

SKRIPSI

**PENGARUH FRAKSI ALKALOID DAUN JARONG
(*Chyranthes aspera* L.) TERHADAP JUMLAH DAN JENIS
LEUKOSIT MENCIT (*Mus musculus*) JANTAN YANG
DIINFEKSI *Mycobacterium tuberculosis***



Oleh :

ZAINUDDIN
NIM. 060610234

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2010**

**PENGARUH FRAKSI ALKALOID DAUN JARONG (*Achyranthes aspera* L.)
TERHADAP JUMLAH DAN JENIS LEUKOSIT MENCIT
(*Mus musculus*) JANTAN YANG DIINFEKSI
*Mycobacterium tuberculosis***

Skripsi

sebagai salah satu syarat untuk mengajukan skripsi untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh :

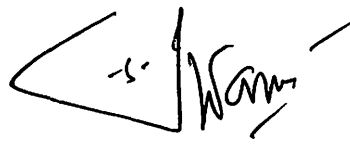
ZAINUDDIN

060610234

Menyetujui
Komisi Pembimbing,



(Lianny Nangoi, drh., M.S.)
Pembimbing Utama



(Dr. Suwarno, drh., M.Si.)
Pembimbing Serta

MOTTO

” Tuhanku, tambahkanlah ilmu yang bermanfaat dan karuniakanlah kepahaman kepadaku “

PERSEMBAHAN

**“ Dengan menyebut *asma*-Mu, ya *Robb*, aku peruntukkan skripsi ini kepada :
kedua orang tua, kakak dan adik-adikku
sebagai salah satu bentuk cinta dan terima kasihku kepada mereka.
Duhai Allah, catatlah ini sebagai amal yang Engkau ridhoi ”**

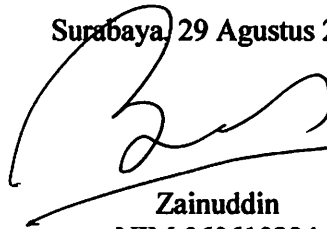
PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang berjudul:

Pengaruh Fraksi Alkaloid Daun Jarong (*Achyranthes aspera* L.) Terhadap Jumlah dan Jenis Leukosit Mencit (*Mus musculus*) Jantan yang Diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 29 Agustus 2010



Zainuddin
NIM 060610234

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian
Tanggal : 26 Agustus 2010

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Dr. Dewa Ketut Meles, drh., M.S.

Sekretaris : Sri Chusniati, drh., M.Kes.

Anggota : R. Budi Utomo, drh., M.Si.

Pembimbing Utama : Lianny Nangoi, drh., M.S.

Pembimbing Serta : Dr. Suwarno, drh., M.Si.

Telah diuji pada
Tanggal : 6 September 2010

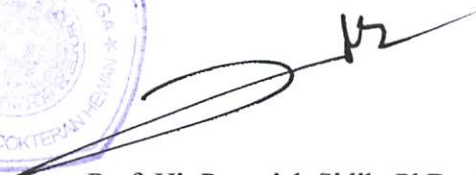
KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Dr. Dewa Ketut Meles, drh., M.S.
Anggota : Sri Chusniati, drh., M.Kes.
R. Budi Utomo, drh., M.Si.
Lianny Nangoi, drh., M.S.
Dr. Suwarno, drh., M.Si.

Surabaya, 15 September 2010

Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Dekan,




Prof Hj. Romziah Sidik, PhD., drh
NIP. 130687305

The Effect of Jarong (*Achyranthes aspera* L.) Leave's Alkaloid Fraction on Leucocytes Count and Differential Count of Male Mice (*Mus musculus*) were Infected by *Mycobacterium tuberculosis*

Zainuddin

ABSTRACT

The purposes of this research are to detect the effect of jarong (*Achyranthes aspera* L.) leave's alkaloid fraction on leucocytes count and differential count of male mice (*Mus musculus*) were infected by *M. tuberculosis*. The research took 20 mice with average weight 20 grams that were divided in to four treatment groups. All of groups were infected by *M. tuberculosis*. Those treatments were: (1) P0, that in this treatment CMC Na 0.5% were given; (2) P1, that in this treatment alkaloid 60 mg/mice/day were given; (3) P2, that in this treatment alkaloid 120 mg/mice/day were given; and (4) P3, that in this treatment alkaloid 180 mg/mice/day were given during 1 month orally. This research showed that jarong leave's alkaloid fraction affects the increasing of leucocytes count and variant. As the result, alkaloid 60 mg/mice can increase the leucocytes count and variant of mice were infected *M. tuberculosis*. It could be concluded that jarong leave's alkaloid fraction is an immunomodulator.

Keywords : Alkaloid, *Achyranthes aspera* L, *Mycobacterium tuberculosis*, leucocytes, mice

UCAPAN TERIMA KASIH

Ya Allah, *Robb* alam semesta raya, aku memuji-Mu dengan sepenuh jiwaku atas selesainya skripsi dengan judul **Pengaruh Fraksi Alkaoid Daun Jarong (*Achyranthes aspera* L.) Terhadap Jumlah dan Jenis Leukosit Mencit (*Mus musculus*) Jantan yang Diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis***. Sungguh Engkau telah begitu banyak memberi karunia kepadaku, namun aku banyak melenakannya. Ampuni aku ya Allah. Ya Rosulullah, tuntunlah aku untuk bisa melaksanakan sunnah-sunnahmu, engkaulah teladan terbaik bagi semua manusia.

Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D., drh. atas kesempatan mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Ibu Lianny Nangoi, drh., M.S. selaku dosen pembimbing utama dan bapak Dr. Suwarno, drh., M.Si. selaku pembimbing serta atas bimbingan dan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi penelitian, serta kepada ibu Emy Koestanti S., drh., M.Kes. dosen wali penulis, atas bimbingan dan dorongan moral yang tak ternilai harganya.

Bapak Dr. Dewa Ketut Meles, drh., M.S. selaku ketua penguji dan pembimbing penelitian, ibu Sri Chusniati, drh., M.Kes. selaku sekretaris penguji dan bapak R. Budi Utomo, drh., M.Si. selaku anggota penguji pada sidang skripsi.

Staf pengajar Fakultas Kedokteran Hewan atas wawasan keilmuan selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Ibu Sunarni Zakaria, dr., M.Kes. yang telah bersedia memberikan izin untuk bersama-sama mengikuti penelitian tentang tuberkulosis.

Staf Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, staf Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bantuan yang diberikan selama penelitian.

Salam *ta'dhim* dan terima kasih penulis sampaikan kepada Ayahanda tercinta Abdul Manan, Ibunda Safaroh serta kakak dan kedua adik penulis yang tercinta, Abdur Rohman, Ahmad Khadliq dan Baidurir Romal, atas motivasi, doa dan semangat yang senantiasa tercurah sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi. Semua guru penulis yang dengan ikhlas memberikan ilmunya, mencerahkan dan mengheningkan hati serta mendoakan muridnya ini agar menjadi pribadi yang sholih dan menjadi penerus perjuangan mereka. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada sahabat-sahabat penulis, mas Indra Kusuma Aryanto, Deltu Ariesa, Adistiari Prayoga, Saiful Amin, Wakhid Nur Hidayat, Ana Listiyana dan Yulitasari, teman sepenelitian mbak Olan, mas Anom, Anggoro Juni Kuncahyo, teman-teman angkatan 2006, keluarga Pesantren Mahasiswa Baitul Hikmah Surabaya, Unit Kegiatan Mahasiswa Kerohanian Islam Universitas Airlangga dan Jamaah Muslim Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan, rekan-rekan yang terlibat langsung atau tidak langsung untuk terselesainya skripsi ini. Semoga Allah memberi balasan yang lebih baik atas segala bantuan serta saran yang berarti.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan. Semoga hasil yang dituangkan dalam skripsi ini dapat bermanfaat.

Surabaya, Agustus 2010

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
HALAMAN IDENTITAS	iv
ABSTRACT	vi
UCAPAN TERIMA KASIH	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 LandasanTeori.....	3
1.4 Tujuan Penelitian.....	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
1.6 Hipoteis Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tuberkulosis	6
2.1.1 Klasifikasi <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	6
2.1.2 Morfologi <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	6
2.1.3 Patogenesis Tuberkulosis	6
2.1.4 Gejala Klinis Tuberkulosis	8
2.2 Jarong	9
2.2.1 Klasifikasi Jarong	9
2.2.2 Morfologi Jarong	9
2.2.3 Kandungan Kimia Daun Jarong	10
2.2.4 Fungsi Kandungan Kimia Daun Jarong	11
2.2.5 Manfaat Tanaman Jarong	11
2.3 Sistem Imun dalam Tubuh	11
2.3.1 Sistem Imun Alamiah (Nonspesifik)	12
2.3.2 Sistem Imun Dapatan (Spesifik)	12
2.4 Granulopoiesis.....	12
2.5 Monopoiesis	13
2.6 Leukosit	13
2.6.1 Neutrofil	14
2.6.2 Eosinofil	14
2.6.3 Basofil.....	15
2.6.4 Monosit.....	16

2.6.5 Limfosit	16
2.7 Harga Normal Jumlah dan Jenis Leukosit Mencit	17
2.8 Leukositosis.....	18
2.9 Peran Daun Jarong Terhadap Sistem Imun	18
2.10 Reaksi Immunologis pada Penyakit Tuberkulosis	19
2.10.1 Reaksi Nonspesifik.....	19
2.10.2 Reaksi Spesifik	20
BAB 3 MATERI DAN METODE.....	22
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	22
3.2 Materi Penelitian	22
3.2.1 Hewan Coba Penelitian	22
3.2.2 <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	22
3.2.3 Bahan Penelitian	23
3.2.4 Alat Penelitian	23
3.3 Metode Penelitian.....	24
3.3.1 Rancanagn Penelitian	24
3.3.2 Persiapan Hewan Coba.....	24
3.3.3 Prosedur Penelitian	25
3.3.4 Kerangka Penelitian.....	26
3.3.5 Variabel Penelitian	27
3.3.6 Pewarnaan Ziehl Neelsen	27
3.4 Penghitungan Jumlah Leukosit Mencit	28
3.5 Penafsiran Jumlah Total Leukosit Mencit.....	29
3.6 Hitung Jenis Leukosit Mencit.....	29
3.7 Analisis Data	30
BAB 4 HASIL PENELITIAN	31
BAB 5 PEMBAHASAN	35
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	39
6.1 Kesimpulan.....	39
6.2 Saran.....	39
RINGKASAN	40
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN.....	46

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Harga Leukosit Normal Mencit	17
4.1 Jumlah dan Jenis Leukosit Mencit yang Diinfeksi <i>Mycobacterium tuberculosis</i> yang Diterapi Menggunakan Fraksi Alkaloid Daun Jarong	31
4.2 Nilai Rata-rata Jumlah dan Jenis Leukosit Mencit yang Diinfeksi <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada Berbagai Dosis Fraksi Alkaloid Daun Jarong	32

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (berwarna merah).....	7
2.2 <i>Achyranthes aspera</i> L.....	9
2.3 Neutrofil tampak berwarna biru	14
2.4 Eosinofil tampak berwarna merah	15
2.5 Basofil tampak berwarna biru	15
2.6 Monosit tampak berwarna merah.....	16
2.7 Limfosit tampak berwarna merah keunguan.....	17
3.1 Bagan alir penelitian pengaruh alkaloid daun jarong terhadap jumlah dan jenis leukosit mencit yang diinfeksi <i>M. tuberculosis</i>	23
4.1 Dokumentasi Hasil Penelitian	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Analisis Varian (Anava) dan Uji Beda Jujur (BNJ) Terhadap Jumlah dan Jenis Leukosit Mencit yang Diinfeksi <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	46
2. Penghitungan Rata-rata Kenaikan Jumlah Total Leukosit Mencit yang Diinfeksi <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	50
3. Alat dan Bahan	51

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

Ba	= basofil
bb	= berat badan
BTA	= Basil Tahan Asam
CD	= <i>cluster of differentiation</i>
CMC Na	= <i>Carboxy Methyl Cellulose Natrium</i>
EDTA	= <i>ethylene diammine tetraaceticacid</i>
Eo	= eosinofil
G-CSF	= <i>Granulocyte-Colony Stimulating Factor</i>
GM-CSF	= <i>Granulocyte Macrophag-Colony Stimulating Factor</i>
HPLC	= <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
IFN	= interferon
Ig	= imunoglobulin
IL	= interleukin
kg	= kilogram
Ly	= limfosit
MBP	= <i>Mayor Basic Protein</i>
M-CSF	= <i>Macrophag-Colony Stimulating Factor</i>
MHC	= <i>major histocompatibility complex</i>
mg	= miligram
ml	= mililiter
Mo	= monosit
NaCl	= Natrium Clorida
n-heksan	= normo hexana
NH ₄ OH	= Amonium Hidroksida
NK	= <i>natural killer</i>
PDAM	= Perusahaan Daerah Air Minum
pH	= <i>power of hydrogen</i>
pmn	= polimorfonuklear
PO	= per oral
rpm	= <i>rotation per minute</i>
seg	= segmen (neutrofil)
Sel B	= sel limfosit B
Sel T	= sel limfosit T
St	= stab (neutrofil)
TBC	= Tuberkulosis
Tc	= <i>T cytotoxic</i>
Th	= <i>T helper</i>
TNF α	= <i>tumor necrosis factor alpha</i>
WHO	= <i>World Health Organization</i>
μ l	= mikroliter
%	= persen

BAB 1

PENDAHULUAN

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tuberkulosis (TBC) merupakan penyakit menular disebabkan bakteri mikobakterium yang menyerang mamalia, unggas dan manusia. Tuberkulosis bersifat kronis, karena setelah beberapa lama gejala penyakit ini baru dapat diketahui jika sudah parah. Tuberkulosis dapat bersifat akut dan progresif apabila menyerang hewan muda. Tuberkulosis merupakan penyakit zoonosis yang dapat ditularkan dari hewan ke manusia (Subronto, 2003). Manusia dan hewan primata dapat terinfeksi *M. tuberculosis*; *M. bovis* dapat menyerang sapi, kerbau, kambing dan domba; bangsa burung dapat terinfeksi *M. Avium*; sedangkan *M. marinum* dapat menginfeksi ikan. *Mycobacterium tuberculosis* tidak hanya menyerang organ paru tetapi dapat menyerang semua organ tubuh yaitu otak, ginjal, usus, tulang dan kulit (Jones and Ronald, 1993).

Diperkirakan di Indonesia terdapat 583.000 penderita TBC baru setiap tahun. Jumlah penderita TBC akan terus meningkat, karena setiap satu penderita TBC positif dapat menularkan kepada 10-15 orang. Sebanyak 262.000 penderita TBC adalah kasus BTA (Basil Tahan Asam) positif yang dapat menularkan ke orang lain. Hal ini menempatkan Indonesia pada peringkat ke tiga penyumbang tuberkulosis terbesar dunia, setelah RRC dan India. Menteri kesehatan menegaskan bahwa masalah TBC bukan masalah kesehatan semata, namun juga berkaitan dengan masalah sosial dan ekonomi. Penderita TBC sebagian besar berasal dari penduduk miskin dan banyak menyerang usia produktif (Girsang dkk,

2002; Depkes RI, 2008). Penderita TBC akan kehilangan waktu kerja 3-4 bulan setiap tahun atau setara dengan penurunan 20-30% pendapatan tahunan keluarga (WHO, 2003).

Invasi *M. tuberculosis* dalam tubuh dapat menurunkan sistem imun induk semang. Tuberkulosis menyebabkan penurunan produksi sitokin proinflamatorik yang dihasilkan makrofag seperti TNF-alfa, IL-1beta dan IL-6 yang diperlukan untuk melawan bakteri sehingga pada keadaan demikian dapat terjadi imunodefisiensi (Kresno, 2000). Pengobatan TBC memerlukan waktu yang lama dan biaya yang mahal. Obat yang umum digunakan adalah isoniazid, rifampisin, etambutol dan pirazinamid (Depkes RI, 2002; Muchtar, 2006). *Mycobacterium tuberculosis* mudah mengalami resistensi terhadap beberapa obat. Terapi pada penderita TBC harus menggunakan kombinasi beberapa obat. Resistensi *M. tuberculosis* terus meningkat terutama di negara sedang berkembang sehingga diperlukan obat alternatif (Koneman *et al.*, 2000).

Banyak tumbuhan di Indonesia yang berpotensi sebagai obat alternatif. Salah satu pengobatan alternatif dari tumbuhan yang berkhasiat sebagai imunomodulator adalah daun jarong (*Achyranthes aspera* L.). Daun jarong sudah dikenal sejak dahulu sebagai bahan obat tradisional yang dapat digunakan untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit (Hembing, 1996).

Vasudeva *et al.* (2002) mengungkapkan bahwa ekstrak *A. aspera* L. mempunyai aktivitas sebagai imunomodulator/imunostimulan yang dapat meningkatkan daya tahan tubuh dan meningkatkan induksi ovalbumin (respon antibodi spesifik humoral) pada tikus. Pemberian *A. aspera* L. pada pakan ikan

mas mampu meningkatkan kadar titer antibodi (Chakrabarti and Vasudeva, 2006), selain itu dapat meningkatkan globulin serum dan aktivitas bakterisidal makrofag (Vasudeva and Chakrabarti, 2004; Vasudeva *et al.*, 2006).

Meles (2005) melakukan ekstraksi 5 kg daun jarong dan diakhir ekstraksi diperoleh 500 gram ekstrak etanol daun jarong. Selanjutnya 500 gram ekstrak etanol daun jarong yang didapat, kemudian dilakukan pemisahan terhadap kadar total alkaloid daun jarong menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Hasil pemisahan ini diperoleh 100 gram alkaloid daun jarong dengan tingkat kemurnian mencapai 97,57%. Kandungan alkaloid ini diduga memiliki potensi sebagai imunomodulator terhadap sistem kekebalan penderita tuberkulosis.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

Apakah pemberian fraksi alkaloid daun jarong (*Achyranthes aspera* L.) pada mencit penderita tuberkulosis dengan dosis yang berbeda dapat berpengaruh terhadap jumlah dan jenis leukosit dalam sirkulasi darah mencit ?

1.3 Landasan Teori

Tuberkulosis disebabkan oleh *M. tuberculosis* yang bersifat kronis dan mempunyai tanda khas yaitu terbentuknya lesi granulomatus yang disebut tuberkel disertai pengkejuan. Tuberkel dibentuk dalam suatu fokus primer, yang

pada manusia dan sapi sering terjadi di jaringan paru, sedangkan turberkel pada unggas ditemukan di usus (Jones and Ronald, 1993).

Tubuh yang terpapar agen infeksius segera mengerahkan komponen sistem imun ke tempat tersebut. Dalam hal ini, fagosit memegang peran yang amat penting. Sel radang yang pertama yang keluar dari pembuluh darah menuju area infeksi adalah neutrofil. Bersama makrofag, neutrofil merupakan garis depan dalam melindungi tubuh untuk mengeliminasi mikroorganisme (Ganong, 2002).

Imunomodulator adalah bahan-bahan yang memiliki kemampuan meningkatkan reaksi imun yang menguntungkan serta menghambat reaksi imun yang merugikan induk semang, merangsang pembentukan monosit, memacu aktivitas makrofag, granulosit dan limfosit (Bellanti, 1993). Ekstrak *A. aspera* L. dapat meningkatkan sistem imun tubuh dengan menstimulasi produksi monosit serta meningkatkan fungsi makrofag (Sharma *et al.*, 2009).

Kandungan alkaloid daun jarong memiliki efek imunomodulator dan dapat bekerja pada sistem pertahanan tubuh, merangsang sel progenitor menghasilkan *Granulocyte Macrophag-Colony Stimulating Factor* (GM-CSF) (Vasudeva *et al.*, 2002). Sel induk pluripoten membelah menjadi sel progenitor. Selanjutnya, GM-CSF yang dihasilkan sel progenitor merangsang *Macrophag-Colony Stimulating Factor* (M-CSF) dan *Granulocyte-Colony Stimulating Factor* (G-CSF) menghasilkan monosit dan granulosit (Turgeon, 1993). Sel fagosit utama yang berperan dalam melawan infeksi *M. tuberculosis* adalah makrofag teraktivasi (Ganong, 2002).

1.4 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan sebagai berikut :

Membuktikan adanya pengaruh fraksi alkaloid daun jarong (*Achyranthes aspera* L.) terhadap jumlah dan jenis leukosit mencit penderita tuberkulosis.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah khasanah pengetahuan tentang pengaruh alkaloid daun jarong sebagai imunomodulator yang dapat meningkatkan leukosit pada penderita tuberkulosis.

2. Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan memberikan informasi tentang pemanfaatan alkaloid daun jarong sebagai obat alternatif pengobatan tuberkulosis dalam meningkatkan kesehatan.

1.6 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas akan didapatkan hipotesis :

Terdapat peningkatan terhadap jumlah dan jenis leukosit mencit yang diinfeksi *M. tuberculosis* yang diberi fraksi alkaloid daun jarong (*Achyranthes aspera* L.) dengan dosis yang berbeda.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tuberkulosis

2.1.1 Klasifikasi *Mycobacterium tuberculosis*

Bakteri penyebab tuberkulosis diklasifikasikan sebagai berikut (Jawetz *et al.*, 1991) :

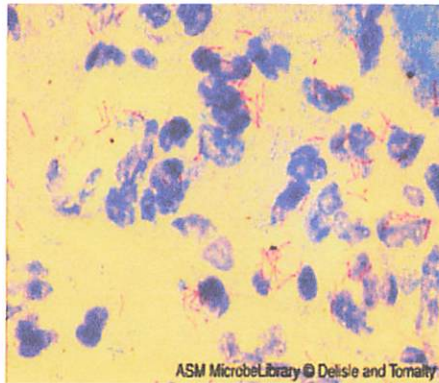
Kingdom	: Bacteria
Filum	: Actinobacteria
Ordo	: Actinomycetales
Sub Ordo	: Corynebacterineae
Famili	: Mycobacteriaceae
Genus	: Mycobacterium
Spesies	: <i>Mycobacterium tuberculosis</i>

Mycobacterium tuberculosis tahan terhadap asam pada pewarnaan, oleh karena itu disebut pula sebagai BTA, sehingga dengan pewarnaan Ziehl Neelsen berwarna merah (Jawetz *et al.*, 1991). Bakteri ini tumbuh dengan baik pada jaringan yang kaya oksigen (Jones and Ronald, 1993).

2.1.2 Morfologi *Mycobacterium tuberculosis*

Mycobacterium tuberculosis merupakan bakteri berbentuk batang lurus agak bengkok, berukuran panjang 1-4 mikron dan lebar 0,2-0,8 mikron dapat soliter atau berkelompok. *Mycobacterium tuberculosis* bersifat gram positif, nonmotil, tidak berspora, dinding selnya berlapis lilin, serta mengandung asam mikolat

penyebab sifat tahan asam, sehingga zat warna karbol fukhsin tetap dipertahankan meskipun dicuci dengan asam alkohol. Lapisan lilin ini membuat bakteri tersebut lebih tahan hidup di lingkungan dibandingkan dengan bakteri yang tidak membentuk spora (Jawetz *et al.*, 1991; Masniari, 2004; Tyasningsih dkk., 2010).



Gambar 2.1 *Mycobacterium tuberculosis* (berwarna merah) (Masniari, 2004).

2.1.3 Patogenesis Tuberkulosis

Mycobacterium tuberculosis dapat menginfeksi induk semang melalui saluran respirasi, saluran digesti, dan luka terbuka pada kulit. Kebanyakan infeksi tuberkulosis terjadi melalui udara yaitu inhalasi droplet yang mengandung bakteri *M. tuberculosis* dari penderita (Price and Mary, 2005). Sumber penularan adalah penderita TBC BTA positif. Pada waktu batuk atau bersin, penderita menyebarkan bakteri *M. tuberculosis* ke udara dalam bentuk droplet (percikan dahak). Droplet yang mengandung bakteri dapat bertahan di udara pada suhu kamar selama beberapa jam (Depkes RI, 2008).

Mekanisme infeksi tuberkulosis melalui inhalasi maka bakteri akan mengendap di alveoli paru kemudian difagosit oleh makrofag alveolus. Di dalam

sel fagosit, bakteri ini terus berkembang biak. Sel fagosit yang berisi bakteri ini berfungsi sebagai penyebaran infeksi ke berbagai organ tubuh. Perkembangbiakan bakteri hanya akan terhenti dengan pembentukan imunitas seluler yang khas dan terjadi dalam waktu 6-8 minggu setelah infeksi. Jika infeksi terjadi melalui saluran digesti, maka jalur invasi terjadi melalui limfoglandula mesenterium, dinding usus, dan hati melalui sistem portal. Bakteri dari limfoglandula dapat mencapai *ductus thoracicus* melalui infeksi umum (Marino and Denise, 2003).

Lesi granulomatus merupakan bentuk khas radang kronis, terjadi bila neutrofil tidak mampu memfagosit dan mengeliminasi agen penyebabnya (Arimbi, 2010). Neutrofil tampak pada alveoli paru dan memfagosit bakteri namun tidak membunuh bakteri. Setelah itu, neutrofil diganti oleh makrofag. Infiltrasi makrofag menjadi lebih panjang dan sebagian bersatu membentuk tuberkel yang dikelilingi sel epiteloid. Pada manusia reaksi ini membutuhkan waktu 10-20 hari (Price and Mary, 2005).

2.1.4 Gejala Klinis Tuberkulosis

Gejala klinis yang ditimbulkan oleh penderita tuberkulosis pada manusia yaitu batuk terus menerus dan berdahak selama 3 minggu atau lebih, dahak bercampur darah, batuk berdarah, sesak nafas disertai rasa nyeri dada, badan lemah, nafsu makan menurun, berkeringat malam walaupun tanpa kegiatan, demam lebih dari satu bulan, dan berat badan menurun (RS Sulianti Saroso, 2007; Depkes RI, 2008). Tuberkulosis dapat menyebabkan perbesaran limfonodus superfisial pada hewan ternak, terutama limfonodus submaksilaris dan faringeal (Subronto, 2003).

2.2 Jarong (*Achyranthes aspera* L.)

2.2.1 Klasifikasi Jarong

Menurut Depkes RI (1997), tanaman jarong diklasifikasikan sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Caryophyllales
Suku	: Amaranthaceae
Marga	: <i>Achyranthes</i>
Jenis	: <i>Achyranthes aspera</i> L.

Nama tumbuhan ini dibedakan pada beberapa daerah, Hembing (1996) menyebutkan : jarong laki, daun sangketan, nyarang, sui in sui, sangko hidung (Sulawesi), rai rai dodinga (Maluku), pulutan, dan remak getih (Bali).



Gambar 2.2 *Achyranthes aspera* L. (Hembing, 1996).

2.2.2 Morfologi Jarong

Tanaman ini merupakan flora asli Indonesia dan tumbuh liar di pekarangan. Tinggi tanaman ini hingga satu meter, berdaun tebal dan letaknya berhadapan, berbentuk bulat telur terbalik sampai lonjong dengan pangkal daun menyempit, tepi daun rata dan agak bergelembung dengan tulang daun menyirip, bunga tumbuh di ujung tangkai antar percabangan berbentuk tandan seperti tangkai padi, kuntum bunga hijau dengan butir bulat keras dan tajam (Heming, 1996).

2.2.3 Kandungan Kimia Daun Jarong

Depkes RI (1997) menyatakan bahwa daun jarong mengandung senyawa saponin, polifenol dan alkaloid. Wei *et al.* (1998) menyebutkan bahwa daun jarong mengandung alkaloid, akirantin, betain, terpenoid, saponin, ramnosa, glukosa, galaktosa, reilosa, hentriacontan, a-spinasterol, b-sitosterol, asam palmitat, a-spinasterol-3b-d glikosida, daukosterol, dan ekdisterol.

Chacraborty *et al.* (2002) menemukan alkaloid, non alkaloid dan saponin pada ekstrak metanol *Achyranthes aspera* L. Daun jarong yang diekstrak menggunakan HPLC mengandung alkaloid dengan kemurnian lebih dari 97,57% (Meles, 2005). Alkaloid tanaman merupakan senyawa kimia yang berasal dari tanaman, mengandung satu gugus atau lebih atom nitrogen, bersifat alkali, dan umumnya berasa pahit. Gugus nitrogen yang terdapat dalam alkaloid tanaman dapat berbentuk amina primer, amina skunder, maupun amina tersier (Robinson, 1991).

2.2.4 Fungsi Kandungan Kimia Daun Jarong

Terpenoid dan saponin berpengaruh terhadap permeabilitas membran sel. Peningkatan permeabilitas membran sel dapat menyebabkan cairan elektrolit ekstraseluler akan mudah masuk ke dalam sel, akibatnya sel akan membengkak dan mudah pecah (Tahiliani and Kai, 2000). Golongan alkaloid dan flavonoid jarong dapat menyebabkan gangguan pada membran sel sehingga komponen penyusun membran sel akan berubah sehingga terjadi pengkerutan dan kerusakan membran sel (Gill *et al.*, 2001). Alkaloid merangsang sel progenitor menghasilkan *Granulocyte Macrophag-Colony Stimulating Factor* (GM-CSF) (Vasudeva *et al.*, 2006), dan menstimulasi pembentukan progranulosit dan promonosit dari sel progenitor (Sharma *et al.*, 2009).

2.2.5 Manfaat Tanaman Jarong

Tanaman jarong dapat digunakan sebagai bahan pengobatan dan pencegahan berbagai penyakit, diantaranya : demam, malaria, batuk, disentri, enteritis, faringitis, tonsilitis, pneumonia, gondongan, radang sendi, infeksi ginjal, batu ginjal, nyeri menstruasi, memperlancar persalinan, kencing darah, dan obat luka (Hembing, 1996). Ekstrak metanol daun jarong memiliki aktivitas antitumor (Sharma *et al.*, 2009), dan obat hepatitis (Tahiliani and Kai, 2000).

2.3 Sistem Imun dalam Tubuh

Sistem imun tubuh merupakan gabungan sel, molekul dan jaringan yang berperan dalam resistensi tubuh terhadap benda asing (*nonself*) (Bellanti, 1993).

2.3.1 Sistem Imun Alamiah (Nonspesifik)

Sistem imun alamiah (*natural/innate/native*) terdapat pada individu sehat atau sakit yang berfungsi untuk mencegah benda asing masuk ke dalam tubuh dan dengan cepat menyingkirkan benda asing tersebut. Kekebalan alamiah telah ada dan siap berfungsi sejak individu lahir yang merupakan pertahanan awal. Pertahanan alamiah terdiri dari pertahanan fisik seperti kulit, selaput lendir, silia, bersin dan pH, serta pertahanan seluler oleh leukosit (Rantam, 2003).

2.3.2 Sistem Imun Dapatan (Spesifik)

Pertahanan spesifik (*adaptive/acquired*) mempunyai kemampuan mengenal benda asing (*nonself*) yang masuk ke dalam tubuh. Kekebalan spesifik memiliki memori sehingga dapat menyingkirkan benda asing yang sudah dikenal. Dapat bekerja tanpa bantuan sistem imun nonspesifik, tetapi umumnya terjalin kerjasama antara sistem imun spesifik dan nonspesifik. Pertahanan spesifik terdiri dari pertahanan humoral yang diperankan oleh sel B (limfosit B) dan pertahanan selular yang diperankan oleh sel T (limfosit T) (Tizard, 2000).

2.4 Granulopoiesis

Granulopoiesis merupakan proses pembentukan dan pematangan granulosit yang terjadi di sumsum tulang. Prekursor granulosit secara normal tidak tampak dalam darah perifer tetapi berada dalam sumsum tulang. Prekursor yang paling awal disebut mieloblas, berinti besar dan berkromatin, sitoplasma bersifat basofilik dan tidak terdapat granula. Pembelahan sel mieloblas menghasilkan

promielosit yang mempunyai granula primer dalam sitoplasmanya. Promielosit selanjutnya membelah menghasilkan mielosit yang mempunyai granula spesifik dalam sitoplasmanya. Mielosit akan membelah menghasilkan bentuk yang berbeda terdiri dari neutrofil (stab dan segmen), eosinofil dan basofil yang dapat diidentifikasi berdasarkan morfologinya dan dilepas dari sumsum tulang menuju sirkulasi darah (Schalm *et al.*, 1995).

2.5 Monopoiesis

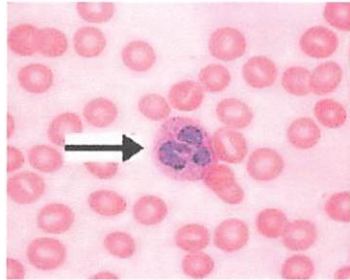
Monopoiesis merupakan proses pembentukan dan pematangan monosit yang terjadi dalam sumsum tulang. Monosit berasal dari sel induk yang sama dengan sel induk granulosit, yaitu mieloblas. Sel ini mengalami maturasi dalam sumsum tulang menjadi promonosit. Selanjutnya, promonosit membelah dan langsung dilepaskan menuju sirkulasi darah. Fase pembentukan monosit meliputi mieloblas, promonosit dan monosit. Monosit memiliki inti berlekuk dan ukuran monosit lebih besar dibandingkan granulosit darah perifer lainnya (Kerr, 2002).

2.6 Leukosit

Leukosit berperan sebagai komponen kekebalan tubuh sebagai fagosit. Adatidaknya granula refraktif, leukosit dibedakan menjadi dua golongan yaitu granulosit (neutrofil, eosinofil dan basofil) dan agranulosit (monosit dan limfosit). Jumlah granulosit yaitu 70% dari jumlah leukosit, sedangkan jumlah agranulosit yaitu 30% dari jumlah leukosit (Ganong, 2002).

2.6.1 Neutrofil

Sel pertama yang keluar dari pembuluh darah menuju area jejas adalah neutrofil. Sel ini mempunyai inti padat khas yang terdiri dari 2-5 lobus disebut polimorfonuklear (pmn). Sitoplasma mengandung granul yang berisi lisosom, enzim yang terkandung didalamnya adalah enzim hidrolase termasuk protease, lipase dan fosfatase. Granula ini berfungsi sebagai fagositosis yaitu kemampuan untuk memakan dan menghancurkan mikroorganisme terutama bakteri. Bersama makrofag, neutrofil merupakan garis depan dalam melindungi tubuh untuk mengeliminasi mikroorganisme. Jumlah neutrofil mencapai 68% dari total leukosit. Umur dalam sirkulasi darah sekitar 2-8 jam, dan dalam jaringan mencapai 2-3 hari (Meyer and John, 2004).

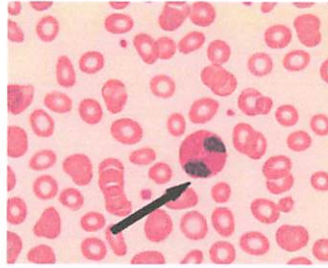


Gambar 2.3 Neutrofil tampak berwarna biru (Fawcett, 2002).

2.6.2 Eosinofil

Eosinofil memiliki granula yang lebih kasar dan intinya jarang lebih dari tiga lobus. Sel ini mempunyai waktu transit dalam darah lebih lama dari neutrofil serta berperan dalam eliminasi fibrin yang terbentuk selama inflamasi. Granula ini mengandung *major basic protein* (MBP) yang berfungsi merusak membran sel yang berukuran besar yang tidak dapat difagositosis, seperti cacing atau parasit yang telah dilapisi antibodi dan komplemen. Sel ini banyak dijumpai pada

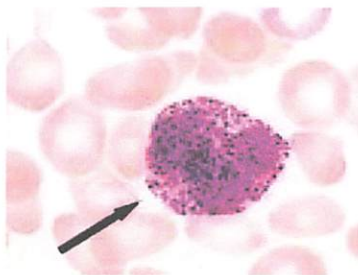
penyakit parasiter dan keadaan alergi yang berhubungan dengan pelepasan Ig E. Jumlah sel ini hanya 1% dari jumlah leukosit (Schalm *et al.*, 1995).



Gambar 2.4 Eosinofil tampak berwarna merah (Fawcett, 2002).

2.6.3 Basofil

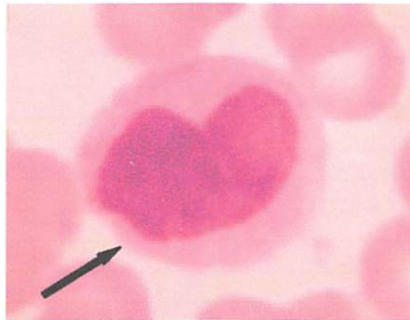
Basofil berinti polimorfonukler dan sitoplasmanya dipenuhi granula besar menutupi inti. Jumlah sel ini sekitar 1% dari leukosit. Granula basofil mengandung serotonin, heparin dan histamin. Heparin dan serotonin berfungsi sebagai antikoagulan yang dapat mencegah terjadinya proses pembekuan darah dan stasis pembuluh darah di daerah yang mengalami peradangan. Basofil berubah menjadi sel mast di jaringan dan mempunyai tempat perlekatan Ig E serta degranulasinya (pecahnya granula) disertai pelepasan histamin (Turgeon, 1993).



Gambar 2.5 Basofil tampak berwarna biru (Fawcett, 2002).

2.6.4 Monosit

Monosit dalam sirkulasi darah berpindah ke jaringan menjadi makrofag. Bentuk inti sel ini tidak bergranula dan besar sehingga sitoplasmanya sedikit. Umur dalam sirkulasi darah empat kali lebih lama dari neutrofil. Pada peradangan akut jumlahnya sangat sedikit dan keluar lebih lambat. Reaksi radang yang berjalan lama, maka jumlah sel ini semakin banyak. Monosit memasuki jaringan menjadi makrofag dan melaksanakan fungsi utamanya yaitu memfagosit dan mengeliminasi partikel besar seperti fungi dan protozoa serta sel-sel yang rusak dan mati (Abbas *et al.*, 1994).

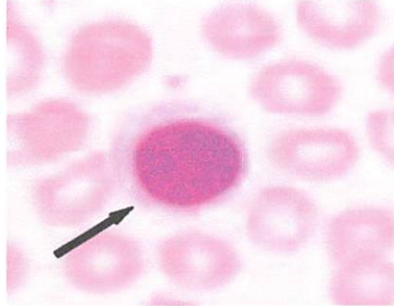


Gambar 2.6 Monosit tampak berwarna merah (Fawcett, 2002).

2.6.5 Limfosit

Limfosit terdiri dari sel T dan sel B dengan inti berbetuk oval atau bulat. Jumlah sel T sekitar 65%-80% dalam sirkulasi dan sel B sekitar 5%-10% dari limfosit. Sel ini dalam darah perifer bermigrasi melalui vena pasca kapiler ke dalam kelenjar getah bening dan kembali ke darah perifer melalui aliran limfatik eferen dan *ductus thorachicus*. Sel plasma merupakan fase diferensiasi terminal dari perkembangan sel B yang memproduksi antibodi yaitu Ig A, Ig E, Ig M, dan

Ig G terutama terjadi dalam limfoid. Limfosit berfungsi dalam pembentukan antibodi humoral dan seluler (Meyer and John, 2004).



Gambar 2.7 Limfosit tampak berwarna merah keunguan (Fawcett, 2002).

2.7 Harga Normal Jumlah dan Jenis Leukosit Mencit

Tabel 2.1 Harga Leukosit Normal Mencit

Jenis Leukosit	Kisaran
Basofil (%)	0-7
Eosinofil (%)	0
Stab Neutrofil (%)	0
Segmen Neutrofil (%)	10-20
Limfosit (%)	35-90
Monosit (%)	0-3
Total Leukosit	7.000-15.000/ μ l*

Keterangan : * Rata-rata nilai total leukosit normal mencit adalah 10.000/ μ l.
Sumber : Mitruka and Rawnsley (1981).

2.8 Leukositosis

Leukositosis merupakan peningkatan jumlah leukosit per mikroliter yang melebihi normal. Leukosit meningkat sebagai respon fisiologis untuk melindungi tubuh dari infeksi mikroorganisme. Untuk merespon adanya infeksi atau radang akut, neutrofil meninggalkan kelompok marginal dan memasuki daerah infeksi sehingga sumsum tulang akan melepaskan sumber cadangannya sehingga menimbulkan peningkatan granulopoiesis. Adanya peningkatan granulopoiesis tersebut ditemukan bentuk neutrofil imatur (neutrofil stab) yang banyak memasuki sirkulasi darah. Proses ini disebut dengan pergeseran ke kiri (*shift to the left*). Peningkatan jumlah neutrofil absolut lebih sering dibandingkan peningkatan jumlah jenis leukosit lainnya sebab sebagian besar leukositosis karena adanya peningkatan neutrofil/neutrofilia (Schalm *et al.*, 1995; Meyer and John, 2004).

Monositosis terjadi selama kebutuhan jaringan untuk proses fagositosis makromolekuler meningkat dan dapat ditemukan pada fase penyembuhan infeksi. Monositosis dapat disebabkan oleh penyakit kronis, keadaan ini berhubungan imunitas seluler yang berjalan lambat. Selain itu, monositosis dapat terjadi pada kasus anemia hemolitik, listeriosis dan erisipelas pada babi serta monositik leukimia pada anjing (Jones and Ronald, 1993; Turgeon, 1993).

2.9 Peran Daun Jarong Terhadap Sistem Imun

Daun jarong merupakan obat nabati yang dapat mempengaruhi mekanisme pertahanan atau sistem imunitas tubuh, yang meliputi sistem imun non spesifik maupun spesifik (Hargono, 1996). Sistem imun mencakup mekanisme fisiologis

yang membantu untuk mengenal benda-benda asing pada dirinya (*nonself*), untuk menetralkan, menyisihkan atau memetabolisasi benda asing tersebut dengan atau tanpa kerusakan pada jaringannya sendiri (Rantam, 2003).

Achyranthes aspera L. memiliki fungsi sebagai imunomodulator dengan meningkatkan produksi gas oksigen reaktif oleh makrofag untuk membunuh bakteri (Datir *et al.*, 2009). Efek imunomodulator dari alkaloid daun jarong bekerja sebagai imunostimulan pada sistem pertahanan tubuh (Vasudeva and Chakrabarti, 2004). Alkaloid ini merangsang pembentukan progranulosit dan promonosit dari sel progenitor (Sharma *et al.*, 2009). Progranulosit menghasilkan granulosit, sedangkan promonosit menghasilkan monosit (Schalm *et al.*, 1995).

2.10 Reaksi Imunologik pada Infeksi *Mycobacterium tuberculosis*

2.10.1 Reaksi Nonspesifik

Neutrofil yang mati di area jejas karena umurnya pendek dapat sebagai kemotaktik faktor untuk monosit. Di bawah pengaruh molekul adhesi dan beberapa mediator kimia, monosit mulai migrasi ke tempat jejas 24 jam atau 48 jam kemudian. TNF merekrut monosit dari sirkulasi untuk bermigrasi menjadi makrofag (Abbas *et al.*, 1994). Secara imunologik, makrofag dibedakan menjadi makrofag normal dan makrofag teraktivasi. Makrofag normal berperan pada pembangkitan daya tahan imunologis nonspesifik, dilengkapi dengan kemampuan bakterisidal atau bakteriostatik terbatas. Makrofag ini berperanan pada daya tahan imunologis bawaan (*innate resistance*). Makrofag teraktivasi mempunyai kemampuan bakterisidal atau bakteriostatik sangat kuat yang merupakan hasil

aktivasi sel T sebagai bagian dari respons imun spesifik (*acquired resistance*) (Subagyo dkk., 2006). Monosit setelah keluar dari pembuluh darah (makrofag) diaktifkan oleh IFN-gamma menjadi makrofag aktif. Makrofag aktif memiliki ukuran lebih besar sehingga terjadi peningkatan kandungan enzim lisosom, metabolisme sel dan kemampuan membunuh mikroorganisme (Tizard, 2000).

2.10.2 Reaksi Spesifik

Imunitas seluler tuberkulosis terdiri atas 3 tipe reaksi yaitu fagositosis oleh makrofag teraktivasi serta lisis sel terinfeksi oleh limfosit Tc (*cytotoxic*) dan sel NK. Sel T sitotoksik melisiskan sel target/terinfeksi melalui arahan sel Th disertai interaksi dengan MHC I, sedang sel NK melisiskan sel terinfeksi tanpa melalui interaksi MHC (Kresno, 2000; Rantam, 2003).

Sel T adalah mediator utama pertahanan imun melawan *M. tuberculosis*. Secara imunofenotipik, sel T terdiri dari limfosit T *helper*, disebut juga *clusters of differentiation 4* (CD4) karena mempunyai molekul CD4+ pada permukaannya, jumlahnya 65% dari limfosit T darah tepi. Sebagian kecil lainnya (35%) berupa limfosit T supresor atau T sitotoksik yang mempunyai molekul CD8+ pada permukaannya dan sering juga disebut CD8. Sel Th (CD4) berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel Th1 (*Helper*) dan sel Th2 (Subagyo dkk., 2006). Sel Th1 mensekresikan IL-1 dan IFN-gamma yang berperan dalam imunitas seluler. Sel Th2 mensekresikan IL-4 dan IL-5 yang berperan dalam imunitas humoral (Ganong, 2002).

Mycobacterium tuberculosis dalam makrofag akan dipresentasikan sel Th1 melalui MHC II (*major histocompatibility complex*). Sel Th1 dan NK selanjutnya akan mensekresi IFN-gamma yang mengaktifkan makrofag sehingga dapat menghancurkan bakteri yang telah difagosit. IFN-gamma yang disekresi oleh Th1 tidak hanya berfungsi meningkatkan kemampuan makrofag melisiskan bakteri tetapi juga mempunyai efek merangsang sekresi TNF- α (*tumor necrosis factor alfa*) oleh makrofag. Hal ini terjadi karena substansi aktif dalam komponen dinding sel bakteri yaitu *lipoarabinomannan* (LAM) dapat merangsang makrofag memproduksi TNF- α . Sel Th1 dan sel NK menghasilkan IFN-gamma yang akan mengaktifkan makrofag alveoler memproduksi berbagai macam substansi, diantaranya adalah oksigen reaktif dan nitrogen oksida. Gas ini akan menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri (Abbas *et al*, 1994; Subagyo dkk., 2006).

Turgeon (1993) mengungkapkan bahwa fungsi makrofag dalam respon imun yaitu : pertama, sebagai sel efektor yaitu menghancurkan mikroorganisme, sel ganas, benda asing karena sitoplasma makrofag mengandung enzim hidrolase maupun peroksidase sebagai enzim perusak. Kedua, makrofag mempunyai reseptor terhadap fragmen imunoglobulin pada permukaannya yaitu fragmen *crystallizable* (Fc) untuk berikatan pada kompleks antibodi yang bertindak sebagai opsonin melekat pada permukaan sel yang terinfeksi sehingga makrofag mudah menghancurkan sel tersebut. Ketiga, makrofag aktif juga memproduksi IL-1 untuk memacu proliferasi sel T dan sel B.

BAB 3

MATERI DAN METODE

BAB 3 MATERI DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2009 sampai bulan Februari 2010. Penelitian ini dikerjakan di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga untuk pembuatan fraksi alkaloid daun jarong, Laboratorium Patologi Klinik Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga untuk pemeliharaan, pemberian perlakuan terhadap mencit serta penghitungan jumlah dan jenis leukosit mencit, serta di Pusat Penyakit Tropis Universitas Airlangga untuk melakukan pewarnaan Ziehl Neelsen untuk membuktikan adanya *M. tuberculosis* pada mencit yang diinfeksi.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Hewan Coba Penelitian

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah 21 ekor mencit (*Mus musculus*) berumur 2 bulan dan berjenis kelamin jantan yang berasal dari Pusat Veterinaria Farma (Pusvetma) Surabaya dengan berat badan rata-rata 20 gram. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini dalam keadaan sehat.

3.2.2 *Mycobacterium tuberculosis*

Bakteri *M. tuberculosis* diperoleh dari Laboratorium Tuberculosis N-302 *Institute of Tropical Disease* Universitas Airlangga Surabaya.

3.2.3 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah daun jarong yang diperoleh dari Surabaya yang telah dideteksi menggunakan HPLC. Pemisahan 200 gram ekstrak alkaloid dari 5 kg daun jarong basah berdasarkan validitasi dan standarisasi Harbon (1987) yang dikutip Meles (2005), diperoleh alkaloid dengan kemurnian 97,57%. Bahan kimia yang digunakan untuk pembuatan alkaloid antara lain n-heksan, metanol, NH₄OH, asam tartat, kloroform. Bahan kimia yang lain adalah CMC Na 0,5%, NaCl fisiologis, eter, dan aquades. EDTA (*Ethylene Diamine Tetraaceticacid*) digunakan sebagai antikoagulan saat pengambilan darah mencit secara intrakardial. Larutan Turk digunakan sebagai pengencer dalam penghitungan leukosit mencit.

3.2.4 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan untuk pembuatan alkaloid *A. aspera* L. dan larutan CMC Na 0,5% antara lain toples kaca, baskom plastik, sendok berukuran besar, tisu, penyaring *buchner* dan pompa *vacum, rotavapor*, labu pisah, gelas ukur, kertas saring, cawan porselin, gelas pengaduk, pH ukur. Peralatan lain yang digunakan antara lain cawan petri, timbangan digital, pemanas, mortir, *becker glass*, glass ukur 100cc, spuit 100cc, tabung reaksi dan rak, erlenmeyer 500cc, dan gelas pengaduk (spatula). Spuit 1cc yang digunakan untuk menginjeksi mencit dengan *M. tuberculosis* secara intraperitoneal. Sonde lambung dan spuit 3cc digunakan saat pemberian perlakuan pada masing-masing mencit.

Peralatan yang digunakan untuk penghitungan leukosit meliputi : seperangkat tabung reaksi sejumlah 20 buah, pipet leukosit, kamar hitung *improved neubauer*, gelas obyek, kaca penutup, mikroskop binokuler, *counter* dan *blood cell counter*.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan tipe Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan besar sampel $t (n-1) \geq 15$. Rancangan acak lengkap dipergunakan karena media dan bahan percobaan seragam atau dapat dianggap seragam (Kusriningrum, 2008). Pada penelitian ini banyaknya perlakuan (t) yang digunakan ada empat perlakuan, maka banyaknya ulangan (n) ada lima ulangan.

3.3.2 Persiapan Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan 21 ekor mencit jantan yang dibagi menjadi empat perlakuan dengan lima ulangan, dan satu ekor mencit untuk dinekropsi guna menegakkan diagnosis tuberkulosis. Mencit diadaptasikan dalam kandang berukuran 30 x 20 cm selama dua minggu, dengan tujuan supaya mencit dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan baru. Setiap kandang berisi lima ekor mencit dan diinfeksi dengan *M. tuberculosis* sebanyak $\pm 10^4$ sel bakteri/0,2 ml/ekor secara intraperitoneal dan diinkubasi selama sebulan (Zakaria dkk., 2009).

3.3.3 Prosedur Penelitian

Setelah diinkubasi selama sebulan kemudian satu ekor mencit diambil secara acak untuk dinekropsi dan diambil bagian paru yang ada tuberkelnya. Selanjutnya, dibuat preparat ulas dengan pewarnaan Ziehl Neelsen guna memastikan bakteri tuberkulosis telah menginfeksi hewan coba. Setelah diketahui terjadi infeksi dengan ditemukan *M. tuberculosis* pada preparat ulas kemudian 20 ekot mencit diberi perlakuan berupa fraksi alkaloid *A. aspera* L. secara per oral setiap hari selama 30 hari.

Pada penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa mencit yang diberi fraksi alkaloid daun jarong dengan dosis 120 mg/kg bb/po dapat menghambat pembentukan lesi di saluran pencernaan, paru dan usus yang diinfeksi *M. tuberculosis* (Meles dkk., 2004). Penelitian tersebut menjadi dasar penetapan dosis pada penelitian ini.

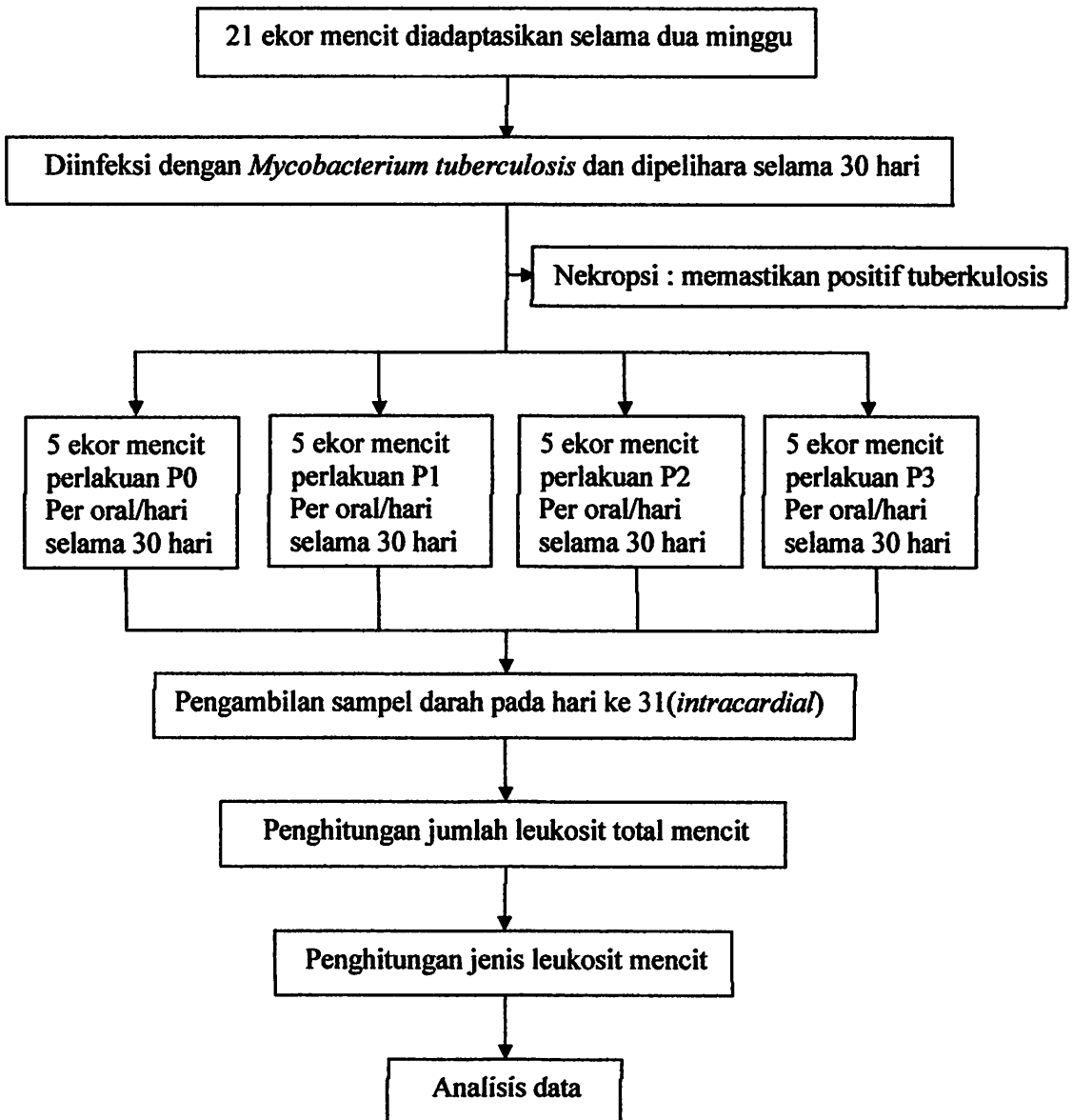
P0 : Pemberian larutan alkaloid *A. aspera* L. 0 mg/kg BB add 0,5cc/ekor/hari per oral.

P1 : Pemberian larutan alkaloid *A. aspera* L. 60 mg/kg BB add 0,5cc/ekor/hari per oral.

P2 : Pemberian larutan alkaloid *A. aspera* L. 120 mg/kg BB add 0,5cc/ekor/hari per oral.

P3 : Pemberian larutan alkaloid *A. aspera* L. 180 mg/kg BB add 0,5cc/ekor/hari per oral

3.3.4 Kerangka Penelitian



Gambar 3.1 Bagan alir penelitian pengaruh alkaloid daun jarong terhadap jumlah dan jenis leukosit mencit yang diinfeksi *M. tuberculosis*.

3.3.5 Variabel Penelitian

Adapun variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- a. Variabel bebas : fraksi alkaloid daun jarong dengan dosis 0 mg/ekor/hari, 60 mg/ekor/hari, 120 mg/ekor/hari dan 180 mg/ekor/hari.
- b. Variabel tergantung : data penghitungan jumlah dan jenis leukosit mencit (basofil, eosinofil, neutrofil stab dan segmen, limfosit dan monosit) yang diterapi menggunakan fraksi alkaloid daun jarong.
- c. Variabel kendali : jenis mencit, umur mencit dan pemeliharaan mencit.

3.3.6 Pewarnaan Ziehl Neelsen

Diagnosis tuberkulosis dapat ditegakkan dengan penemuan bakteri *M. tuberculosis* menggunakan pewarnaan Ziehl Neelsen. Pewarnaan Ziehl Neelsen dilakukan dengan memilih bagian organ paru atau usus yang terdapat tuberkel kemudian digerus menggunakan mortir. Hasil gerusan dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi NaCl fisiologis kemudian disentrifus dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit. Endapan dalam tabung yang disentrifus diambil menggunakan ose tumpul dan dioleskan pada gelas objek yang sudah ditandai serta difiksasi dengan api bunsen. Karbol fukhsin 0,3% diteteskan pada sampel yang akan diwarnai dan dipanaskan pada api bunsen kemudian didiamkan selama lima menit. Preparat kemudian dicuci dengan air, dan dilanjutkan dengan pembilasan menggunakan asam alkohol 3%. Selanjutnya, *methylen blue* 0,3% diteteskan pada preparat tersebut dan ditunggu selama 30 menit kemudian dibilas dengan air. Sesudah itu preparat diangin-anginkan sampai kering kemudian

diamati menggunakan mikroskop dengan pembesaran 1000 kali (Jawetz *et al.*, 1996).

3.4 Penghitungan Jumlah Leukosit Mencit

Menurut Biyanti dkk. (2010), penghitungan jumlah leukosit dilakukan dengan cara darah diencerkan serta dicat dengan larutan Turk kemudian sel-selnya dihitung dalam kamar hitung *improved neubauer*. Larutan Turk (per 100 ml) terdiri dari asam asetat glacial 3ml, gentian violet 1% 1 ml dan aquades ad 100 ml. Penghitungan jumlah leukosit dilakukan langkah-langkah sebagai berikut : darah diambil dengan pipet leukosit sampai tepat garis tanda '0,5' dari tabung sampel darah dengan cara diisap. Kemudian masukkan ujung pipet leukosit dalam larutan Turk dan diisap sampai pada tanda '11'. Kedua ujung pipet ditutup dengan jari telunjuk dan karet penghisap dilepaskan. Selanjutnya larutan dikocok selama 3 menit.

Larutan dalam pipet leukosit dibuang sebanyak 3-4 tetes, kemudian ujung pipet leukosit disentuh pada permukaan kamar hitung *improved neubauer* dengan menyinggung pinggir kaca penutup sampai kamar hitung terisi cairan secara perlahan-lahan dengan daya kapilaritas kamar hitung. Setelah itu, kamar hitung *improved neubauer* diletakkan di bawah mikroskop dan diamati memakai lensa obyektif kecil (10 x) sampai garis-garis bagi dalam bidang besar tampak jelas maka leukosit terlihat jelas dengan sendirinya.

Setelah leukosit terlihat jelas, segera dihitung leukosit yang terdapat pada empat bidang besar dengan cara manual menggunakan alat *counter*.

Penghitungan dimulai dari sudut kiri atas, terus ke kanan, kemudian turun ke bawah dan dari kanan ke kiri dan seterusnya. Cara seperti ini dilakukan pada ke empat bidang besar. Setelah selesai penghitungan, maka dapat dilanjutkan pada pemeriksaan sampel darah berikutnya menggunakan cara yang sama.

3.5 Penafsiran Jumlah Total Leukosit Mencit

Pengenceran yang terjadi dalam pipet leukosit adalah 20 kali. Jumlah semua leukosit yang dihitung dalam keempat bidang besar dan dibagi empat menunjukkan jumlah leukosit dalam 0,1 μl darah. Kalikan angka itu dengan 10 (untuk tinggi pipet leukosit) dan 20 (untuk pengenceran) guna mendapatkan jumlah leukosit dalam 1 μl darah. Singkatnya, jumlah leukosit yang dihitung (N) dalam ke empat bidang besar dikalikan 50 menunjukkan jumlah leukosit per 1 μl darah. Maka $N \times 50 =$ jumlah leukosit per μl darah (Bijanti dkk., 2010). Pemeriksaan jumlah leukosit ini didasarkan pada perbandingan jumlah leukosit mencit yang diinfeksi *M. tuberculosis* (P0) dengan jumlah leukosit pada semua perlakuan (P1, P2 dan P3).

3.6 Hitung Jenis Leukosit Mencit

Menurut Bijanti dkk. (2010), hitung jenis leukosit dilakukan dengan mengidentifikasi dan menghitung jenis leukosit paling sedikit 100 leukosit. Langkah-langkah untuk menghitung jenis leukosit sebagai berikut : minyak emersi ditetaskan pada preparat hapusan darah. Kemudian diamati dan dihitung jenis leukosit menggunakan *blood cell counter* (lensa obyektif 100x).

Penghitungan dimulai pada pinggir atas sediaan hapusan darah dan berpindah ke arah pinggir bawah dengan menggunakan mikromanipulator mikroskop. Pada pinggir bawah, lapangan pandang digeser ke kanan agak lebih banyak dari lebarnya lapangan emersi, kemudian ke arah pinggir atas lagi. Sesampai di pinggir atas, lapangan pandang digeser ke kanan lagi dan kemudian ke arah pinggir bawah. Langkah ini dilakukan sampai 100 leukosit dapat dihitung menurut jenisnya. Hasil yang didapatkan ditulis berdasarkan urutan Ba/Eo/St/Seg/Ly/Mo. Setelah selesai penghitungan, maka dapat dilanjutkan pada pemeriksaan sampel berikutnya menggunakan cara yang sama.

3.7 Analisis data

Data yang diperoleh dari pemeriksaan jumlah total dan jenis leukosit selanjutnya dianalisis menggunakan Uji Analisis Varian (Anava). Data yang didapat, kemudian dilakukan uji lanjutan dengan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) untuk mengetahui dosis alkaloid yang paling efektif di antara perlakuan tersebut (Kusriningrum, 2009).

BAB 4

HASIL PENELITIAN

BAB 4 HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian tentang pengaruh fraksi alkaloid daun jarong dengan dosis 0, 60, 120 dan 180 mg/ekor/hari yang telah dilakukan kemudian dilanjutkan dengan penghitungan jumlah dan jenis leukosit mencit (*Mus musculus*) jantan yang diinfeksi *M. tuberculosis* diperoleh data sebagai berikut.

Tabel 4.1 Jumlah dan Jenis Leukosit Mencit yang Diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis* yang diterapi Menggunakan Fraksi Alkaloid Daun Jarong

n	Perlakuan	Basofil	Eosinofil	Neutrofil		Limfosit	Monosit
				Stab	Segmen		
Ulangan	P0	%	%	%	%	%	%
1	11600	0	5	0	23	68	4
2	12.450	0	3	0	23	69	5
3	11.650	0	6	0	22	67	5
4	12.500	0	2	0	24	69	5
5	12.100	0	3	0	23	70	4
Ulangan	P1	%	%	%	%	%	%
1	16.500	0	4	0	26	62	8
2	15.550	0	3	0	25	64	8
3	16.100	0	2	0	27	62	9
4	16.350	0	3	0	24	64	9
5	15.900	0	2	0	26	64	8
Ulangan	P2	%	%	%	%	%	%
1	14.450	0	4	0	26	62	8
2	12.700	0	3	0	23	66	8
3	13.650	0	3	0	26	64	7
4	13.250	0	4	0	24	65	7
5	14.350	0	2	0	24	68	6
Ulangan	P3	%	%	%	%	%	%
1	12.650	0	4	0	23	66	7
2	13.100	0	6	0	24	64	6
3	12.600	0	3	0	25	65	7
4	12.700	0	4	0	22	69	5
5	13.250	0	4	0	24	66	6

Keterangan : Jenis leukosit mencit dihitung per 100 sel.

Tabel 4.2 Nilai rata-rata jumlah dan jenis leukosit mencit yang diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis* pada berbagai dosis fraksi alkaloid daun jarong menggunakan uji BNJ

Perlakuan	Nilai rata-rata						
	Total Leukosit	Basofil	Eosinofil	Neutrofil Stab	Neutrofil Segmen	Limfosit	Monosit
P1	16.080 ^a	0	456,8 ^a	0	4.186,8 ^a	10.160,8	1.374,8 ^a
P2	13.680 ^b	0	437,2 ^a	0	3.341,4 ^b	8.889,6	983,4 ^b
P3	12.860 ^{bc}	0	514,6 ^a	0	3.033,4 ^{bc}	8.486,0	795,8 ^{bc}
P0	12.060 ^c	0	453,2 ^a	0	2.775,6 ^c	8.275,6	555,8 ^c

Superskrip yang berbeda pada kolom menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$).

Hasil uji Anava terhadap jumlah total leukosit mencit (*Mus musculus*) jantan yang diinfeksi *M. tuberculosis* diperoleh F hitung sebesar 63,1369. Derajat bebas perlakuan pada penelitian ini adalah $4 - 1 = 3$, dan derajat bebas galat yaitu $20 - 4 = 16$. Adapun nilai pada F tabel 0,05 adalah 3,01 dan F tabel 0,01 didapatkan nilai 4,77 (Lampiran 1.2).

Hasil uji Anava terhadap jumlah total leukosit menunjukkan bahwa nilai F hitung $> F$ tabel 0,01 yakni $63,1369 > 4,77$. Hasil uji ini memperlihatkan adanya perbedaan yang sangat signifikan di antara perlakuan terhadap jumlah leukosit mencit (*Mus musculus*) jantan yang diinfeksi *M. tuberculosis*. Selain dilakukan pemeriksaan dan penghitungan jumlah leukosit total mencit, penelitian ini juga dilakukan pemeriksaan dan penghitungan jumlah jenis leukosit mencit dan diperoleh data sebagai berikut.

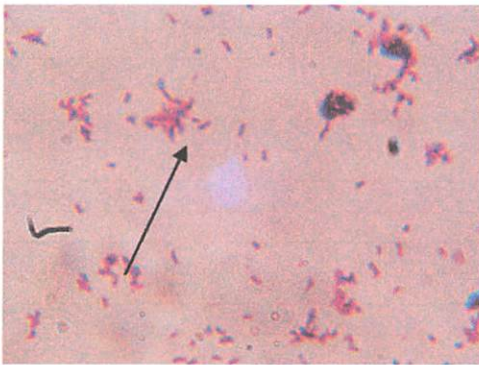
Hasil uji Analisis Varian terhadap jumlah jenis leukosit mencit (*Mus musculus*) jantan yang diinfeksi *M. tuberculosis* diperoleh F hitung yang berbeda

antara jumlah eosinofil, neutrofil dan monosit mencit. Uji Analisis Varian jumlah eosinofil mencit diperoleh F hitung 0,2134 (Lampiran 1.6); jumlah neutrofil mencit diperoleh F hitung 26,1858 (Lampiran 1.10); dan jumlah monosit mencit didapatkan F hitung 51,8717 (Lampiran 1.14). Analisis Varian terhadap ketiga jenis leukosit ini menggunakan derajat bebas perlakuan dan derajat bebas galat, serta nilai F tabel yang sama seperti pada uji Analisis Varian jumlah total leukosit mencit.

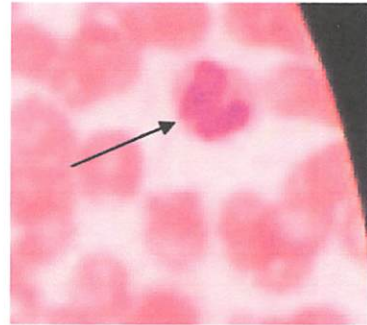
Hasil perhitungan uji Anava jumlah eosinofil menunjukkan nilai F hitung < F tabel 0,05 ini berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada semua perlakuan. Hasil uji Anava menunjukkan nilai F hitung > F tabel 0,01 baik pada pengujian jumlah neutrofil maupun monosit, yaitu $26,1858 > 4,77$ untuk hasil pengujian neutrofil dan pengujian monosit $51,8717 > 4,77$. Hasil uji ini memperlihatkan adanya perbedaan yang sangat signifikan di antara perlakuan terhadap jumlah neutrofil dan monosit mencit (*Mus musculus*) jantan yang diinfeksi *M. tuberculosis*.

Berdasarkan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) terhadap jumlah eosinofil tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada mencit yang diinfeksi *M.tuberculosis*. Uji BNJ terhadap total leukosit dapat diketahui bahwa jumlah total leukosit tertinggi didapat pada perlakuan P1 yang berbeda sangat signifikan terhadap perlakuan lainnya. Jumlah total leukosit terendah didapat pada perlakuan P0 yang tidak berbeda bermakna dengan perlakuan P3 (Lampiran 1.4). Uji BNJ terhadap neutrofil didapatkan jumlah neutrofil tertinggi terjadi pada perlakuan P1 yang berbeda signifikan dengan perlakuan yang lain (Lampiran 1.12). Begitu juga

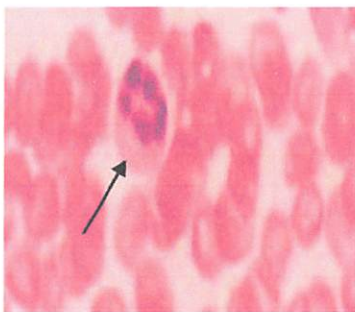
jumlah tertinggi monosit terdapat pada perlakuan P1 yang berbeda sangat signifikan dibandingkan perlakuan lainnya (Lampiran 2.16). Jumlah terendah neutrofil dan monosit terdapat pada perlakuan P0 yang tidak berbeda bermakna dengan perlakuan P3. Selanjutnya, analisis berdasarkan rata-rata jumlah total leukosit mencit yang dibandingkan antara perlakuan P0 dengan perlakuan P1, P2, dan P3. Pada analisis ini terdapat peningkatan leukosit sebesar $4.020 / \mu\text{l}$ pada P1, peningkatan total leukosit P2 sebesar $1.620 / \mu\text{l}$, dan P3 terjadi peningkatan total leukosit sebesar $800 / \mu\text{l}$ (Lampiran 3).



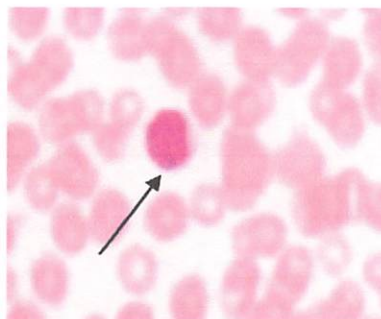
Mycobacterium tuberculosis



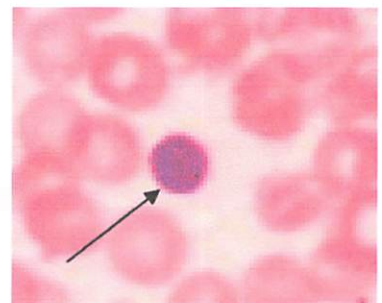
Eosinofil



Neutrofil



Monosit



Limfosit

Gambar 4.1 Dokumentasi Hasil Penelitian

BAB 5

PEMBAHASAN

BAB 5 PEMBAHASAN

Penelitian pengaruh fraksi alkaloid daun jarong terhadap jumlah dan jenis leukosit mencit yang diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis* bertujuan untuk mengetahui efek dan mekanisme kerja fraksi alkaloid daun jarong pada mencit penderita tuberkulosis. Hasil pengamatan mikroskopis sampel darah mencit penderita tuberkulosis menunjukkan adanya peningkatan leukosit (leukositosis). Leukositosis biasanya terjadi pada individu yang terpapar agen infeksi, terutama serangan bakteri (Bellanti, 1993).

Hasil uji Analisis Varian terhadap jumlah leukosit total mencit menunjukkan adanya perbedaan yang sangat signifikan (F hitung $> 0,01$) antara perlakuan kontrol (P0) dengan perlakuan P1, P2 dan P3. Perbedaan yang tampak pada darah mencit karena infeksi *M. tuberculosis* dan pemberian fraksi alkaloid daun jarong berbagai dosis tersebut menunjukkan adanya pengaruh fraksi alkaloid daun jarong terhadap jumlah leukosit dalam sirkulasi darah mencit. Kejadian ini disebut leukositosis yakni peningkatan jumlah leukosit dalam darah mencit (Kerr, 2002). Leukositosis pada infeksi tuberkulosis ini didominasi adanya peningkatan neutrofil dan monosit (Lee *et al.*, 1999; Oehadian, 2003).

Infeksi bakteri tuberkulosis dalam tubuh dapat mencetuskan respon peradangan sehingga sumsum tulang dirangsang menghasilkan neutrofil (Ganong, 2002). Polipeptida dari peptidoglikan dinding bakteri dapat memicu respon imunitas karena dianggap benda asing oleh inang definitif. Kedudukan polipeptida dalam tubuh memfasilitasi interaksi antara bakteri tuberkulosis dengan inang

definitif dan bersifat antigenik yang dapat menggertak sistem imun mencit untuk mencegah invasi bakteri (Tizard, 2000). Kekebalan yang terjadi pada kondisi ini adalah terjadinya neutrofilia dan monositosis (Oehadian, 2003).

Hasil analisis penelitian ini menunjukkan adanya peningkatan leukosit pada semua perlakuan (P1, P2, dan P3) jika dibandingkan dengan kontrol (P0). Peningkatan leukosit tertinggi terjadi pada P1, yaitu pada mencit yang diberi perlakuan berupa fraksi alkaloid daun jarong dengan dosis 60 mg/ekor/hari. Peningkatan leukosit ini terjadi karena kandungan bahan aktif daun jarong dapat berfungsi sebagai imunomodulator (Vasudeva *et al.*, 2002) dengan memerankan fungsi imunostimulator terhadap kekebalan tubuh (Vasudeva and Rina, 2004). Bahan aktif daun jarong yang memiliki aktivitas imunomodulator adalah alkaloid. Alkaloid bekerja spesifik dengan menstimulasi produksi GM-CSF oleh sel progenitor (Cakrabarti and Vasudeva, 2006) yang nantinya akan menghasilkan progranulosit dan promonosit (Sharma *et al.*, 2009).

Progranulosit akan menghasilkan granulosit, sedang promonosit menghasilkan monosit. Progranulosit dan promonosit dalam istilah lain dikenal sebagai asal mula mieloblas (Schalm *et al.*, 1995). Analisis hematologi pada kejadian tuberkulosis mencit pada penelitian ini, progranulosit meningkatkan produksi eosinofil, neutrofil segmen dan monosit, sedang limfosit dalam jumlah normal. Adanya eosinofilia, neutrofilia dan monositosis menunjukkan adanya tuberkulosis aktif dalam tubuh penderita tuberkulosis (Oehadian, 2003).

Eosinofilia adalah peningkatan jumlah eosinofil yang merupakan respon terhadap inflamasi dan menunjukkan kemungkinan adanya koinfeksi cacing.

Tuberkulosis dapat menimbulkan sindroma PIE (*Pulmonary Infiltration with Eosinophilia*) yang ditandai dengan adanya batuk, sesak, demam, berkeringat, malaise dan eosinofilia (Schlossberg, 1994; Lee *et al.*, 1999; Oehadian, 2003).

Neutrofilia merupakan peningkatan jumlah neutrofil pada penderita tuberkulosis dengan infiltrasi ke sumsum tulang. Neutrofilia disebabkan reaksi imunologis dengan mediator sel limfosit T dan membaik setelah pengobatan. Neutrofilia pada umumnya berhubungan dengan penyebaran lokal akut seperti pada meningitis tuberkulosis, pecahnya fokus perkejuan pada bronkhus atau rongga pleura (Lee *et al.*, 1999). Pada infeksi tuberkulosis yang berat atau tuberkulosis milier, dapat ditemukan peningkatan jumlah neutrofil dengan pergeseran ke kiri (*shift to the left*) dan granula toksik (reaksi leukomoid) (Schlossberg, 1994; Beutler *et al.*, 2001).

Tuberkulosis merupakan penyebab utama monositosis. Monositosis adalah peningkatan jumlah monosit dalam tubuh penderita tuberkulosis (Beutler *et al.*, 2001). Monosit berperan penting dalam respon imun pada infeksi tuberkulosis yaitu berperan dalam reaksi imunitas seluler terhadap *M. tuberculosis*. Sebagian fosfolipid *M. tuberculosis* mengalami degradasi dalam monosit dan makrofag yang menyebabkan transformasi sel-sel tersebut menjadi sel epiteloid. Monosit merupakan sel utama dalam pembentukan tuberkel. Aktivitas pembentukan tuberkel ini dapat tergambar dengan adanya monositosis dalam darah (Schlossberg, 1994). Pada tuberkulosis aktif, jumlah monosit dapat meningkat dan jumlah limfosit normal. Pada fase penyembuhan, jumlah monosit menurun

sedangkan limfosit meningkat, menyebabkan rasio kembali menjadi normal (Lee *et al.*, 1999).

Perekutan monosit dari sirkulasi darah dipengaruhi TNF (Abbas *et al.*, 1994). Monosit setelah keluar dari pembuluh darah (makrofag) diaktifkan oleh IFN-gamma menjadi makrofag aktif. Makrofag aktif memiliki ukuran lebih besar sehingga terjadi peningkatan kandungan enzim lisosom, metabolisme sel dan kemampuan membunuh mikroorganisme (Tizard, 2000). Secara imunologik, makrofag dibedakan menjadi makrofag normal dan makrofag teraktivasi. Makrofag normal memiliki kemampuan bakterisidal atau bakteriostatik terbatas, berperan pada kekebalan nonspesifik. Makrofag teraktivasi mempunyai kemampuan bakterisidal atau bakteriostatik sangat kuat yang merupakan hasil aktivasi sel T sebagai bagian dari respons imun spesifik (Subagyo dkk., 2006).

Sel Th berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel Th1 (*Helper*) dan sel Th2 (Subagyo dkk., 2006). Sel Th1 mensekresikan IL-1 dan IFN-gamma yang berperan dalam imunitas seluler. IL-1 berperan dalam memacu proliferasi sel T dan sel B (Baratawidjaja, 2006). Sel Th2 mensekresikan IL-4 dan IL-5 yang berperan dalam imunitas humoral (Ganong, 2002).

Mycobacterium tuberculosis dalam makrofag akan dipresentasikan oleh sel Th1 melalui MHC II. Sel Th1 dan NK selanjutnya akan mensekresi IFN-gamma yang mengaktifkan makrofag sehingga dapat menghancurkan bakteri yang telah difagosit. IFN-gamma yang disekresi oleh Th1 tidak hanya berfungsi meningkatkan kemampuan makrofag melisiskan bakteri, tetapi juga merangsang sekresi TNF- α oleh makrofag (Abbas *et al.*, 1994; Subagyo dkk., 2006).

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian pengaruh fraksi alkaloid daun jarong terhadap jumlah dan jenis leukosit mencit yang diinfeksi *M. tuberculosis* dapat disimpulkan sebagai berikut.

1. Pemberian fraksi alkaloid daun jarong berbagai dosis berpengaruh terhadap peningkatan jumlah dan jenis leukosit mencit penderita tuberkulosis.
2. Pemberian fraksi alkaloid daun jarong pada P1, P2, dan P3 berbeda sangat signifikan dibandingkan dengan P0. Kenaikan tertinggi jumlah dan jenis leukosit terdapat pada P1 dengan dosis alkaloid 60 mg/kg bb.

6.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran dapat disampaikan adalah :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap penggunaan dosis alkaloid daun jarong yang aman dan efektif.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap farmakokinetik dan farmakodinamik alkaloid daun jarong sebagai imunomodulator pada penyakit tuberkulosis.

RINGKASAN

RINGKASAN

Zainuddin. Pengaruh Fraksi Alkaloid Daun Jarong (*Achyranthes aspera* L.) Terhadap Jumlah dan Jenis Leukosit Mencit (*Mus musculus*) Jantan yang Diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis* di bawah bimbingan ibu Lianny Nangoi, drh., M.S. selaku dosen pembimbing utama dan bapak Dr. Suwarno, drh., M.Si. selaku dosen pembimbing serta.

Banyak tanaman obat di Indonesia, salah satu tanaman yang bermanfaat dan masih diteliti khasiatnya adalah jarong. Simplisia yang digunakan adalah daunnya yang mengandung alkaloid. Alkaloid merupakan senyawa kimia yang berasal dari tanaman yang berpotensi sebagai obat imunomodulator yang dapat memperbaiki sistem imun tubuh.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh fraksi alkaloid daun jarong terhadap jumlah dan jenis leukosit dalam meningkatkan respon imun mencit yang diinfeksi *M. tuberculosis*. Penelitian ini menggunakan daun jarong yang diekstrak untuk mendapatkan alkaloid melalui metode HPLC dengan berbagai dosis, yaitu alkaloid 0 mg/ekor/hari, 60 mg/ekor/hari, 120 mg/ekor/hari dan 180 mg/ekor/hari.

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah 21 ekor mencit jantan (*Mus musculus*). Mencit tersebut dibagi dalam 4 perlakuan dengan 5 ulangan. Selanjutnya mencit diinfeksi dengan *M. tuberculosis* secara intraperitoneal sebanyak 10^4 sel bakteri/0,2 ml/ekor dan diinkubasi selama 30 hari. Penegakan diagnosis dilakukan dengan mengambil satu ekor mencit untuk dinekropsi dan

diwarnai dengan pewarnaan Ziehl Neelsen. Pemberian perlakuan dilakukan setelah mencit positif terinfeksi *M. tuberculosis* dan dibagi dalam 4 perlakuan, yaitu P0, P1, P2 dan P3. Alkaloid daun jarong diberikan selama selama 30 hari secara per oral, kemudian tiap mencit diambil darahnya melalui intrakardial setelah masa perlakuan selesai. Darah yang diperoleh dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi EDTA. Selanjutnya, kedua puluh sampel darah diperiksa dan dihitung jumlah total dan jenis leukositnya.

Data yang diperoleh kemudian diolah dengan uji Anava dan dilanjutkan dengan uji BNJ untuk mengetahui perlakuan mana yang paling signifikan. Hasil uji Anava menunjukkan adanya perbedaan sangat signifikan di antara perlakuan, dimana semua perlakuan mengalami leukositosis baik jumlah total maupun jenis leukosit, kecuali limfosit masih dalam jumlah normal. Pada jumlah eosinofil tidak terdapat perbedaan yang bermakna meskipun terjadi leukositosis. Berdasarkan uji BNJ, P1 merupakan perlakuan yang paling efektif karena hasilnya berbeda sangat signifikan dengan perlakuan yang lain. Sedangkan hasil terendah terdapat pada P0 yang tidak berbeda bermakna dengan P3.

Leukositosis diduga karena kandungan zat aktif daun jarong, yaitu alkaloid. Zat ini bekerja sebagai imunomodulator (imunostimulator) terhadap sel progenitor untuk menghasilkan GM-CSF dalam memproduksi G-CSF dan M-CSF sehingga terjadi peningkatan leukosit, terutama neutrofil dan monosit, serta meningkatkan aktivitas bakterisidal makrofag. Leukositosis ini dapat terlihat pada kenaikan rata-rata jumlah leukosit total antara P0 dengan perlakuan lainnya, yaitu P1 sebesar 4.020/ μ l, P2 sebesar 1.620/ μ l dan P3 sebesar 800/ μ l.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A. K., A. H. Lichtman, and J. S. Pober. 1994. Cellular and Molecular Immunology. 2nd ed. Saunders Company. Philadelphia. p : 320-327.
- Arimbi, 2010. Buku Ajar Patologi Umum Veteriner : Radang Akut dan Radang Kronis. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya.
- Bellanti, J. A. 1993. Immunologi III. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hal : 203-207, 293-303.
- Beutler, E., A. H. Lichtman, B.S. Coleer, T. J. Kipps, U. Selingsohn. 2001. William Hematology : Neutrophilia and Monocytosis. 6th ed. Vol 1. Mc Graw-Hill. New York. p : 827-830, 882-885.
- Bijanti, R., M. G. A. Yuliani, R. B. Utomo, R. S. Wahyuni dan S. Budhy. 2010. Penuntun Praktikum Patologi Klinik Veteriner. FKH Universitas Airlangga, Surabaya.
- Baratawidjaja, K.G. 2006. Imunologi Dasar. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Hal. 63-65.
- Chakrabarti, R. and R. Y. Vasudeva. 2006. *Achyranthes aspera* Stimulates the Immunity and Enhances the Antigen Clearance in *Catla catla*. J. International Immunopharmacology. 6(5). p : 782-790.
- Chakraborty., A., T. Mukainaka, T. Konoshima, H. Tokuda and H. Nishino. 2002. Cancer Chemopreventive Activity of *Achyranthes aspera* leaves on Epstein barr Virus Activation and Two-stage Mouse Skin carcinogenesis. Cancer Lett. 177(1): 1-5.
- Datir, S. A., S. A. Nirma, A. B. Ganjare, S. B. Bhawar and M. J. Patil. 2009. Antioxidant Activity of the Aerial Parts of the *Achyranthes aspera var porphyristachya*. J. Pharmacognosy and Phytochemistry. 1(3) p. 220-225.
- Depkes RI. 1997. Inventaris Tanaman Obat Indonesia (IV). Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta.
- Depkes RI. 2002. Pedoman Nasional Penanggulangan Tuberkulosis. Jakarta.
- Depkes RI. 2008. Lembar Fakta Tuberkulosis. Jakarta.
- Fawcett, W. D. 2002. Atlas Histologi. Penerbit Buku Kedokteran ECG. Jakarta.

- Ganong, W. F. 2002. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Ed. 20. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hal : 496-499, 504-505.
- Gill, S.M.K., N. Balasioner, and P.Parte. 2001. *Intermittent Treatment With Taxmoxiven on Reproduction in Male Rat*. Asia. p. 132-137.
- Girsang, M., Sumarti, Yulianti, P. Noerendah dan Gendrowahyuhono. 2002. *Quality Control Pemeriksaan Mikroskopis TB di Puskesmas Rujukan Mikroskopis (PRM)*. Puser Penelitian dan Pengembangan Pemberantasan Penyakit, Depkes RI. Jakarta. *Cermin Dunia Kedokteran* No. 137.
- Harbon, J. B. 1987. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB. Bandung. Hal : 234-237.
- Hargono, D. 1996. *Sekelumit Mengenai Obat Nabati dan Sistem Imunitas*. *Cermin Dunia Kedokteran* 108 : 5-9.
- Hembing, H.W. 1996. *Tanaman Berkhasiat Obat Di Indonesia*. Karya Wreda. Hal: 57-60.
- Jawetz, E., J. L. Melnick, E. A. Adelberg. 1991. *Medical Microbiology*. 19th ed. Prentice-Hall International. USA. p : 272-278.
- Jones, T. C. and D. H. Ronald. 1993. *Veterinary Pathology*. 5th ed. Lead & Febiger. Philadelphia. p : 648-659.
- Kerr, M. G. 2002. *Veterinary Laboratory Medicine : Clinical Biochemistry and Hematology*. Blackwell. Philadelphia. p : 259-267.
- Koneman, E. W., S. D. Allen, V. R. Dowell, W. M. Janda, H. M. Sommer, W. C. Winn. 2000. *Diagnostic Microbiology*. 3rd ed. Lipincott Co. Pinnsyvania. p. 184-186.
- Kresno, S. B. 2000. *Imunologi : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Ed. 3. Gaya Baru. Jakarta. Hal : 96-106.
- Kusriningrum. 2008. *Perancangan Percobaan*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Lee, G.R., J. Foester, J. Lukens, F. Parakevas, J. P. Greer, G. M. Rodgers. 1999. *Wintrobe's Clinical Hematology : Variations of Leucocytes in Disease*. 10th ed. Vol 2. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia. p : 1838-1853.

- Marino, S. and E. K. Denise. 2003. The Human Immune Response to *Mycobacterium tuberculosis* in Lungs and Lymphonode. *J. Theoretical Biology*. p. 463-485.
- Masniari, L. 2004. Bahaya dan Penanganan Tuberculosis. *JTI*. 3(1). hal. 2-4.
- Mitruka, B. M. and H. M. Rawnsley. 1981. *Clinical Biochemical and Hematology*. Masson Publishing. USA
- Meles, D. K., Wurlina, S. Zakaria dan W. Sastrowardoyo. 2004. Efek Antibakterial Ekstrak Alkaloid Daun *Achyranthes aspera* linn pada Berbagai Jenis Bakteri. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Arlangga. Surabaya.
- Meles, D. K. 2005. Efek Antimitosis Fraksi Alkaloid *Achyranthes Aspera* linn pada Pembelahan Sel Embrio. Disertasi. Pasca Sarjana Universitas Airlangga. Surabaya.
- Meyer, D. J. and J. W. Harvey. 2004. *Veterinary Laboratory Medicine : Interpretation and Diagnosis*. 3rd ed. Saunders. USA. p. 83-99.
- Muchtar, A. 2006. Farmakologi Obat Antituberkulosis (OAT) Sekunder. *JTI* 2006 ; 3(2). hal. 24-25.
- Oehadian, A. 2003. Aspek Hematologi Tuberculosis. Lokakarya TB dalam rangka acara Simposium Pendidikan Kedokteran Berkelanjutan 2003. Universitas Padjadjaran. Bandung
- Price, S. A., and P. S. Mary. 2006. *Patofisiologi : Konsep Klinik Proses-proses Penyakit*. Edisi 6. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hal : 852-856.
- Rantam, F. A. 2003. *Imunologi*. Airlangga University Press. Surabaya. Hal : 3-8.
- Robinson. 1991. *The Organic Constituents of Higher Plant*. Published by Cordus Press. North Anherst. p : 281-292.
- RS Sulianti Saroso. 2007. *Pusat Informasi Penyakit Infeksi dan Penyakit Menular Indonesia*. Jakarta. <http://www.Infeksi.com>
- Schalm, O. W., N. C. Jain, and E. J. Carroll. 1995. *Veterinary Hematology*. 3rd ed. Lea & Febiger. Philadelphia. p. 471-487.
- Schlossberg, D. 1994. *Hematologic Changes in Tuberculosis*. 3rd ed. New York, Springer-Verlag. p : 257-263.

- Sharma, S. K., N. Vasudeva and M. Ali. 2009. A New Aliphatic acid from *Achyranthes aspera* Roots. *J. Chemistry*. 48 (B). p. 164-173.
- Subagyo, A., T. Y. Aditama, D. K. Sutoyo dan L. G. Partakusuma. 2006. Pemeriksaan Interferon-gamma dalam Darah untuk Deteksi Infeksi Tuberkulosis. *JTI*. 3(2). Hal. 6-15.
- Subronto. 2003. Ilmu Penyakit Ternak (Mamalia). Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hal : 493-502.
- Tizard, I. 2000. *Veterinary Immunology and Introduction*. 6th ed. Saunders Company. Philadelphia. p: 5-13.
- Tahiliani, P. and A. Kai. 2000. *Achyranthes aspera* Elevates Thyroid Hormon Levels and Decrease Hepatic Lipid Peroxidation in Female Rats. *J. Ethnopharmacol*. Aug. 7(3). p : 527-532.
- Turgeon, M. Louise. 1993. *Clinical Hematology : Theory amd Procedure*. 2nd ed. Brown and Company. USA. p. 128-139, 143-147.
- Tyasningsih, W., R. Ratnasari, E. R. S. Iman, S. Sarudji, S. Chusniati dan D. Handiyatno. 2010. *Penyakit Infeksius I*. Airlangga University Press. Surabaya. Hal : 79-83.
- Vasudeva, R. Y., G. R. Duddukuri, G. S. Babu, R. R. Athota. 2002. Immunomodulatory Activity of *Achyranthes aspera* on the Elicitation of Antigen-Specific Murine Antibody Response. *J. Pharmaceutical Biology*. May. 40(3). p : 175-178.
- Vasudeva, R. Y., and R. Chakrabarti. 2004. Stimulation of Immunity in Indian Major Carp *Catla catla* with Herbal Feed Ingredients. *Fish and Shellfish Immunology*. *J. Clinical Biochemistry*. 18(4). p : 327-334.
- Vasudeva, R. Y., B. K. Das, P. Jyotirmayee and R. Chakrabarti. 2006. Effect of *Achyranthes aspera* on the the Immunity and Survival of *Labeo rohita* Infected *Aeromonas hydrophila*. *J. Pharmaceutical Biology*. Marc. 20(3). p : 263-273.
- Wei, S., H. Liang, Y. Zhao and R. Zhang. 1998. Separation and Identification of The Compounds From *Achyranthes Bientata*. *Zhongguo Zhonh Yao Za Zhi*. May.
- Zakaria, S., W. Sastrowardoyo, dan D. K. Meles. 2009. Efek Antimikogenik Alkaloid *Achyranthes aspera* linn Terhadap Induksi Apoptosis pada Sel yang Terinfeksi *Mycobacterium Tuberculosis*. Laporan Penelitian. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Analisis Varian dan Uji Beda Nyata Jujur Terhadap Jumlah dan Jenis Leukosit Mencit Yang Diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*.

1.1 Analisis Varian (ANOVA) Jumlah Leukosit Total Mencit yang Diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*.

Ulangan (n)	Perlakuan (t)			
	P0	P1	P2	P3
1	11.600	16.500	14.450	12.650
2	12.450	15.550	12.700	13.100
3	11.650	16.100	13.650	12.600
4	12.500	16.350	13.250	12.700
5	12.100	15.900	14.350	13.250
Jumlah	60.300	80.400	68.400	64.300
Rata-rata	12.060	16.080	13.680	12.860

1.2. Tabel Hasil Penghitungan Analisis Varian Jumlah Total Leukosit Mencit yang Diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*.

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan (P)	3	45.282.000	15.093.666,67	63,1369**	3,01	4,77
Galat (G)	16	3.825.000	239.062,50			
Total (T)	19	49.107.000				

1.3 Uji Beda Jujur (BNJ) 1% Jumlah Total Leukosit Mencit yang Diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*.

Perlakuan	Rata-rata (X)	Beda			BNJ (1%)
		(X - P0)	(X - P3)	(X - P2)	
P1	16,080 ^a	4.020*	3.220*	2.400*	1.134,849
P2	13,680 ^b	1.620*	820		
P3	12,860 ^{bc}	800			
P0	12,060 ^c				

1.4 Notasi Uji BNJ (1%) Jumlah Total Leukosit Mencit yang Diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*.

P1	P2	P3	P0
_____a	_____B		_____c
		_____c	_____c

1.5 Analisis Varian (ANOVA) Jumlah Eosinofil Mencit yang Diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*

Ulangan (n)	Perlakuan (t)			
	P0	P1	P2	P3
1	580	660	578	633
2	374	467	381	786
3	699	348	410	378
4	250	491	530	508
5	363	318	287	268
Jumlah	2.266	2.284	2.186	2.537
Rata	453,2	456,8	437,2	514,6

1.6 Tabel Hasil Penghitungan Analisis Varian Jumlah Eosinofil Mencit yang Diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*.

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan (P)	3	17.193,35	5.731,1167	0,2143	3,01	4,77
Galat (G)	16	427.947,60	26.746,7250			
Total (T)	19	445.140,95				

1.7 Uji Beda Jujur (BNJ) 5% Jumlah Eosinofil Mencit yang Diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*.

Perlakuan	Rata-rata (X)	Beda			BNJ (5%)
		(X - P0)	(X - P3)	(X - P2)	
P3	514,6 ^a	77,4	61,4	57,8	132,479
P1	456,8 ^a	19,6	3,60		
P0	453,2 ^a	16,0			
\bar{X}	451,2 ^a				

1.8 Notasi Uji BNJ 5% Jumlah Eosinofil Mencit yang Diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*.

P1	P2	P3	P0
a			
a			a
a		a	
a			

1.9 Analisis Varian (ANOVA) Jumlah Neutrofil Mencit yang Diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*.

Ulangan (n)	Perlakuan (t)			
	P0	P1	P2	P3
1	2.668	4.290	3.613	2.910
2	2.864	3.888	2.921	3.144
3	2.563	4.698	3.549	3.150
4	3.000	3.924	3.444	3.048
5	2.788	4.186	3.180	2.915
Jumlah	13.878	20.934	16.707	15.167
Rata-rata	2.775,6	4.186,8	3.341,4	3.033,4

1.10 Tabel Hasil Penghitungan Analisis Varian Jumlah Neutrofil Mencit yang Diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*.

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan (P)	3	5.467.465,9	1.822.488,633	26,1858**	3,01	4,77
Galat (G)	16	1.113.574,3	69.598,394			
Total (T)	19	6.581.040,2				

1.11 Uji Beda Jujur (BNJ) 5% Jumlah Total Leukosit Mencit yang Diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*.

Perlakuan	Rata-rata (X)	Beda			BNJ (5%)
		(X - P0)	(X - P3)	(X - P2)	
P1	4.186,8 a	1.411,2*	1.153,4*	845,4*	477,8285
P2	3.341,4 b	565,8*	308		
P3	3.033,4 bc	257,8			
P0	2.775,6 c				

1.12 Notasi Uji BNI (5%) Jumlah Neutrofil Mencit yang Diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*.

<u>P1</u>	<u>P2</u>	<u>P3</u>	<u>P0</u>
a			
b			
c			
c			

1.13 Analisis Varian (ANAVA) Jumlah Monosit Mencit yang Diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*.

Ulangan (n)	Perlakuan (t)			
	P0	P1	P2	P3
1	464	1.320	1.156	886
2	623	1.244	1.016	786
3	583	1.566	956	882
4	625	1.472	928	762
5	484	1.272	861	663
Jumlah	2.779	6.874	4.918	3.979
Rata	555,8	1.374,8	983,4	795,8

1.14 Tabel hasil penghitungan analisis varian jumlah monosit mencit yang diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan (P)	3	1.793.539,35	597.846,45	51,8717**	3,01	4,77
Galat (G)	16	184.407,60	11.525,48			
Total (T)	19	1.977.946,95				

1.15 Uji Beda Jujur (BNJ) 1% Jumlah Monosit Mencit yang Diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*.

Perlakuan	Rata-rata (X)	Beda			BNJ (1%)
		(X - P0)	(X - P3)	(X - P2)	
P1	1.374,8 ^a	819,0*	579,0*	391,4*	249,1792
P2	983,4 ^b	427,6*	187,6*		
P3	795,8 ^{bc}	240,0*			
P0	555,8 ^c				

1.16 Notasi Uji BNJ 1% Jumlah Monosit Mencit yang Diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*.

P1	P2	P3	P0
a	B		c
		c	c

Lampiran 2. Penghitungan Rata-rata Kenaikan Jumlah Leukosit Total Mencit yang Diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*.

Rata-rata jumlah leukosit total pada P0 = 12.060 / μ l dibandingkan dengan rata-rata jumlah leukosit total pada semua perlakuan, yaitu :

1. Rata-rata jumlah leukosit total pada P1 = 16.080 / μ l, maka rata-rata peningkatan leukosit pada P1 adalah $16.080 - 12.060 = 4.020$ / μ l.
2. Rata-rata jumlah leukosit total pada P2 = 13.680 / μ l, maka rata-rata peningkatan leukosit pada P2 adalah $13.680 - 12.060 = 1.620$ / μ l.
3. Rata-rata jumlah leukosit total pada P3 = 12.860 / μ l, maka rata-rata peningkatan leukosit pada P1 adalah $12.860 - 12.060 = 800$ / μ l.

Lampiran 3. Alat dan Bahan

*Rotary evaporator*

Ekstrak Daun Jarong



Pengambilan darah intrakardial



1. Pipet leukosit; 2. Cover glass;
 3. Larutan Turk; 4. Counter;
 5. Improved neubauer

**Tim Peneliti**