rifa'i, 2010).

Berdasarkan Tedder (1995), CD62L⁺ atau L selektin merupakan molekul adhesi yang memiliki fungsi perlekatan dan rolling pada sel endotel pembuluh darah. Molekul tersebut mampu diekspresikan oleh sel T naive CD4⁺CD62L⁺. Sel T naive ini akan mengalami sirkulasi di dalam darah, naive, dan lymphnode hingga suatu saat bertemu dengan antigen. Jika sudah bertemu dengan antigen maka sel T naive akan

teraktivasi dan kehilangan molekul CD62L⁺ mampu diekspresikan oleh sel T naive dalam individu normal orang sehat lebih dari 80%. Sedangkan pada individu tidak sehat sel T naive akan mengalami penurunan ekspresi CD62L⁺ pada organ lymphnode periphera dan sel T akan teraktivasi. Selanjutnya molekul CD62L⁺ melakukan down regulated pada sel T yang akan menghalangi masuk ke lymphnode dalam sel endotel. Hal ini untuk mencegah killing terhadap APC sel dendritik karena adanya aktivasi sel T CD8⁺ dan peningkatan sel T untuk melawan antigen yang masuk.

2.6 Flowcytometry

Flowcytometry adalah suatu metode yang digunakan untuk menghitung dan menyeleksi sel. Secara umum, *flowcytometri* berfungsi untuk mengukur, mengamati dan menganalisa sel. Pengukuran dengan metode flow cytometry menggunakan label fluoresensi, selain mengukur jumlah, ukuran sel, juga dapat mendeteksi petanda dinding sel, granula intraselular, struktur intra sitoplasmik, dan inti sel (Ormerod, 2000).

Sinar laser dari panjang gelombang tunggal yang ditembakkan langsung dengan prinsip focus aliran hidrodinamik dari sampel yang berupa cairan. Sejumlah detector ditujukan pada titik yang dilalui cahaya yaitu yang sejalan dengan sinar FSC (*forward scatter*), tegak lurus dengan sinar SSC (*Side scatter*) dan melalui detector fluoresensi (SFL). Sampel dimasukkan hingga pada pusat aliran. Sel akan masuk dalam tabung yang dikombinasikan dengan aliran. Sel-sel akan mengalir pada pusat aliran sehingga sel akan tersinari oleh laser dan dipresentasikan dalam bentuk diagram tertentu (Ormerod, 2000).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Watu dan Tempat

Percobaan ini dilaksanakan mulai dari Bulan Agustus 2013 hingga Juli 2014. Penelitian dilakukan di Laboratorium Fisiologi Hewan dan Mikrobiologi Jurusan Biologi, Fakultas Ilmu Matematika dan Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu beaker glass, Erlenmeyer, tabung reaksi, inkubator, autoklav, jarum ose, kaca benda, dan kata penutup, mikroskop cahaya, mikropipet, blue tip, yellow tip, spuid ukuran 1 ml dan 3 ml, blender kering, neraca syringe vortex, tabung, mikrosentrifuse, sentrifus, flow cytometry, cawan petri, papan seksi, gunting bedah, jarum ukuran $21 \frac{1}{2}$ G dan $26 \frac{1}{2}$ G, tabung propilen, saringan/wire, dan botol selai. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu Mencit Balb/C, daun kedongong laut *Policias obtusa*, Daun Tapak liman *Elephantopus scaber* *Salmonella thypii*, aquades, PBS, Na CMC, alkohol 70%, penanda sel CD4 FITC, dan CD62L PE-Cy.5.

3.3 Cara Kerja

3.3.1 Persiapan rancangan percobaan

Jenis penelitian yang dilakukan yaitu penelitian eksperimental. Menggunakan 7 kelompok percobaan, yaitu 2 kelompok kontrol dan 2 kelompok perlakuan, dengan randomisasi sederhana. Penilaian dilakukan setiap hari ke-14 dan hari ke-18 setelah hewan coba diasumsikan bunting dengan membandingkan hasil observasi pada kelompok perlakuan dan kontrol, serta antarkelompok perlakuan. Sampel penelitian diambil secara acak (random) dari populasi terjangkau dengan kriteria inklusi sebagai berikut: mencit strain BALB/C, umur 6 minggu, dan sehat. Berdasarkan ketentuan WHO jumlah sampel 3 ekor perkelompok. Sehingga jumlah total sampel sebanyak 24 ekor. Mencit Balb/C sebanyak 24 ekor dibagi menjadi 4 kelompok, masing-masing kelompok terdiri atas 3 ekor. Tiap kelompok mencit mendapatkan pakan standar dan minum yang sama secara *ad libitum*. Dua kelompok kontrol tersebut adalah :

Kontrol (K-) : Tidak diberi ekstrak daun Tapak liman dan tidak diberi kedondong laut dan tidak diinjeksi *Salmonella Thypimurium*

Kontrol (K+): Tidak diberi ekstrak daun Tapak liman dan tidak diberi kedondong laut tapi diinjeksi *Salmonella Thypimurium*

Dua kelompok perlakuan tersebut adalah :

Perlakuan 1 (P1): Mencit Balb/C bunting, diberi ekstrak daun Tapak liman sebanyak 50% dan diberi ekstrak daun Kedondong laut sebanyak 50% dan diinjeksi *Salmonella thypimurium*.

Perlakuan 2 (P2): Mencit Balb/C bunting, diberi ekstrak daun Tapak liman sebanyak 100% dan tanpa diberi ekstrak daun Kedondong laut dan diinjeksi *Salmonella thypimurium*.

3.3.2 Proses perkawinan mencit

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian itu yaitu mencit galur galur Balb/C. Sebelum dilakukan proses pembuntingan mencit betina, mencit jantan dan mencit betina aklimatisasi terlebih dahulu selama satu minggu. Selama aklimatisasi mencit jantan dan mencit betina dipisah dalam kandang yang berbeda. Pemisahan mencit jantan dan betina bertujuan untuk sinkronisasi masa estrus. Pembuntingan mencit dilakukan secara simultan setelah dipersiapkan sinkronisasi dengan pemanfaatan fenomena biologis yaitu *Leeboot effect*, *Pheromone effect* dan *Whiten effect* (Sardjono, 2005). Mencit berada dalam kondisi *Leebooteffect* setelah mencit diklimatissi dalam kandang yang terpisah antara jantan dan betina. Mencit betina yang telah dipisahkan dengan mencit antan akan memulai siklus birahinya bila dipapar dengan bau-bauan yang berasal dari pejantan (*Pheromon effect*), misalnya urin yang tertinggal dalam sekam. Degan cara tersebut betina akan mengalami birahi pada malam ketiga setelah pamaran kondisi ini disebut *Whiten effect*. Selain memanfaatkan fenomena biologis, sinkronisasi estrus juga dilakukan cara konfirmasi siklus estrus pada mencit betina degan cara smear vagina pada mencit betina yang secara anatomi sudah menunjukkan fase estrus. Setelah terlihat mencit betina terbukti masuk dalam fase estrus maka selanjutnya mencit betina dikawinkan dengan mencit jantan dengan cara dimasukkan dalam satu kandang rasio antara mencot jantan dan mencit betina yaitu 1:1. Mencit

dimasukkan dalam kandang yang sama dimulai dari pukul 5 sore dan dipisah keesokan paginya pada pukul 6 pagi. Bila ditemukan sumbat vagina/ *vaginal plug*, maka mencit telah melakukan kopulasi dan diasumsikan hari itu sebagai hari ke-0 masa kebuntingan.

3.3.3 Ekstraksi daun Kedondong laut (*Polyscias obtusa*)

Daun Kedondong laut dipetik dari daun pertama hingga ke lima dari pucuk tanaman, dipilih yang segar, tidak rusak dan utuh. Kemudian daun dicuci sampai bersih, dan dikering anginkan. Setelah itu daun dimasukkan ke dalam oven pada suhu 50°C sampai daunnya kering, yaitu selama 3 hari. Daun Kedondong laut yang sudah kering diekstraksi dengan menggunakan pelarut ethanol steril sesuai dengan metode Widodo, *at al.*, 2007. sebagai berikut : Daun Kedondong laut yang telah kering tersebut ditimbang beratnya (13,8 gr), digerus/dihaluskan dengan menggunakan mortal sampai terbentuk serbuk halus. Kemudian dilarutkan dengan akuades steril 100 ml, dan diaduk dengan stirer pada suhu 50°C selama semalam. Selanjutnya disaring dengan kertas saring. Hasil ekstraksinya kemudian dicari kosentarsi akhir, dan larutan ekstrak siap diujikan.

3.3.4 Ekstraksi daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber*)

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini selain Daun Kedondong laut adalah Daun Tapak Liman. Daun dipetik dari daun pertama hingga ke lima dari pucuk tanaman, dipilih yang segar, tidak rusak dan utuh. Kemudian daun dicuci sampai bersih, dan dikering anginkan. Setelah itu daun dimasukkan ke dalam oven pada suhu 50°C sampai daunnya kering, yaitu selama 3 hari. Daun Tapak Liman yang sudah kering diekstraksi dengan menggunakan pelarut akuades steril sesuai dengan metode Widodo, *at al.*, 2007. sebagai berikut : Daun tapak liman yang telah kering tersebut ditimbang beratnya (13,8 gr), digerus/dihaluskan dengan menggunakan mortal sampai terbentuk serbuk halus. Kemudian dilarutkan dengan akuades steril 100 ml, dan diaduk dengan stirer pada suhu 50°C selama semalam. Selanjutnya disaring dengan kertas saring. Hasil ekstraksinya kemudian dicari kosentarsi akhir, dan larutan ekstrak siap diujikan.

3.3.5 Pemberian secara oral ekstrak daun Kedondong laut dan ekstrak daun Tapak liman

Mencit diberi ekstrak daun Kedondong laut dan ekstrak daun Tapak liman, yang diberikan secara oral menggunakan sonde pada mencit sesuai rancangan percobaan. Mencit disonde dengan campuran Kedondong dan Tapak liman dengan volume total setiap kali sonde yaitu 100 μ l. Sende dilakukan setiap hari pada waktu pagi hari sebelum diberi makan. Pemberian ekstrak daun tapak liman dan kedondong laut selama 14 dan 18 hari berturut-turut sesuai rancangan percobaan dengan pemberian makan dan minum secara *ad libitum*.

3.3.6 Injeksi *Salmonella thypii* pada mencit

Biakan *Salmonella thypimurium* yang telah dikonfirmasi dan disimpan dalam medium NA miring ditumbuhkan pada medium cair NB dan diinkubasi selama 1x 24 jam. Kemudian diambil 1 ml dari medium cair NB yang telah diinkubasi selama 24 jam dan ditambahkan 9 ml medium NB baru. Pada medium NB baru tersebut dilakukan perhitungan jumlah sel bakteri tiap 1 jam untuk mendapatkan jumlah sel bakteri 10^8 sel/ml. Perhitungan sel dilakukan dengan *Haemocytometer*. Biakan yang telah difikisasi dengan formalin 4% dihitung dengan menggunakan *haemocytometer*. Setelah diperoleh jam dengan jumlah sel 10^8 sel/ml maka dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit pada suhu 25°C. Pelet yang diperoleh diresuspensi dengan larutan garam fisiologis NaCl 90%. Suspensi tersebut kemudian diinjeksikan pada Mencit yang telah diberi perlakuan selama tujuh hari. Mencit diinjeksi dengan *Salmonella thypis* secara intera peritoneal. Injeksi dilakukan pada mencit sesuai rancangan percobaan. Injeksi dilakukan dengan cara mencit dipegang bagian tengkuk dengan ibu jari dan telunjuk kiri. Kemudian tubuh mencit dibalik yaitu bagian ventral menghadap atas (tangan kiri tetap memegang tengkuk mencit) dan kaki belakang mencit dipegang dengan tangan kanan. Bagian ventral diusap dengan kapas yang dibasahi alkohol 70%. Kulit bagian perut mencit dicubit, lalu spuit yang telah diisi dengan *Salmonella thypimurium* disuntikkan pelan-pelan pada bagian area kulit yang terangkat.

3.3.7 Isolasi Sel dari organ Spleen

Sel Limfosit yang akan dihitung populasinya diisolasi dari spleen yang diambil dari mencit yang telah dibedah, kemudian dipencet dengan ujung spidul dan digerus searah jarum jam dan disuspensi dengan PBS. Selanjutnya sel-sel yang diperoleh difilter menggunakan

wore. Kemudian hasil yang diperoleh disentrifus dengan kecepatan 3200 rpm dengan suhu 20°C, selama 5 menit. Supernatan dibuang dan pelet diresuspensikan dengan PBS 1 ml. Selanjutnya dilakukan pipeting untuk mendapatkan homogenat. Homogenat sebanyak 100 µl dipindahkan pada tabung mikrosentrifus baru dan ditambahkan 500 µl PBS. Selanjutnya disentrifus pada 3200 rpm dengan suhu 20°C selama 5 menit. Supernatan dibuang dan pelet diresuspensi dengan 1 ml PBS dan sel hasil isolasi siap untuk proses analisa selanjutnya.

3.3.8 Analisa Flowcytometry

Analisa flow cytometry dilakukan untuk mendeteksi populasi sel yang mengekspresikan CD4 dan CD62L. Pada penelitian ini, sel-sel yang diisolasi dari spleen diinkubasi dengan anti mouse anti CD4 dan CD62L. Selanjutnya dilakukan koneksi dengan computer dan flowcytometry disetting pada keadaan acquiring serta dilakukan setting parameter yang akan dianalisa. Setelah diinkubasi sampel ditambah dengan 500 µl PBS dan dipindahkan pada kuvet flow cytometry. Selanjutnya dipilih acquire dan flowcytometer akan menghitung jumlah sel total serta jumlah sel yang terdeteksi oleh label antibodi. Hasil yang diperoleh kemudian diolah dengan BD cellquest Pro™.

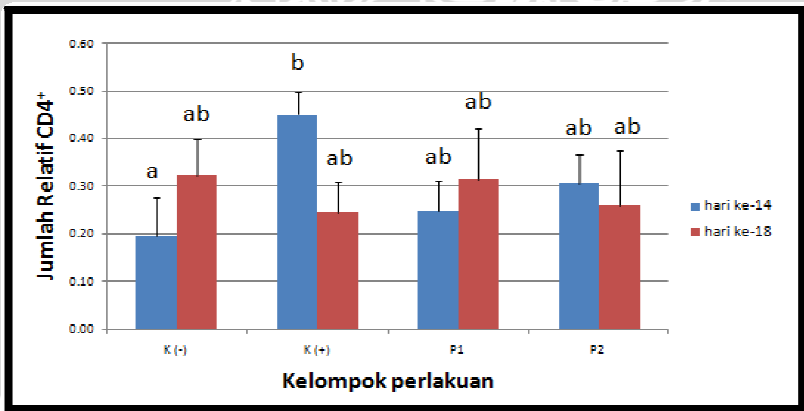
3.3.9 Analisa Data

Setelah didapatkan data dari semua perlakuan yang dilakukan, maka hasil yang didapat diuji normalitasnya. Setiap kelompok perlakuan diulang 3 kali, rancangan percobaan yang dilakukan yaitu Rancangan Acak Lengkap. Selanjutnya data yang didapatkan di uji dengan ANOVA dengan SPSS 16.0 for windows, kemudian jika diperoleh hasil yang signifikan maka dilanjutkan dengan uji Tukey.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Analisis Jumlah Sel T CD4⁺

Berdasarkan hasil analisa *flowcytometry* pada organ spleen (Gambar 4.1.1) setelah dilakukan infeksi *Salmonella thypii* secara intraperitoneal pada hari ke-7 umur kebuntingan dengan diperlakukan pemberian formula ekstrak etanol daun Tapak liman dan Kedondong laut sesuai perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda signifikan ($P>0,05$) terhadap aktivitas sel Limfosit T CD4⁺. Perlakuan kontrol negatif menunjukkan jumlah relatif sel CD4⁺ sebanyak 4,16% pada pembedahan hari ke-14 dan tidak berbeda nyata pada perlakuan yang sama pada pembedahan hari ke-18 yaitu 10,44 %. Jumlah sel relatif ini berbeda jauh dengan perlakuan kontrol yang diinfeksi dengan *Salmonella thypimurium*, pada kontrol positif jumlah relatif sel CD4⁺ pada pembedahan hari ke-14 yaitu 18,94% namun pada pembedahan hari ke-18 jumlah relatif sel CD4⁺ turun hingga 6.16% hal ini diduga karena adanya antigen yang masuk dalam tubuh mencit.



Gambar 4.1.1 Jumlah relative sel CD4⁺ setelah perlakuan infeksi *Salmonella thypii* dan pemberian ekstrak etanol Tapak liman dan Kedondong laut.

Keterangan: Huruf yang berbeda pada batang diagram menunjukkan beda nyata berdasarkan uji Tukey HSD

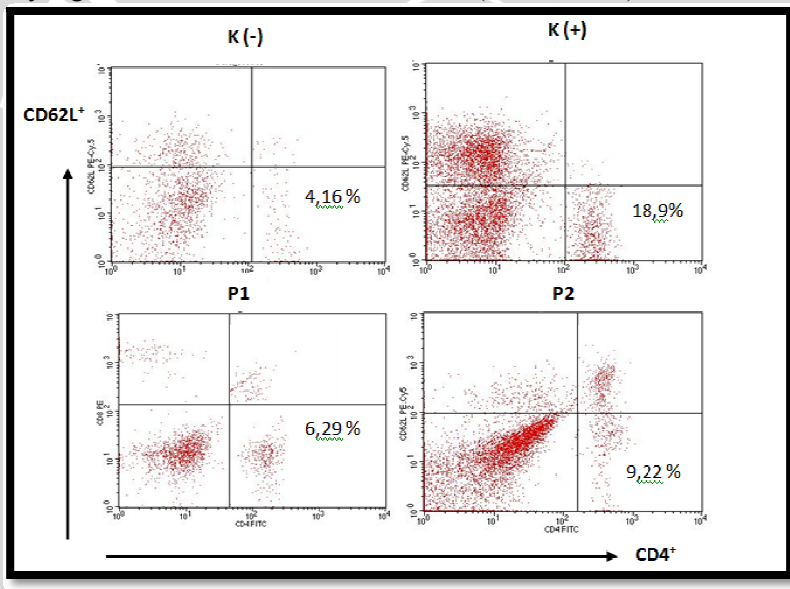
Infeksi sistemik *Salmonella thippii* menyebabkan teraktivasinya makrofag yang meningkatkan killing sel (NK) yang memproduksi sitokin (Sunarno, 2007). Sitokin yang disekresikan antara lain TNF α yang dibutuhkan untuk produksi IFN γ , dimana IFN γ mampu meningkatkan CMI dan menginduksi diferensiasi Th menjadi Th1 dan pada akhirnya menginduksi proliferasi sel T CD4. Setelah pemberian ekstrak etanol daun Tapak liman dan kedondong laut terjadi penurunan jumlah sel T CD4⁺.

Jumlah relatif sel CD4⁺ pada perlakuan pemberian formula 50%:50% Tapak liman dan Kedondong laut turun secara signifikan jika dibandingkan dengan kontrol positif, jumlah relatif sel CD4⁺ menjadi 6,29% pada pembedahan hari ke-14, dan pada perlakuan sama yang dibedah pada hari ke-18 naik tidak signifikan hingga 10,12%. Hal ini diduga karena senyawa aktif pada Tapak liman dan Kedondong laut memiliki kemampuan immunosupresan, sehingga mampu menurunkan jumlah sel T CD4⁺. Selain itu diduga senyawa aktif pada Tapak liman dan kedondong laut tidak dapat bekerja secara sinergis untuk menjadi imunostimulan. Demikian juga pada perlakuan pemberian ekstrak etanol daun Tapak liman saja menunjukkan penurunan meskipun tidak berbeda signifikan yaitu jumlah sel limfosit T CD⁺ menjadi 9,22% pada pembedahan hari ke-14 dan menurun hingga 7,38% pada pembedahan hari ke-18 pada perlakuan yang sama.

Pembedahan yang dilakukan secara bertahap pada penelitian ini bertujuan untuk melihat peningkatan jumlah sel T CD4⁺. Jumlah sel T CD4⁺ tidak bisa terlihat peningkatannya hanya dalam sekali isolasi sel. Peningkatan jumlah sel limfosit akan terlihat jika isolasi sel dilakukan pada dua waktu berbeda dan bertahap. Hal itu dikarenakan sel progenitor T yang akan teraktivasi menjadi sel T CD4⁺ berkembang dalam beberapa tahapan. Permulaannya progenitor sel T dalam tymus mengekspresikan CD4 yang kemudian mengalami pematangan menjadi CD4⁺. Namun pada penelitian ini tidak tampak berubah secara signifikan. Hal tersebut diduga karena adanya proses antagonis oleh senyawa aktif dari Tapak liman dan Kedondong laut. Hal itu ditunjang dengan penelitian sebelumnya bahwa jika Kedondong laut digunakan secara terpisah oleh Tapak liman mampu memberikan peningkatan sel limfosit yang signifikan (Pinca dkk., 2013).

Jumlah relatif sel T CD4⁺ yang menurun pada perlakuan yang diberi ekstrak etanol daun Tapak liman dan Kedondong laut

menunjukkan bahwa kedua tanaman tersebut memiliki efek immunosupresan terhadap sel T CD4⁺. Efek tersebut dapat diperoleh dari flavonoid dalam ekstrak etanol pada kedua tanaman tersebut. Aksi dari flavonoid sangat kompleks, terkadang sinergis dan terkadang antagonis tergantung pada komponen spesifik yang digunakan, tipe sel, konsentrasi, dan desain eksperimental. Berdasarkan hal tersebut dapat diketahui bahwa desain eksperimental yang dilakukan pada penelitian ini menunjukkan aksi antagonis. Cara kerja immunosupresan berkebalikan dengan immunostimulan. Immunosupresan cenderung menghambat proses transkripsi dari sitokin sehingga sitokin-sitokin yang berperan dalam aktivasi sel semakin sedikit kadarnya. Immunosupresan menyebabkan penurunan jumlah IL-2 dan IFN γ sehingga dalam kondisi tersebut jumlah sel yang teraktivasi akan semakin sedikit (Rifa'i, 2004).



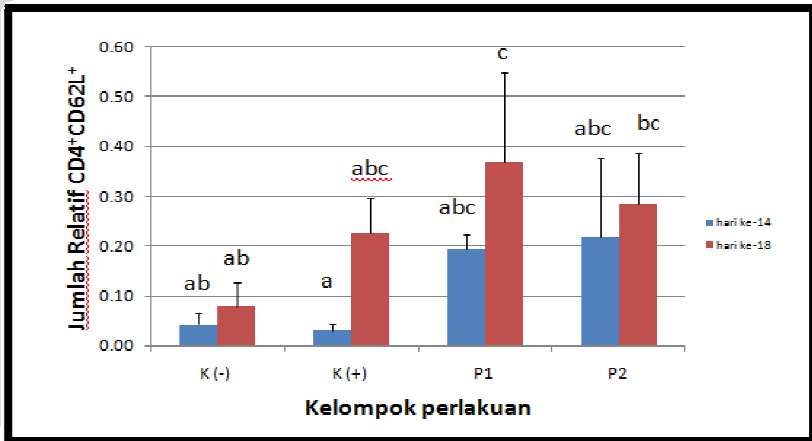
Gambar 4.1.2 Presentase jumlah relatif Sel T CD4⁺CD62L⁻ pada masing-masing perlakuan setelah injeksi *Salmonella thipimurium* dan pemberian ekstrak etanol Tapak liman dan Kedonggong laut.

Mekanisme kerja CD4⁺ sebagai modulasi sistem imun jangka panjang antara lain melalui aktivasi dari beberapa sitokin yang mampu memfasilitasi perkembangan dan pematangan sel T CD8⁺. Sitokin tersebut antara lain IL-1, IL-2, dan IFN γ . Peningkatan Sel T

CD4⁺ berpengaruh terhadap aktivitas sel T CD8⁺. Respon CD8⁺ ini akan semakin atif dan fungsinya lebih optimal dengan adanya berbagai sitokin yang dipepaskan oleh sel TCD4⁺ (Linda, 2012).

4.2. Analisa Jumlah Total Sel T CD4⁺CD62L⁺

Berdasarkan hasil analisa *Flow Cytometri* sel T CD4⁺CD62L⁺ menunjukkan bahwa adanya peningkatan sel T CD4⁺ naive pada mencit yang diinfeksi *Salmonella thypimurium* dan diberi ekstrak etanol daun Kedondong laut dan tapak liman secara signifikan ($P > 0,05$) yaitu sebesar 3,86% dibanding kontrol negative dan kontrol positif yang hanya 0,23% dan 0,12% pada pembedahan hari ke-14. Peningkatan juga terlihat signifikan pada pembedahan hari ke-18 yaitu pada mencit yang diberi ekstrak etanol daun Tapak liman dan kedondong laut yaitu sebesar 14,19%, dibandingkan kontrol negative dan kontrol positif yang hanya 0,81% dan 5,35%. Hal ini menunjukkan bahwa komponen aktif dalam ekstrak etanol daun Tapak liman dan Kedondong laut dapat meningkatkan jumlah relatif sel T CD4⁺ pada mencit yang terinfeksi *Salmonella thypimurium*.

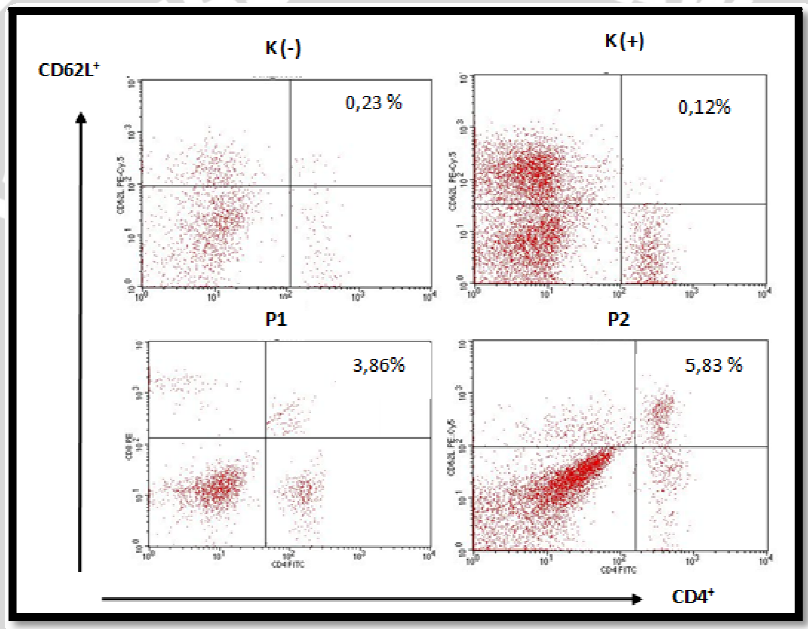


Gambar 4.2.1 Jumlah relative sel CD4⁺CD62L⁺ setelah perlakuan infeksi *Salmonella thippii* dan pemberian ekstrak etanol Tapak liman dan Kedongong laut.

Keterangan: Huruf yang berbeda pada batang diagram menunjukkan beda nyata berdasarkan uji Tukey HSD

Pemberian ekstrak daun Tapak liman dan Kedondong laut memiliki jumlah relative sel T CD4 naive lebih tinggi jika dibandingkan

dengan mencit yang diinfeksi *Salmonella thypimurium* kemudian diberi ekstrak etanol daun Tapak liman dan Kedondong laut dibandingkan mencit yang diinfeksi *Salmonella thypimurium* dan hanya diberi ekstrak etanol daun Tapak liman saja yaitu 5,583% pada pembedahan hari ke-14 dan 5,59% pada pembedahan hari ke-18. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif pada Tapak liman tidak dapat menstiuili proliferasi sel TCD4 naive, hal itu ditunjang oleh Taufiqurrahman (1999) bahwa senyawa aktif stigmasterol pada Tapak liman memiliki kemampuan untuk menstimulus eritropoiesis.



Gambar 4.2.2 presentase jumlah relatif Sel T CD4⁺CD62L⁺ pada masing-masing perlakuan setelah injeksi *Salmonella thypimurium* dan pemberian ekstrak etanol Tapak liman dan Kedongong laut pada hari ke-14 masa kebuntingan .

Berdasarkan Tedder (1995), CD62L⁺ atau L selektin merupakan molekul adhesi yang memiliki fungsi perlekatan dan rolling pada sel endotel pembuluh darah. Molekul tersebut mampu diekspresikan oleh sel T naive CD4⁺CD62L⁺. Sel T naive ini akan

mengalami sirkulasi di dalam darah, naïve, dan lymphnode hinga suatu saat bertemu dengan antigen. Jika sudah bertemu dengan antigen maka sel T naïve akan teraktivasi dan kehilangan molekul $CD62L^+$ mampu diekspresikan oleh sel T naïve dalam individu normal orang sehat lebih dari 80%. Sedangkan pada individu tdak sehat sel T naïve akan mengalami penurunan ekspresi $CD62L^+$ pada organ lymphnode peripheral dan dan sel T akan teraktivasi. Selanjutnya molekul $CD62L^+$ melakukan down regulated pada sel T yang akan menghalangi masuk ke lymphnode dalam sel endotel. Hal ini untuk mencegah killing terhadap APC sel dendritik karena adanya aktivasi sel T $CD8^+$ dan peningkatan sel T untuk melawan antigen yang masuk.



BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Pemberian ekstrak etanol daun Tapak liman dan Kedondong laut pada mencit yang diinfeksi *Salmonella thypimurium* mampu memberikan efek immunosupresan dengan formula 50%:50% dari dosis awal 50mg/KgBB
2. Formula 50%:50% dari dosis awal 50mg/KgBB ekstrak etanol daun Tapak liman dan Kedondong laut yang diberikan mampu meningkatkan proliferasi sel T CD4⁺ naive

5.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan penelitian di atas, disarankan untuk penelitian selanjutnya agar menggunakan rasio antara Tapak liman dan Kedondong lebih bervariasi lagi, sehingga dapat diketahui efek sinergis antara Tapak liman dan Kedondong laut.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K., dan A.H Lichtman. 2005. *Celluler and Molecular Immunology*. Elsevier Inc. Philadelphia
- Arisma, M.B. 2009. *Buku Ajar Ilmu Gizi: Keracunan Makanan*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Bellanti, J. A. 1993. *Immunologi Edisi ke-3*. W.B.Saunders Company. London
- Betz, C. L. 2002. *Buku Saku Keperawatan Pediatrik*. EGC. Jakarta.
- Brooks, G.F., J.S. Bullet. dan S.A. Morse. 2001 *Mikrobiologi Kedokteran*. Salemba medika. Jakarta
- Burmester, G.R. dan A. Pezutto. 2003. *Color Atlas Of Immunology*. Thieme. New York
- Carpenter, S. 2004. *Avian Immune system*. (Online). www.holisticbird.com. Diakses pada tanggal 4 April 2013
- Chemistry, 57 (1) : 43-46
- Chambell, N.A, J.B Reece, dan I.G Mitchell. 2002. *Biology*, 5th edition. Benjamin Cummings Publishing Company. Englad
- Fenner, F.J., P.A Bachmann, E.P.J. Gibs, F.A. Murphy, M.J. Studert, dan D.O. White. 1995. *Veteriner Virology*. Academy Press. London
- Francis, G., Z. Karem, H.P.S. Makkar dan K. Becker. 2002 *The Biological Action of Saponin in Animal System : S review* J. Nutr. British 88: 587-605
- Guyton, A. C. 1990. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Hariana. 2006. *Tumbuhan Obat dan Khisiatnya Seri 3*. Penebar Swadaya. Bogor
- Hoffbrand, A.V. dkk. 2005. *Hematologi Edisi 4*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Hollman, P. C. H., M. G. L. Hertog, dan M.B. Katan. 1996. *Analysis and Health Effects of Flavonoids*. *Food Chemistry* 57 (1) : 43-46
- Hyun, K. D., Bae E.A., Ryu J.H. dan Kim S.W. 2004. *A Composition Containing Genesenosie RH2 as An Active Material for Preventing*

- Brain Cell. Online <http://www.sumobrain/100963.html>., diakses 10 Desember 2013
- Istiyawati, A. Soediro S. dan Siti K. 1994. Telaah Fitokimia daun kedondong Laut (*Polyscias rumphiana*) <http://bahanalam.fa.itb.ac.id/detail.php?id=82> 10 Desember 2013.
- Juniarianto, E. 1987. Penetapan Kandungan Zat Besi pada Akar lekok Akar dan Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber L.*) FF Unair. Surabaya
- Kusuma, W. 2005. Tumbuhan Liar berkhasiat Obat. Agromedia Pustaka. Jakarta
- Lee, D. 2008. Vietnamese Ginseng. Online <http://VietnamOverseas-AworldwideResourceforVietnameseCulturebuissinesandTelecommunication/2008/Novembe.html> 5 Desember 2013
- Luz, B.O. 1995. The Leaf Volatile Oil of *Nothopanax fruticosum* (L.) Miq. *Phillipine Journal of Science, Flora de Filipinas. Vol. 124, no.2*
- Murphy, K.P., Travers P., dan Walport M. 2008. *Janeway's Immunobiology. 7th Ed.* Garland Sciene : London
- Murtidjo, B.A. 1992. Pengendali Hama dan Penyakit Ayam. Kanisius Yogyakarta
- Nilani, P. 2006. Isolation and identification Panaxidol from Leaf Extract of *Plyscias fructiosa* Online <http://jsscpoooty.org>. 10 Desember 2013
- Ormerod, M.G. 2000. Flowcytometry 3rd Edition. Oxford University Press. Oxford. New York
- Paul, W. E. 2008. Fundamental Immunology. Lippicott Williams & Wilkins. Philadelphia
- Pinca, S., M.S Djati, dan M. Rifa'i. 2013. Analisis Mobilisasi Sel T CD4⁺ dan CD8⁺ pada Timus Ayam Pedaging Pasca Infeksi *Salmonella typhimurium* dan Pemberian Simplisia *Polyscias obtusa*. *Journal of Tropical Life Science* 27-32
- Rifa'i, M. , M. Y. Kawamoto, I. Nakashima dan H Suzuki. 2004. Essential roles of CD8⁺CD122⁺ regulatory T cells in the

- maintenance. The journal of experimental medicine 2009 (9). 111231134
- Rifa'i, M. 2010. Andrographolide Ameliorate Rheumatoid Arthritis by Promoting the Development of Regulatory T Cells. Journal of Tropical Life Science. 1 (1) pp 5-8
- Sardjono, T. W. 2005. Pengaruh infeksi Toxoplasma pada Hasil Kehamilan melalui Interferon Gamma IFN Caspase-3 dan Apoptosis sel-sel Plasenta. Disertasi Doktor Fakultas Kedokteran Airlangga. Surabaya.
- Steenis, C. G. G. J. 1978. Flora untuk Sekolah di Indonesia Cetakan kedua. PT. Pradnya Paramitha. Jakarta
- Sujudi. 2006. Buku Ajar Edisi Revisi Mikrobiologi kedokteran. Bina Rupa Aksara. Tangerang.
- Sukara, E. 2000. Sumber daya alam hayati dan pencarian bahan baku obat (Bioprospekting). Prosiding Simposium Nasional II Tumbuhan Obat dan Aromatik. Puslitbang Biologi-LIPI, Bogor : 31-37
- Suntoro, S.H. 1983. Metode pewarnaan; Histologi dan Histokimia. Bantara Karya Aksara. Jakarta
- Syukur, C. H. 2001. Budidaya Tanaman Obat Komersial. Penebar swadaya. Bogor
- Tedder, T.F., D.A. Steeber, A. Chen, dan P. Engel. 1995. The Selectin: Vascular adhesion molecules. FASEB J. 9, 866-873
- Weir, D. M. 1990. *Segi praktis Imunologi*. [dalam bahasa Indonesia]. Yulius ES. Jakarta : Binarupa Aksara.
- Zhang, X.F., dan B.K. Tan. 2000. Effect of an Ethanolic Extract of *Gynura procumbens* Serum Glucose, Cholesterol and Triglyceride Levels in Normal and Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. Singapore Medical Journal. 41:9-13

LAMPIRAN – LAMPIRAN

Uji normalitas jumlah relatif sel T CD4⁺(LR)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Transform_ LR
N		22
Normal Parameters ^a	Mean	.2914
	Std. Deviation	.09993
Most Extreme Differences	Absolute	.140
	Positive	.140
	Negative	-.081
Kolmogorov-Smirnov Z		.656
Asymp. Sig. (2-tailed)		.782

a. Test distribution is Normal.

Uji homogenitas jumlah relatif sel T CD4⁺(LR)

Test of Homogeneity of Variances

Transform_LR

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.566	7	14	.772

ANOVA

Transform_LR

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.123	7	.018	2.818	.047
Within Groups	.087	14	.006		
Total	.210	21			

Uji signifikansi jumlah relatif sel T CD4⁺(LR)

Transform_LR

Tukey HSD

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
mencit non bunting pembedahan 1	3	.1943	
mencit bunting infeksi pembedahan 2	3	.2460	.2460
mencit bunting infeksi 50% pembedahan 1	3	.2488	.2488
mencit bunting infeksi 100% pembedahan 2	3	.2602	.2602
mencit bunting infeksi 100% pembedahan 1	2	.3058	.3058
mencit bunting infeksi 50% pembedahan 2	2	.3160	.3160
mencit non bunting pembedahan 2	3	.3239	.3239
mencit bunting infeksi pembedahan 1	3		.4495
Sig.		.573	.128

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



Uji normalitas jumlah relatif sel T CD4⁺CD62L⁺ (UR)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Transform_UR
N		22
Normal Parameters ^a	Mean	.1717
	Std. Deviation	.13086
Most Extreme Differences	Absolute	.123
	Positive	.122
	Negative	-.123
Kolmogorov-Smirnov Z		.578
Asymp. Sig. (2-tailed)		.892

a. Test distribution is Normal.

Uji Homogenitas normalitas jumlah relatif sel T CD4⁺CD62L⁺ (UR)

Test of Homogeneity of Variances

Transform_UR

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
11.402	7	14	.000

ANOVA

Transform_UR

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.264	7	.038	5.533	.003
Within Groups	.095	14	.007		
Total	.360	21			

Uji signifikansi jumlah relatif sel T CD4⁺CD62L⁺ (UR)

Transform_UR

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Tukey HSD ^a				
mencit bunting infeksi pembedahan 1	3	.0330		
mencit non bunting pembedahan 1	3	.0438	.0438	
mencit non bunting pembedahan 2	3	.0809	.0809	
mencit bunting infeksi 50% pembedahan 1	3	.1963	.1963	.1963
mencit bunting infeksi 100% pembedahan 1	2	.2186	.2186	.2186
mencit bunting infeksi pembedahan 2	3	.2270	.2270	.2270
mencit bunting infeksi 100% pembedahan 2	3		.2864	.2864
mencit bunting infeksi 50% pembedahan 2	2			.3689
Sig.		.197	.064	.306

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Gambar hasil pengamatan fase estrus



Gambar pengamatan vaginal plaque



Gambar mencit setelah dilakukan *section*



Gambar bone marrow yang berhasil diisolasi dari tubuh mencit

