



LAPORAN PENELITIAN
ILMU PENGETAHUAN DASAR
TAHUN ANGGARAN 1999/2000

PERANAN DAUN JAMBU BIJI SEBAGAI IMUNOMODULATOR PADA MUKOSA USUS MENCIT PENDERITA TYPHOID

Peneliti :

Drh. YENI DHAMAYANTI
Drh. HANI PLUMERIASTUTI, M.Kes.
Dra. TANIA ARDIANA H., M.S.

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh : Proyek Pengkajian dan Penelitian Ilmu Pengetahuan Dasar
DIP Nomor : 015 /XXIII/4/--/1999 Tanggal 1 April 1999
Kontrak Nomor : 019/P2IPD/DPPM/VI/1999
Ditbinlitabmas, Ditjen Dikti, Depdikbud
Nomor Urut : 09

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Januari, 2000



DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
 UNIVERSITAS AIRLANGGA
 LEMBAGA PENELITIAN

- 1. Puslit Pembangunan Regional
- 2. Puslit Obat Tradisional
- 3. Puslit Pengembangan Hukum
- 4. Puslit Lingkungan Hidup (5995718)
- 5. Puslit Pengembangan Gizi (5995720)
- 6. Puslit/Studi Wanita (5995722)
- 7. Puslit Olahraga
- 8. Puslit Bioenergi
- 9. Puslit Kependudukan dan Pembangunan (5995719)
- 10. Puslit / Kesehatan Reproduksi

Kampus C. Jl. Mulyorejo Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax. (031) 5995246, Surabaya 60115

LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN
 LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN DASAR

1. a. Judul Penelitian : PERANAN DAUN JAMBU BIJI SEBAGAI IMUNOMODILATOR PADA MUKOSA USUS MENCITMPENDERITA THYPOID

b. Kategori Penelitian : I/II/III *)

2. Kepala Proyek Penelitian

- a. Nama Lengkap dan Gelar : **Yeni Dhamayanti, Drh.**
- b. Jenis Kelamin : **Perempuan**
- c. Pangkat / Gol. dan NIP. : **Penaja Muda Tk. I/IIIb/132049019**
- d. Jabatan Fungsional : **Asisten Ahli**
- e. Fakultas / Jurusan : **Kedokteran Hewan**
- f. Univ./Ins./Akademi/ST *) : **Universitas Airlangga**
- g. Bidang Ilmu Yang Diteliti : **Imunologi**

3. Jumlah Tim Peneliti : 2 Orang

4. Lokasi Penelitian : **FKH UNAIR**

5. Bila Penelitian ini merupakan peningkatan kerjasama kelembagaan sebutkan :

- a. Nama Instansi :
- b. Alamat :

6. Jangka Waktu Penelitian : 6 bulan

7. Biaya yang diperlukan : Rp 13.000.000,00 (tiga belas juta pp)

Surabaya, 5 - 5 - 2000

Ketua Peneliti,

YENI DHAMAYANTI, Drh.
 NIP. 132049019

Mengetahui :
 Dekan Fak./Kapuslit :

ISMUDIONO, M.S., Drh.
 NIP. 30687297

Menyetujui :
 Ketua Lembaga Penelitian Unair,

Prof. Dr. Noer Cholies Zaini
 NIP. 430 355 372



RINGKASAN
PERANAN DAUN JAMBU BIJI SEBAGAI IMUNOMODULATOR
PADA MUKOSA USUS MENCIT PENDERITA TYPHOID

Oleh

Yeni Dhamayanti, Tania Ardiani S. dan
Hani Plumeriastuti
1999, 26 halaman

Penyakit typhoid mempunyai angka kesakitan yang tinggi di Surabaya. Biaya pengobatan dirasa berat bagi penderita typhoid mengingat harga obat yang melambung dan program vaksinasi kurang efektif. Untuk itu perlu dicari obat alternatif yang murah dan mudah diperoleh.

Penelitian dilakukan untuk mengungkap peranan daun jambu biji terhadap pembentukan imunomodulator pada mukosa usus mencit penderita typhoid dengan jumlah sel makrofag dan IgA yang terbentuk sebagai indikator.

Empat puluh ekor mencit (*Mus musculus Balb/c*) jantan diacak dan ditempatkan ke dalam empat kandang. Tiga hari pasca adaptasi, seluruh mencit diinfeksi *S.typhi* dengan dosis LD₅₀ per oral selama lima hari berturut-turut. Pada hari ke 5, dua ekor mencit dibunuh dan diseksi untuk diambil organ ususnya dari setiap kandang dan merupakan kelompok placebo (PLC). Sisanya diberi rebusan 70 % daun jambu biji dengan dosis 0,1 cc per oral. 24 jam kemudian dari setiap kandang diambil dua ekor mencit untuk mendapatkan organ usus dan merupakan kelompok P24. Perlakuan yang sama diberikan pada

sisia mencit dan akan diperoleh kelompok P48, P72 dan P96.

Pada akhir penelitian, organ usus yang terkumpul digunakan untuk membuat sediaan imunohistokimia. Sebagai variabel tergantung adalah jumlah sel makrofag dan IgA yang dijumpai pada mukosa usus mencit.

Data yang dihimpun dianalisis dengan Anova satu arah menggunakan program SPS. Hipotesis dibuktikan dengan menggunakan uji F, selanjutnya perbedaan antar perlakuan ditentukan dengan menggunakan uji BNT (beda nyata terkecil) dengan selang kepercayaan 5 persen.

Hasil penelitian menunjukkan kecenderungan jumlah sel makrofag yang meningkat 24 jam setelah diterapi dengan rebusan daun jambu biji ($6,13 \pm 0,84$). Jumlah sel makrofag kemudian menurun seiring dengan terjadinya proses kesembuhan berturut-turut $5,13 \pm 0,84$ (P48), $3,75 \pm 0,89$ (P72) dan $3,13 \pm 0,84$ (P96). Sebaliknya terjadi peningkatan jumlah IgA berturut-turut $1,63 \pm 0,52$ (P24), $1,88 \pm 0,83$ (P48), $2,50 \pm 0,53$ (P72) dan $2,63 \pm 0,52$ (P96).

Kesimpulan dari penelitian ini adalah rebusan daun jambu biji dapat berperan sebagai imunomodulator pada mukosa usus mencit penderita typhoid. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengungkap mekanisme respon imun seluler yang terbentuk pasca terapi dengan rebusan daun jambu biji.

(L.P. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga; 19/P2IPD/DPPM/VI/1999, Tanggal 1 April 1999).

SUMMARY

**THE IMMUNOMODULATORS EFFECT OF PSIDIUM GUAJAVA LEAVES
ON THE MICE MUCOSAL INTESTINAL
WITH *S. typhi* INFECTIONS**

**Yeni Dhamayanti, Tania Ardiani S. dan
Hani Plumeriastuti
1999, 26 pages**

In Surabaya, Typhoid fever had a highly morbidity. The Medicine was expensive and the vaccination was not effective. Psidium guajava leaves have been used traditionally as typhoid fever remedy.

This study purpose of the immunomodulators effect of Psidium guajava leaves on the mice mucosal intestinal with *S. typhi* infections. The indicator for the immunomodulators effect of Psidium guajava leaves was used a number of the macrophage and IgA.

Forty of male mice were housing randomly in four cages. All of mice were infected by LD₅₀ dose of *S. typhi* for 5 days. Then, two mice from each cage were killed and the intestinum were collected. Remainder get therapy with the boilling of Psidium guajava leaves. 24 hours later two mice each were killed from each cage (P24). P48 were killed after therapy by boilling Psidium guajava for 2 days, P72 for 3 days and P96 for 4 days. At the last experimental, a number of the macrophage and IgA cells were measured.

The statistical analysis of data was by one-way Anova using SPSS program. Significantly among

treatment means were determined using least significant difference test ($p < 0,05$).

The macrophage counts after administration of *Psidium guajava* leaves were raised on P24 ($p > 0,05$) and then decreased on P48, P72 and P96 ($p < 0,05$) side by side with recovery. On the other hand, a number of IgA were raised ($p < 0,05$).

Therapy with boiling *Psidium guajava* had influence as immunomodulator for *Salmonella* infected mice.

(resc. Inst. Faculty of Veterinary Medicine Airlangga University; 17/P2IPD/DPPM/VI/1999, Date April 1, 1999).

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur Alhamdulillah ke hadirat Allah SWT. akhirnya penulisan laporan penelitian berjudul "PERANAN DAUN JAMBU BIJI SEBAGAI IMUNOMODULATOR PADA MUKOSA USUS MENCIT PENDERITA TYPHOID" dapat diselesaikan. Pelaksanaan penelitian ini dibiayai oleh sumber Dana DP3M - ILMU PENGETAHUAN DASAR tahun anggaran 1999/2000.

Dengan selesainya penyusunan laporan ini, penulis menyampaikan terima kasih yang tak terhingga kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga yang telah menyetujui penelitian ini untuk dapat terlaksana.
2. Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga yang telah memberikan dana sehingga penelitian ini dapat terlaksana.
3. Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Unair yang memberi kemudahan dalam penggunaan fasilitas-fasilitas yang diperlukan demi terlaksananya penelitian ini.
4. Semua pihak yang membantu penelitian ini.

Untuk kesempurnaan penulisan buku laporan ini, penulis mengharapkan kritik atau saran dari para pembaca dan semoga dapat bermanfaat bagi dunia kedokteran hewan dan peternakan.

Surabaya, 28 Pebruari 2000

P e n e l i t i

DAFTAR ISI

RINGKASAN	ii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
BAB I PENDAHULUAN	1
Latar Belakang Masalah	1
Rumusan Masalah	3
Landasan Pemikiran	4
Hipotesis Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
Reaksi Immunologik pada Infeksi Bakteri	5
<i>S. typhi</i>	6
Tanaman Jambu Biji	8
BAB III TUJUAN PENELITIAN	10
Tujuan Penelitian	10
Manfaat Penelitian	10
BAB IV METODE PENELITIAN	11
Tempat dan Waktu Penelitian	11
Bahan Penelitian	11
Jenis dan Rancangan Penelitian	12
Identifikasi Variabel dan Definisi	
Operasional	12
Prosedur Penelitian	13
Analisis Data	14
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	16
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	20
Kesimpulan	20
Saran	20
DAFTAR PUSTAKA	21
LAMPIRAN	23

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Jumlah Makrofag dan IgA pada Mukosa Usus Mencit Pasca Infeksi dan Pemberian Rebusan Daun Jambu Biji	17

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Personalia Tenaga Peneliti	24
Lampiran 2. Analisis Statistik	25

BAB I

PENDAHULUAN

Latar Belakang Masalah

Penyakit typhoid mempunyai angka kesakitan yang tinggi di Surabaya, hal ini terlihat dari banyaknya kasus typhoid di Rumah Sakit umum maupun swasta. Seiring harga obat yang melambung, biaya pengobatan bagi penderita typhoid dirasa berat. Disisi lain, rogram vaksinasi bagi penderita typhoid dirasa kurang efektif, sehingga banyak diantara penderita rawat inap adalah penderita kambuhan yang telah divaksinasi.

S. typhi, bakteri gram negatif penyebab penyakit typhoid. Penetrasi *S. typhi* pada mukosa usus merangsang peningkatan kontraksi otot polos sehingga terjadi hiperperistaltik yang mengakibatkan diare. Bakteri ini mempunyai kemampuan untuk melalui area kubah yang mengandung sel makrofag dan beradaptasi dengan fusi fagolisosom dalam makrofag (Ishbashi and Aray, 1995; Pascopella et al., 1995). Disinyalir bakteri ini memproduksi molekul-molekul yang menghambat proses fusi lisosom dengan fagosom atau

mengganggu fungsi makrofag. Disamping itu, infeksi bakteri dapat menyebabkan penurunan produksi sitokin pro-inflamtorik yang diperlukan untuk melawan bakteri dan menimbulkan imunodefisiensi (Boedina, 1996). Kato dan Owen (1994) mensinyalir bahwa penetrasi bakteri pada mukosa usus akan menstimulus sel goblet untuk meningkatkan sekresi mukus. Komposisi mukus ini diantaranya adalah imunoglobulin, terutama IgA.

Daun dan buah jambu biji (*Psidium guajava L.*) terbukti berkhasiat sebagai tanaman obat dan mudah diperoleh. Daun jambu biji oleh masyarakat digunakan sebagai obat alternatif anti diare mengingat harga obat semakin tidak terjangkau. Tjitrosoepomo (1994) menyatakan kandungan tanin dalam daun jambu biji sekitar 9 % dan digunakan sebagai anti diare oleh masyarakat terutama bagi balita.

Dari penelitian terdahulu diketahui bahwa daun jambu biji dapat menghambat perkembangan enterobakterial. Ekstrak etanol daun jambu biji telah diuji cobakan secara *in vitro* dan mempunyai aktivitas sebagai antibakterial terhadap *S. enteridis*, *E. coli* dan *S. flexneri* (Caceres dkk., 1993). Sebagai

anti diare, ekstrak daun jambu biji menghambat kontraksi otot polos intestinum mencit dan mengatur transportasi air antar sel (Morales dkk., 1994; Almeida dkk., 1995).

Fakta yang menyatakan bahwa ekstrak daun jambu biji mempunyai aktivitas sebagai antibakterial, anti spasmolitik dan dapat mengatur transport air pada usus mencit belum dikaitkan dengan perubahan-perubahan respon imun yang ditimbulkan. Berdasarkan latar belakang di atas, maka dilakukan suatu penelitian dengan memberikan rebusan daun jambu biji kepada mencit yang telah diinfeksi dengan *S. typhi*.

Rumusan Masalah

Mengacu pada latar belakang yang telah dipaparkan di atas, maka permasalahan yang ingin dikemukakan pada penelitian ini belum terungkapnya peranan dan mekanisme daun jambu biji sebagai imunomodulator pada mukosa usus mencit penderita typhoid. Imunomodulator adalah bahan biologis yang dapat memicu terbentuknya respon imun dalam tubuh. Pada penelitian ini digunakan mencit mengingat fungsi fisiologis dan metabolisme dalam tubuh mencit identik

dengan manusia, sehingga pada akhirnya nanti dapat bermanfaat bagi penderita typhoid, mengingat daun jambu biji murah dan mudah didapatkan.

Landasan Pemikiran

Daun jambu biji merupakan alternatif pengobatan bagi penderita typhoid. Sebesar 33,73 % pertumbuhan *S. typhi* secara invitro dihambat dengan pemberian ekstrak daun jambu biji (Caceres dkk., 1993). Kandungan zat aktif daun jambu biji dapat mempengaruhi kontraksi otot polos sehingga dapat bertindak sebagai anti spasmolitik (Loyoza dkk., 1994 dan Anonimus, 1998). Diasumsikan pemberian rebusan jambu biji dapat memicu sistem imun mukosal pada usus yang diindikasikan dengan terbentuknya sel makrofag dan antibodi IgA.

Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah pemberian rebusan daun jambu biji dapat berperan sebagai imunomodulator pada mukosa usus mencit penderita typhoid. Indikasi rebusan daun jambu biji mempunyai efek imunomodulator adalah terbentuknya makrofag dan imunoglobulin A (IgA).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Reaksi Imunologik pada Infeksi Bakteri

Mekanisme pertahanan tubuh terhadap infeksi bakteri dipengaruhi oleh struktur dan patogenitas bakteri. Bakteri yang mempunyai lapisan lipid pada bagian luarnya seperti yang dimiliki oleh bakteri gram negatif, lebih peka terhadap mekanisme lisis oleh komplemen dan sel-sel sitotoksik tertentu. Bakteri gram negatif umumnya dibunuh langsung oleh sel *Natural Killing* dengan cara melisiskan membran sel bakteri, sedangkan sel t-sitotoksik akan merusak membran sel yang terinfeksi bakteri intraseluler sehingga bakteri keluar dan dapat dihancurkan (Boedina, 1996).

Sistem imun mukosal merupakan bagian dari sistem imun sistemik adalah *barrier* pertama yang harus dilewati mikroorganisme. Sistem imun mukosal menerima imunogen melalui sel epitel spesifik, seperti sel M (*microfold*) atau FAE (*follicle associated epithelial*). Secara morfologi sistem imun mukosal terdiri jaringan limfoid, yaitu sel M, area dome

dan folikel. Sel M merupakan epitel pipih yang tipis dengan sedikit bulu getar, mempunyai lapisan glycoocalix tipis, tidak memiliki kemampuan sebagai proteolitik dan tidak mengekspresikan MHC (*major histocompatibility complex*) kelas II. Area kubah berada di bawah epitel mukosa usus yang banyak mengandung makrofag, sel dendritik dan limfosit B. Daerah ini dapat mengekspresikan MHC kelas II karena kaya akan APC (*antigen presenting cell*). Di bawah area dome dijumpai folikel yang didominasi oleh limfosit B. Limfosit B pada lapisan mukosal menampilkan sebagian besar (40%) IgA (Putra, 1997).

S. typhi

Salmonellosis, penyakit yang disebabkan oleh *Salmonella sp.* dikelompokkan kedalam penyakit zoonosis, yaitu penyakit yang dapat ditularkan dari hewan ke manusia. Salmonela merupakan komensal yang biasa dijumpai pada semua hewan dan diekskresikan melalui tinja yang dapat menyebabkan keracunan makanan. Gambaran klinis dari penyakit typhoid tergantung dari keganasan dan dosis infeksi. Diare seperti air selama kurang lebih 10 hari yang dapat menimbulkan dehidrasi, rasa sakit di daerah perut

dan demam ringan merupakan gejala khas penderita typhoid (Bell dkk., 1995).

Dari 10 spesies patogen penyebab salmonellosis, *S. typhi* dapat menyebabkan *typhus abdominalis*. Klasifikasi *Salmonella* lebih lanjut didasarkan atas sifat-sifat serologik dan imunologik (Dwidjoseputro, 1998).

Salmonella typhi adalah bakteri berbentuk batang (basil), bergerak dengan flagel yang bersifat peritrik. Bersifat gram negatif dan dapat menguraikan glukosa dengan menghasilkan gas. *S. typhi* mempunyai kapsul yang merupakan faktor virulensi penyebab timbulnya penyakit, bersifat antigenik sehingga bila masuk ke dalam sel hospes dapat memicu terbentuknya antibodi. *S. Typhi* termasuk bakteri patogen intraseluler yang mampu menyusup, tumbuh dan berkembang dalam sel makrofag, sehingga antibodi maupun komplemen dalam serum tidak mampu mengenalinya. Reaksi imunitas yang memungkinkan untuk membunuh bakteri ini adalah mengaktifkan makrofag dengan mensinsitisasi limfosit-T melalui sekresi limfokine, sehingga reaksi "pencernaan" intraseluler dapat terjadi (Ryan, 1997).

Tanaman Jambu Biji

Tanaman jambu biji termasuk kingdom Plantae, divisi Spermatophyta, subdivisi Angiospermae, kelas Dicotyledone, ordo Myrtales, famili Myrtaceae dan spesiesnya adalah *Psidium guajava* L. (Rukmana, 1996).

Dari hasil analisis, tepung buah jambu mengandung vitamin C dan pektin yang tinggi. Sedangkan kandungan gizi pada setiap 100 gram buahnya mengandung 83,3 gram air, 1 gram protein, 0,4 gram lemak, 6,8 gram pati, 3,8 gram serat kasar, 150 - 210 KJ energi, 10 - 2000 mg vitamin C, 25.00 SI vitamin A, 0,02 mg vitamin B, 14 mg Ca., 28 mg P, dan 1,1 mg Fe (Ashari, 1995). Jambu biji juga mengandung zat aktif yang dapat berperan sebagai antibakteri, absorbent (pengelat atau penetral racun), astren-gent (pelapis dinding mukosa usus terhadap rangsan-gan isi usus) dan antispasmodik (menghambat kontraksi otot polos usus) berupa minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, tanin dan pektin (Anonimus, 1998). Dikatakan pula bahwa kandungan tanin pada daun jambu biji giling adalah 17,4 %. Makin halus serbuk daunnya, makin tinggi kandungan taninnya.

Hasil penelitian secara *in vitro*, ekstrak daun jambu biji mempunyai fungsi sebagai antiamoeba, antiparasit, antimikrobia dan antidiabetik (Obatomi et al., 1994; Rabe and Staden, 1997; Valsaraj et al., 1997; Tona et al., 1998). Peneliti lain menyatakan bahwa ekstrak daun jambu biji mengandung guajaverin, isoquercetin, hyperin dan quercitrin yang mempunyai aktivitas biologis sebagai antispasmodik (Loyoza dkk., 1994). Selain itu dikatakan bahwa quercetin menghambat pengeluaran asetilcholin sehingga memungkinkan daun jambu biji berkhasiat sebagai obat alternatif penyakit diare akut (Lutterodt, 1989). Caceres et al. (1993), menyatakan bahwa diantara 16 tanaman obat tradisional, daun jambu biji mempunyai aktivitas yang terbesar dalam menghambat enam bakteri gastrointestinal yang patogen pada mencit, diantaranya adalah *S. typhi*.

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

Tujuan Penelitian

Penelitian dilaksanakan untuk mengungkap peranan daun jambu biji terhadap pembentukan imunomodulator pada mukosa usus kecil penderita typhoid. Indikator adanya efek biologis yang bertindak sebagai imunomodulator terbentuknya jumlah makrofag dan IgA.

Manfaat Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan sumbangan pikiran kepada masyarakat secara umum, maupun masyarakat ilmiah untuk memperoleh pengobatan alternatif penyakit salmonellosis. Penggunaan rebusan daun jambu biji sebagai obat alternatif bagi penderita typhoid dapat mengurangi pengeluaran biaya pembelian obat yang terus melambung.

Diharapkan pula, hasil penelitian dapat menjadi dasar standarisasi daun jambu biji sebagai obat tradisional khas Indonesia, khususnya bagi penderita typhoid.

BAB IV METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga dan Laboratorium Gramik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Masa penelitian hingga selesainya penulisan laporan berlangsung sejak bulan Juli 1999 hingga Februari 2000.

Bahan Penelitian

Sejumlah 40 ekor mencit (*Mus musculus* Balb/c) digunakan sebagai hewan coba dan diinfeksi dengan *S.typhi* dengan dosis LD₅₀ per oral. Umur dan jenis kelamin mencit adalah sama. Hewan coba dibagi menjadi empat perlakuan dipelihara dalam kandang yang berupa bak plastik dan diberi tutup kawat kasa. Pakan yang diberikan selama perlakuan adalah pakan olahan pabrik.

Rebusan daun jambu biji diperoleh dengan cara mendidihkan 30 gram daun jambu biji muda dengan air sebanyak 500 cc. Pendidihan dilakukan sampai menda-

patkan air rebusan sebanyak 250 cc (Rukmana,1996). Pemberian rebusan daun jambu biji sebanyak 0,1 cc per oral sekali sehari.

Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini termasuk eksperimental murni dengan menggunakan rancangan acak lengkap. Perlakuan dalam penelitian ini adalah kelompok mencit yang telah diinfeksi dengan isolat *S. typhi* dan tidak diterapi, kelompok yang telah diinfeksi dan diterapi dengan rebusan daun jambu biji selama 24, 48, 72, dan 96 jam.

Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional

Rebusan daun jambu biji dalam penelitian ini merupakan variabel bebas. Jenis kelamin dan umur mencit, penempatan kandang dan sanitasi kandang merupakan variabel kendali. Jumlah makrofag dan imunoglobulin A (IgA) adalah variabel bebas.

Pada sediaan histologis, sel makrofag mempunyai bentuk yang tidak beraturan, sitoplasma tampak transparan dengan granula-granula berwarna merah karena mengandung glikogen, dan inti berwarna biru

dengan pewarnaan d-pas. Sel plasma penghasil IgA berinti biru dengan bentuk menyerupai roda pedati, sitoplasma berwarna coklat dan mempunyai bentuk asentris (Proses sesuai petunjuk penggunaan Kit).

Prosedur Penelitian

Pembuatan isolat dilakukan pada awal penelitian dengan cara memupuk darah penderita typhoid hingga mendapatkan biakan yang mencirikan *S. typhi*. Selanjutnya dilakukan uji coba pendahuluan guna mendapatkan dosis LD₅₀, yaitu $3,1 \times 10^6$ /ml.

Selanjutnya dilakukan penelitian guna menentukan konsentrasi rebusan daun jambu biji yang akan diberikan. Konsentrasi rebusan daun jambu biji diperoleh dengan cara membuat pengenceran dari 100 % hingga 0 % menggunakan larutan NaCl Physiologis dan diinkubasikan pada biakan kuman selama 24 jam. Dari hasil inkubasi tampak bahwa konsentrasi 70 % mampu menghambat pertumbuhan bakteri terbukti dengan tidak dijumpainya kolono bakteri pada sediaan agar.

Mencit dibagi kedalam empat kandang secara acak. Tiga hari setelah masa adaptasi, seluruh mencit diinokulasi dengan isolat *S. typhi* dengan

dosis LD₅₀. Perubahan yang terjadi dicatat dan setelah hari ke-5 pasca inokulasi 2 ekor mencit pada setiap kandang dieutanasi dan dilakukan pembedahan (kelompok kontrol - *placebo*). Sisa mencit diberi rebusan daun jambu biji peroral dengan dosis 0,1 cc dengan konsentrasi 70 %. 24 jam kemudian dilakukan eutanasi dan pembedahan terhadap 2 ekor tikus pada setiap kandang. Hal yang sama dilakukan hingga tidak ada mencit yang tersisa. Pengambilan organ usus dilakukan pada setiap eutanasi dan untuk selanjutnya dibuat sediaan imunohistokimia. Usus yang digunakan sebagai bahan sediaan adalah pada bagian ileum. Penghitungan dilakukan terhadap jumlah makrofag dan IgA yang terbentuk.

Analisis Data

Data yang terkumpul diuji lebih lanjut dengan menggunakan statistik. Untuk membuktikan kebenaran hipotesis yang diajukan pada penelitian ini digunakan analisis sidik ragam (Anava dua arah) dengan tingkat signifikansi 5 % ($\alpha = 5\%$).

Apabila dari analisis statistik diperoleh hasil F hitung $>$ F tabel, maka dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan uji BNT (beda nyata terkecil) untuk membedakan setiap perlakuan. Deskriptif analitik dan uji statistik dilakukan dengan memanfaatkan program SPS (Hadi dkk., 1996).

BAB V**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Gambaran klinis mencit pasca inokulasi dengan 3.1×10^6 /ml *S. typhi* sebanyak 0,1 ml per oral menunjukkan penurunan berat badan yang drastis, lesu dan tidak mau makan, meskipun tidak dijumpai tanda-tanda diare. Hari ke 5 pasca infeksi dilakukan penanaman hasil *scrapping* mukosa usus pada media SS agar dan setelah diinkubasi tumbuh koloni *S. typhi*.

Sediaan imunohistokimia menunjukkan adanya perubahan jumlah sel makrofag dan sel plasma penghasil IgA seperti tersaji pada tabel 1. Jumlah makrofag pada mukosa usus mencit yang terinfeksi *S. typhi* menunjukkan angka yang tinggi ($4,88 \pm 0,84$), sedangkan jumlah IgA rendah ($1,13 \pm 0,64$) dan berbeda nyata ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok yang lain. Hal ini dimungkinkan karena penetrasi *S. typhi* pada mukosa usus telah menimbulkan respon imun pada tubuh mencit untuk mempertahankan homeostasisnya.

Tabel 1. Jumlah Makrofag dan IgA Pada Mukosa Usus Mencit Pasca Infeksi dan Pemberian Rebusan Daun Jambu Biji

Perlakuan :	Σ sel makrofag	:	Σ IgA
PLC.	4,88 ± 0,84 ^a	:	1,13 ± 0,64 ^a
P24	6,13 ± 0,84 ^a	:	1,63 ± 0,52 ^{ab}
P48	5,13 ± 0,84 ^{bc}	:	1,88 ± 0,83 ^{bc}
P72	3,75 ± 0,89 ^c	:	2,50 ± 0,53 ^c
P96	3,13 ± 0,84 ^c	:	2,63 ± 0,52 ^c

Ket : PLC = infeksi tanpa diterapi

P24 = infeksi + terapi selama 24 jam

P48 = infeksi + terapi selama 48 jam

P72 = infeksi + terapi selama 72 jam

P96 = infeksi + terapi selama 96 jam

± adalah simpangan baku

a, b, c dan d adalah superskrrip yang menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p < 0,05$) antar kelompok pada kolom yang sama

Pada awal infeksi (4 - 96 jam), bakteri patogen dikenali oleh APC (*antigen presenting cells*) yang untuk selanjutnya disajikan kepada sel limfoid. Pengenalan antigen dilakukan oleh sel-sel limfoid yang tersensitiasi melalui adanya sitokin yang diproduksi oleh sel makrofag. Terbentuknya sitokin mengakibatkan bertambahnya jumlah sel makrofag dan bersifat lebih aktif. Bila infeksi berkelanjutan, maka peptida hasil degradasi protein bakteri dibawa ke kelenjar limpa setempat oleh APC dan mempresentasikannya kepada ikatan MHC dari sel limfosit-T. Sering kali diawali proses pembentukan kompleks antigen-MHC terjadi hambatan pada pengeluaran sel

limfosit dari kelenjar limpha. Selain itu, *S. typhi* termasuk bakteri yang bersifat intra-seluler, oleh karena itu keberadaan imunoglobulin A pada mukosa usus sangat tidak efektif (Ryan, 1997). Keadaan inilah yang memungkinkan terjadinya jumlah makrofag yang tinggi dan IgA yang rendah pada kelompok placebo mengingat infeksi diberikan selama 5 hari berturut-turut.

Dari hasil pemberian rebusan daun jambu biji, tampak adanya perubahan jumlah sel makrofag maupun IgA. Pada kelompok P24 terjadi peningkatan jumlah sel makrofag pada mukosa usus mencit yang signifikan dibandingkan kelompok P48, P72 dan P96 ($p < 0,05$). Jumlah sel makrofag P48, P72 dan P96 secara statistik tidak berbeda ($p > 0,05$). Sedangkan pada jumlah IgA nampak adanya peningkatan yang signifikan ($p < 0,05$) untuk setiap kelompok perlakuan. Diasumsikan pemberian rebusan daun jambu biji dapat meningkatkan aktivasi sel T untuk memproduksi sitokin sehingga terjadi peningkatan jumlah sel makrofag.

Bila ditinjau dari jumlah koloni yang terbentuk pada biakan agar untuk setiap kelompok, tampak

terjadi penurunan drastis pada P48, sedangkan kelompok P72 dan P96 sudah tidak ditemukan koloni *S. typhi*. Diasumsikan sel bakteri mengalami lisis akibat dari meningkatnya jumlah sel makrofag pada kelompok P24. Schwartz dan Middleton (1984) mengemukakan bahwa quercetin mempengaruhi proliferasi sel T sitotoksik. Quercetin termasuk flavonoid yang dimiliki oleh daun jambu biji. Dengan demikian sangatlah dimungkinkan akan terjadi aktivitas sitolitik.

Peningkatan jumlah IgA pada penelitian ini diasumsikan untuk lebih mengekspresikan keberadaan *S. typhi* pada mukosa usus. Norman dkk. (1994) menyatakan, salah satu mekanisme pertahanan terhadap kuman intraseluler adalah meningkatkan jumlah antibodi untuk menyelubungi bakteri sehingga mudah dikenali oleh sel sitotoksik.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil penelitian tampak adanya perubahan jumlah sel makrofag dan IgA, serta dapat mempercepat proses penyembuhan mencit yang diinfeksi dengan *S. typhi*. Dengan demikian rebusan daun jambu biji dapat berperan sebagai imunomodulator terhadap mencit yang terinfeksi *S. typhi*.

Saran

Untuk memperkuat hasil penelitian ini perlu dilakukan penelitian lanjutan yang berkaitan dengan peranan daun jambu biji sebagai imunomodulator, yaitu menghitung jumlah CD8+ dan IL2 pada mukosa usus mencit penderita typhoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Ashari, S. 1995. Hortikultura aspek budidaya. Penerbit UI. hal. 306 - 310.
- Almeida CE., Karnikowski MG., Foletto R., dan Baldisseroto B. 1995. Analysis of antidiarrhoeic effect of plants used in popular medicine. J. Ethnopharmacol. 48 : 25 - 32.
- Anonimus. 1998. Jambu biji menyetop diare. Intisari on the net. No 424.
- Bell JC., Palmer SR., dan Payne JM. 1995. 1995. Zoonosis. Penerbit Buku Kedokteran. hal. 249 - 253.
- Boedina, SK. 1996. Immunologi : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium. Edisi ketiga. Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. hal. 100 - 104.
- Caceres A.; L. Fletes, L. Angulair, O. Ramirez, L. Figueroa, AM. Taracena and B. Samoya. 1993. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 3. Confirmation of activity against enterobacteria of 16 plants. J. Ethnopharmacol. 38(1) : 31 - 38.
- Dwidjoseputro. 1998. Dasar-dasar mikrobiologi. Penerbit Djambatan. Malang. hal. 132 - 133.
- Ishibasi Y. and T. Arai. 1995. Salmonella typhi does not inhibit phagosome-lysosome fusion in human monocytederived macrophages. FEMS-Immunol-Med-Microbio. 12 : 56 - 61.
- Morales MA., Tortoriello J., Meckes M., Paz D., Lozoya X. 1994. Calcium antagonist effect of quercetin and its relation with the spasmolytic properties of Psidium guajava L. Arch. Med. Res. 25 : 17 - 21.
- Kato, T dan Owen RL. 1994. Structure and function of intestinal mucosal epithelium. In : Mucosal Immunology. Edited by. Ogra Pl., Lamm ME., McGree JR., Mestecky J., Strober W., Beinenstock. Acad-Press. hal. 11 - 26.
- Lozoya X., Meckes M., Abou Zaid M., Tortoriello J., Nozzolillo C., dan Arnason JT. 1994. Quercetin glycosides in Psidium guajava L. leaves and determination of spasmolytic principle. Arch. Med. Res. 25 : 5 - 11.

- Luterodt GD. 1989. Inhibition of gastrointestinal release of acetylcholine by quercetin as a possible mode of action of *Psidium guajava* leaf extracts in the treatment of acute diarrhoeal disease. *J. Ethnopharmacol.* 25 : 235 - 247.
- Putra ST. 1997. Konsep patobiologi dan imun mukosal. In : *Imunologi mukosal kedokteran. Graha Masyarakat Ilmiah Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.* hal. 27 - 48
- Obatomi, DK.; EO. Bikomo and VJ. Temple. 1994. Anti-diabetic properties of the African mistletoe in streptozotocin induced diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 43(1) : 13 - 17.
- Schwartz A. dan Middleton E. Comparison of the effects of quercetin with those of other flavonoids on the generation and effector function of cytotoxic T lymphocytes. *Immunopharmacology.* 7 : 115 - 126.
- Rabe T. and J. Staden. 1997. Antibacterial activity of South African plants used for medicinal purpose. *J. Ethnopharmacol.* 56 (1) : 81 - 87.
- Rukmana, R. 1996. *Jambu Biji.* Penerbit Kanisius. Jakarta.
- Ryan, JL. 1997. *Bacterial diseases.* Appleton & Lange Stanford, CT. hal. 684 - 693.
- Tona, L; K. Kambu, N. Ngimbi and AJ. Vlietinck. 1998. Antiamoebic and phytochemical screening of some Congolense medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* 61 (1) : 57-65.

L A M P I R A N

Lampiran 1 : Personalia Tenaga Peneliti**1. Kepala Proyek**

Nama Lengkap : Drh. Yeni Dhamayanti
Pangkat/Jabatan : Penata Muda Tk. I/Asisten Ahli
Tempat Penelitian : Lab. Anatomi FKH Unair
Tugas/hubungan kerja : Koordinator kegiatan penelitian
Waktu yang disediakan untuk penelitian : 12 jam per minggu

2. Tenaga Peneliti I

Nama Lengkap : Dra. Tania Ardiani S., MS.
Pangkat/Jabatan : Penata Muda/Asisten Ahli Madya
Tempat Penelitian : Lab. Anatomi FKH Unair
Tugas/hubungan kerja : Tenaga Peneliti
Waktu yang disediakan untuk penelitian : 10 jam per minggu

3. Tenaga Peneliti II

Nama Lengkap : Drh. Hani P., MKeS.
Pangkat/Jabatan : Penata Muda Tk. I/Asisten Ahli
Tempat Penelitian : Lab. Anatomi FKH Unair
Tugas/hubungan kerja : Tenaga Peneliti
Waktu yang disediakan untuk penelitian : 10 jam per minggu

Lampiran 2. ANALISIS STATISTIK

Variabel jumlah sel makrofag terhadap variabel perlakuan

A. Analisis Ragam

Sumber	db	JK	KT	F. ratio	F. prob.
Perlakuan	4	44,6	11,15	21,04	0,0381
Galat	35	19,0	0,53		
Total	39	63,6			

B. Uji jarak Duncan dengan tingkat signifikansi 0,05

Perlakuan	Rata2		(P96)	(P72)	(P48)	(PLC)
PLC	4,88	(PLC)	*	*	-	*
P24	6,13	(P24)	*	*	*	-
P48	5,13	(P48)	*	*	-	
P72	3,75	(P72)	*	-		
P96	3,13	(P96)	-			

Variabel jumlah sel IgA terhadap variabel perlakuan

A. Analisis Ragam

Sumber	db	JK	KT	F. ratio	F. prob.
Perlakuan	4	12,4	3,10	8,86	0,0001
Galat	35	13,5	0,35		
Total	39	25,9			

B. Uji jarak Duncan dengan tingkat signifikansi 0,05

Perlakuan	Rata2		(P96)	(P72)	(P48)	(PLC)
PLC	1,23	(PLC)	*	*	*	-
P24	1,63	(P24)	*	*	-	-
P48	1,88	(P48)	*	-	-	
P72	3,75	(P72)	-	-		
P96	3,13	(P96)	-			