

RINGKASAN

**POTENSI PEMERIAN EKSTRAK *Phyllanthus Niruri L* TERHADAP
PENINGKATAN RESPONS IMUN HUMORAL PADA MENCIT YANG
DIINFEKSI *Salmonella enterica serovar Typhi***

Salmonella enterica serotype Typhi adalah bakteri yang menyebabkan terjadinya demam *typhoid* (Parry *et al.*, 2006). Demam *typhoid* merupakan penyebab utama morbiditas dan mortalitas di daerah padat penduduk, sanitasi buruk dan angka urbanisasi yang tinggi. Menurut Parry *et al.* (2006) diperkirakan terjadi 16 juta kasus baru demam *typhoid* di seluruh dunia setiap tahunnya dengan angka mortalitas mencapai 600.000 jiwa. Survei Departemen Kesehatan Republik Indonesia pada tahun 1990 sebesar 9,2 per 10.000 penduduk dan pada tahun 1994 terjadi peningkatan frekuensi menjadi 15,4 per 10.000 penduduk per tahun (Widodo *et al.*, 2007).

Pecegahan sedini mungkin perlu dilakukan untuk mengantisipasi adanya infeksi *Salmonella enterica serovar typhi* dengan cara meningkatkan sistem imun baik humoral maupun seluler. Peningkatan imunitas dapat dilakukan dengan terapi pemberian obat-obatan herbal yang berasal dari buah, sayur, maupun tanaman yang memiliki kandungan sebagai imunomodulator. Salah satu tanaman yang memiliki kandungan imunomodulatory yaitu meniran (*Phyllanthus niruri L.*) (Williams, 2001). Tanaman ini diduga berguna untuk berbagai macam dan banyak ditemukan di daerah tropis, termasuk di Indonesia sehingga mudah ditemukan (Ahmed *et al.*, 2005). Selain itu, dari segi ekonomis tanaman meniran cukup murah dan mudah untuk didapatkan.

Beberapa golongan zat utama yang terkandung dalam meniran (*Phyllanthus niruri L.*) adalah lignan, tanin, polifenol, alkaloid, flavonoid, terpenoid dan steroid (Murugaiyah, 2008; Taylor, 2003). Akar dan daun meniran mengandung senyawa pahit dan beracun yang diduga alkaloid, selain itu akar dan daunnya juga kaya senyawa flavonoid antara lain quercetin, quercetrin, isoquercetrin, astragalin, dan rutin. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam meniran berkhasiat sebagai antioksidan, antikarsinogen (Kardinandan Kusuma, 2004) dan dapat menstimulasi sistem imun dengan meningkatkan aktivitas makrofag dan limfosit T (Maat, 2005), sedangkan quercetin yang terdapat di dalam meniran dapat menstimulasi sistem imun seluler (Susilowati *et al.*, 2012). Menurut Stagg (2006) meniran memiliki potensi sebagai imunostimulator yang telah teruji dapat meningkatkan sistem imun. Oleh karena itu, diharapkan dengan tanaman meniran ini dapat memberikan alternatif baru untuk meningkatkan sistem imun tubuh terhadap infeksi *Salmonella enterica serovar Typhi*. Sistem imun yang meningkat pada tubuh berguna dalam menanggulangi berbagai macam jenis penyakit.

Penegakan diagnosis demam *typhoid* cukup sulit karena gejala klinik penyakit ini tidak khas, sehingga diperlukan pemeriksaan laboratorium. Pemeriksaan laboratorium untuk menegakkan diagnosis

demam *typhoid* adalah dengan metode konvensional seperti uji serologi Widal serta metode non konvensional seperti *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA).

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui potensi ekstrak *Phyllanthus niruri* L dalam meningkatkan produksi IgM pada mencit yang diinfeksi *Salmonella enterica* serovar *typhi* dan mengetahui adanya perbedaan deteksi IgM yang menggunakan uji Widal dan ELISA pada mencit yang diinfeksi *Salmonella enterica* serovar *typhi*. Dilakukan dua tahapan penelitian eksperimental laboratories, yaitu: (1). Uji Widal Slide, (2). Uji ELISA untuk mengetahui peningkatan produksi IgM pada mencit yang diinfeksi *Salmonella enterica* serovar *typhi*.

Interpretasi hasil reaksi Widal ditandaikan dengan adanya aglutinasi pada titer paling rendah. Berdasarkan hasil penelitian diketahui titer agglutinin pada kelompok kontrol positif cenderung mengarah pada titer $\text{IgM}^{1/80}$, sedangkan pada kelompok perlakuan mengarah pada titer $\text{IgM}^{1/160}$. Titer IgM pada semua kelompok uji menunjukkan hasil yang signifikan, artinya terdapat perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok dengan $p=0,044$. Menurut Olopoenia (2000) hasil positif pemeriksaan Widal dapat meningkatkan indeks kecurigaan adanya demam tifoid. Berdasarkan hasil ini diketahui bahwa ekstrak *Phyllanthus niruri* L telah terbukti dapat meningkatkan respons imun humoral (produksi IgM) pada mencit yang diinfeksi *Salmonella enterica* serovar *typhi*.

Pada uji ELISA ini kadar IgM dapat diketahui dari warna yang dihasilkan dan dibaca dengan ELISA reader. Konsentrasi antibodi yang makin tinggi dalam sampel akan mengakibatkan nilai densitas optikal atau warna yang makin berkurang. Berdasarkan hasil penelitian diketahui rentang skor IgM pada serum darah mencit adalah $< 0,9$ (negatif) yang artinya tidak terdeteksi antibodi IgM.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan hasil deteksi IgM yang menggunakan uji Widal dan ELISA pada mencit yang diinfeksi *Salmonella enterica* serovar *typhi*. Hal ini tidak sesuai dengan pendapat Chaicumpa *et al* (1992) yang menyatakan bahwa ELISA mendeteksi adanya antibodi IgM yang secara teoritis memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang lebih tinggi dibandingkan widal. Sensitivitas ELISA sebesar 95% pada sampel darah, 73% pada sampel feses dan 40% pada sampel sumsum tulang, sedangkan spesifitas dan sensitivitas Widal hanya berkisar 60 – 80% (Surya, 2007). Perbedaan hasil ini dapat terjadi karena antigen yang digunakan dalam penelitian ini bukan merupakan antigen rekayasa, tetapi antigen yang digunakan untuk uji aglutinasi, sehingga perlekatan antigen terhadap polistiren rendah.

SUMMARY

THE POTENTIAL OF *Phyllanthus niruri* L EXTRACT GIVING TOWARDS THE INCREASE OF HUMORAL IMMUNE RESPONSE ON MICE (*Mus musculus*) INFECTED BY *Salmonella enterica* serovar *Typhi*

Salmonella enterica serotype *Typhi* is a bacteria which cause typhoid fever (Parry *et al.*, 2006). Typhoid fever is a main cause of morbidity and mortality in densely populated areas, bad sanitation and high urbanization numbers. According to Parry *et al.* (2006), it is estimated that there are 16 million new cases of typhoid fever in the world every year with the mortality numbers up to 600,000 inhabitants. Survey of the Ministry of Health of the Republic of Indonesia in 1990 amounted to 9.2 per 10,000 population and in 1994, there was a frequency increase up to 15.4 per 10,000 population per year (Widodo *et al.*, 2007).

The prevention as early as possible needs to be done to anticipate *Salmonella enterica* serovar *typhi* infection by enhancing the immune systems of both humoral and cellular. The immunity increase can be done by therapeutic giving of herbal medicines from fruits, vegetables, and plants which contain an immunomodulator. One of the plants which contains an immunomodulator is *meniran* (*Phyllanthus niruri* L.) (Williams, 2001). This plant is useful for many kinds and it is easily found at tropical areas, as well as in Indonesia (Ahmed *et al.*, 2005). Moreover, *meniran* plant is cheap and easy to be found.

Some main substances on *meniran* (*Phyllanthus niruri* L.) plant are lignans, tannins, polyphenols, alkaloids, flavonoids, terpenoids and steroids (Murugaiyah, 2008; Taylor, 2003). *Meniran*'s roots and leaves contain bitter compound and toxic which is alkaloid, besides the roots and leaves are also rich of flavonoids include quercetin, quercitrin, isoquercitrin, astragaloside, and rutin. Flavonoid compounds contained in *meniran* are useful as antioxidant, anti-carcinogenic (Kardinan and Kusuma, 2004) and can stimulate the immune system by increasing the activity of macrophages and T lymphocytes (Maat, 2005), whereas quercetin contained in *meniran* can stimulate cellular immune system (Susilowati *et al.*, 2012). According to Stagg (2006) *meniran* has potential as an immunostimulatory which has proven able to enhance the immune system. Therefore, the *meniran* plant is expected able to provide a new alternative to improve the body's immune system against *Salmonella enterica* serovar *Typhi* infection. The increase of body's immune system is useful for preventing many kinds of diseases.

The diagnosis of typhoid fever is quite difficult since the clinical symptoms of the disease is not typical, therefore the laboratory tests are needed. Laboratory tests for the diagnosis of typhoid fever is by conventional methods such as Widal serological tests as well as non-conventional methods such as Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA).

The purposes of this study are to determine the potential of extracts of *Phyllanthus niruri* L in increasing the production of IgM on mice infected by *Salmonella enterica* serovar *typhi* and to know the difference of IgM detection using Widal and ELISA on mice infected by *Salmonella enterica* serovar *typhi*. It

has been done two stages of experimental research laboratories, namely: (1). Slide Widal test, (2).ELISA test to determine the increasement of IgM production on mice infected by *Salmonella enterica* serovar typhi.

The interpretation of the results of Widal reaction is characterized by the agglutination at the lowest titer. Based on the research, it is revealed that agglutinin titers in the positive control group tend to lead to IgM titers 1/80, whereas the treatment group leads to IgM titers 1/160. IgM titers from all tested groups showed significant results, means that there are significant differences in each group with $p = 0.044$. According to Olopoenia (2000) positive results of Widal examination can increase the index of typhoid fever. Based on these results it is known that extracts of *Phyllanthus niruri* L has been shown to enhance the humoral immune response (IgM production) on mice infected by *Salmonella enterica* serovar typhi.

At these levels of IgM ELISA test can be seen from the color resulted and read by using ELISA reader. The higher concentration of antibodies on the sample will result in optical density or color value diminishing. Based on the research, it is revealed the range of scores IgM in the blood serum of mice was <0.9 (negative), which means no detectable IgM antibody.

Based on these results, we can conclude that there are differences in the results of the IgM detection using Widal and ELISA test on mice infected by *Salmonella enterica* serovar typhi. This is not appropriate with Chaicumpa et al's opinion (1992) which stated that the ELISA to detect IgM antibodies theoretically has sensitivity and specificity higher than widal. ELISA sensitivity is 95% in blood samples, 73% of the faecal samples and 40% in marrow bone samples, whereas the specificity and sensitivity of Widal only around 60-80% (Surya, 2007). These differences could be done since the antigen used in this study is not an engineered antigen, but the antigen used for the agglutination test, so that the attachment of the antigen to polystyrene is low.