

**AKTIVITAS BIOLOGICAL RESPONSE MODIFIERS ALAMI FILTRAT
BUAH BUNI (ANTIDESMA BUNIUS) TERHADAP JUMLAH LIMFOSIT
TERAKTIVASI, SEL MONONUKLEAR DAN POLIMORFONUKLEAR PADA
DARAH HEWAN COBA TIKUS PUTIH JANTAN (RATTUS NORVEGICUS)
STRAIN WISTAR YANG DIINFEKSI SALMONELLA TYPHIMURIUM**

Gunarti¹, Yunan Jiwintarum¹, Nurhidayati²

¹Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Mataram Jurusan Analis

²Program Studi Kedokteran Universitas Mataram

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas alami filtrat buah buni (*Antidesma bunius*) sebagai imunostimulan. Parameter penelitian ini adalah jumlah limfosit teraktivasi, sel mononuklear dan polimofonuclear pada dara putih strain wistar yang terinfeksi oleh *Salmonella typhimurium*. Kelompok penelitian terdiri dari 2 kelompok kontrol, dan 4 kelompok perlakuan yang diberikan 25 % , 50 % , 75 % , 100 % dosis filtrat buah buni selama 7 hari . Data hasil diuji dengan uji statistik *Kruskal - Wallis* dan uji *Mann-Whitney* . Hasil penelitian menunjukkan jumlah limfosit diaktifkan pada kelompok kontrol 1 dan 2 , dan dalam kelompok perlakuan konsekutif 1,5 , 6,4 , 8,4 , 8,8 dan 7,6. Analisis hipotesis dengan uji *Kruskall_Wallis* hasil $p = 0,000$ ($p < 0,05$), dan uji *Mann-Whitney* menunjukkan ada signifikan membedakan antara kelompok kontrol dan kelompok treatment dengan $p < 0,05$. Tidak ditemukan efek pada jumlah basofil , tetapi ada pengaruh yang signifikan filtrat buah buni (*Antidesma bunius*) terhadap jumlah netrofil, eosinofil, jumlah sel polimorphonuclear, limfosit , monosit, dan jumlah sel mononuclear ($p < 0,05$) . Kesimpulan filtrat buah buni (*Antidesma bunius*) mampu meningkatkan jumlah limfosit teraktivasi, PMN dan mononuclear leukocytes pada darah hewan coba tikus putih jantan terinfeksi *Salmonella typhimurium* secara signifikan .

Kata kunci : Aktivitas biologis respon, buah buni, limfosit diaktifkan, sel mononuclear, polimorphonuclear, *Salmonella typhimurium* .

**BIOLOGICAL RESPONSE MODIFIERS ACTIVITIES OF BUNI (ANTIDESMA
BUNIUS)FRUITS FILTRATE TO ACTIVATED LYMPHOCYTES,
MONONUCLEAR AND POLIMORPHONUCLEAR CELLS IN MALE MICE
(RATTUS NORVEGICUS) WISTAR'S STRAIN INFECTED
BY SALMONELLA TYPHIMURIUM**

Abstract

This study aimed to know the natural activity of filtrate buni(*Antidesma bunius*)fruit as immunostimulant. Parameter of this activities was the number of activated lymphocytes, mononuclear and polimorphonuclear cells of mice wistar's strain that infected by *Salmonella typhimurium*. The group of study consisted of 2 control groups, and 4 experiment group which given 25%, 50%, 75%, 100% dose of buni (*Antidesma bunius*)fruits filtrate for 7 days. The data resulted were statically calculated by *Kruskal-Wallis* test dan *Mann-Whitney* test. The result as number of activated lymphocytes in control group 1 and 2, and in treatment groups consecutively 1,5; 6,4; 8,4; 8,8 and 7,6. The analysis of hypotesis by *Kruskall_Wallis* test resulted $p = 0,000$ ($p < 0,05$), and the *Mann-Whitney* test showed there was a significant differentiate among the control group and treatment groups with $p < 0,05$. While,

the number of PMN and MN cells, find no effect in basophils, but there is a significant effect of buni (*Antidesma bunis*) fruits filtrate amount of neutrophil, eosinophil, total polymorphonuclear cells; and lymphocyte, monocyte, and total mononuclear cells ($p < 0,05$). Conclusion the filtrate of buni (*Antidesma bunius*) fruits was able to increase the number of activated lymphocytes; polymorphonuclear and mononuclear leukocytes in the male mice infected by *Salmonella typhimurium* significantly.

Keywords: Biological Response Modifiers Activities, Buni (*Antidesma Bunius*) Fruits, Activated Lymphocytes, Mononuclear And Polymorphonuclear Cells, *Salmonella Typhimurium*.

Pendahuluan

Biological response modifiers (BRM) merupakan bahan yang dapat menstimulasi sistem imun atau molekul yang fungsinya seperti sitokin dalam klinik digunakan untuk memodulasi inflamasi, imunitas dan hematopoiesis. Efek *Biological response modifiers* suatu bahan imunomodulator atau imunostimulator yang meningkatkan mekanisme pertahanan tubuh baik secara spesifik maupun non spesifik.^{8;11} Imunomodulator atau imunostimulator tampak menjadi bagian terpenting dalam pencegahan dan pengobatan. Membantu tubuh untuk mengoptimalkan fungsi sistem imun yang merupakan sistem utama yang berperan dalam pertahanan tubuh terhadap benda asing yang masuk kedalam tubuh, termasuk infeksi oleh mikroorganisme. Pemakaian imunostimulator bertujuan menekan atau mengurangi infeksi virus dan bakteri intra dan ekstra seluler, mengatasi imunodefisiensi atau sebagai perangsang pertumbuhan sel – sel pertahanan dalam sistim imunitas.³

Bahan *Biological response modifiers* yang populer dalam bidang ilmu kedokteran berasal dari bahan biologis dan sintetik. Yang termasuk dalam bahan biologis diantaranya adalah sitokin (interferon), hormon yang dihasilkan kelenjar endokrin timus dan antibodi monoklonal, bahan sintetik antara lain adalah senyawa muramil dipeptida (MDP) dan levamisol.¹³ Sedangkan bahan dari alam pada saat ini sedang aktif di eksplorasi pada berbagai penelitian, antara lain ekstrak tanaman meniran (*Phyllanthus niruri* L). Bahan – bahan tersebut memerlukan berbagai tahap pengolahan sebelum dikonsumsi masyarakat. Untuk memudahkan masyarakat mendapatkan bahan – bahan yang memiliki aktivitas *Biological response modifiers* terutama yang dapat bersifat imunomodulator dan imunostimulator maka perlu dilakukan eksplorasi bahan – bahan alam yang mudah diolah dan bisa dikonsumsi langsung oleh masyarakat tanpa melalui

proses ekstraksi, seperti bahan – bahan alam yang berasal dari buah – buahan antara lain adalah buah Buni (*Antidesma bunius*). Indonesia kaya akan berbagai tanaman buah. Buah merupakan produk yang berdaya guna untuk menunjang gizi masyarakat dan mengandung zat-zat vital untuk pencegahan terhadap berbagai penyakit dan zat pengatur fisiologis tubuh seperti vitamin dan mineral. Dengan mengkonsumsi buah-buahan segar dapat menurunkan resiko terkena kanker, penyakit infeksi dan terhindar dari resiko berbagai penyakit degeneratif. Tumbuhan buah-buahan merupakan sumber senyawa-senyawa kimia yang berkhasiat sebagai obat.⁶

Salah satu tanaman buah yang banyak khasiatnya dan dapat digunakan sebagai obat alternative penyakit-penyakit infeksi adalah buah buni. Buah buni mengandung senyawa-senyawa kimia kelompok antioksidan antara lain polifenol, asam fenolat, kelompok senyawa bioflavanoid seperti antosianin, katekin, kaemferol, dan kuersetin serta vitamin C.² Polifenol merupakan jenis senyawa turunan fenol yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Fungsi polifenol sebagai penangkap dan pengikat radikal bebas dari rusaknya ion-ion logam. Kelompok tersebut sangat mudah larut dalam air dan lemak, serta dapat bereaksi dengan vitamin C dan E. Kelompok-kelompok senyawa fenolik terdiri dari asam-asam fenolat dan flavanoid. Tanaman mempunyai potensi yang cukup baik sebagai penghasil senyawa fenolik.⁶ Bioflavanoid kelompok ini terdiri dari kumpulan senyawa polifenol dengan aktivitas antioksidan cukup tinggi. Dengan kata lain, senyawa flavanoid mempunyai ikatan gula yang disebut glikosida. Senyawa induk atau senyawa utamanya disebut aglikon yang berikatan dengan berbagai gula dan sangat mudah terhidrolisis atau mudah terlepas dari gugus gulanya. Kelompok flavanoid merupakan antioksidan yang potensial untuk mencegah pembentukan radikal

bebas. Selain itu senyawa tersebut mempunyai sifat antibacterial dan antiviral⁶.

Hasil penelitian Gunarti dkk (2012) dan Yunan dkk (2012) menunjukkan bahwa filtrat buah buni ungu mampu menghambat dan merusak integritas DNA *Streptococcus pneumonia* positif *Streptococcus pneumonia* positif gen *lytA*, dan *nanA* dan *Staphylococcus aureus*. Beberapa teori dan hasil – hasil penelitian membuktikan bahwa senyawa polifenol dan flavonoid sangat potensial sebagai imunostimulan sehingga dapat menurunkan jumlah koloni kuman pada organ yang terinfeksi, terutama hepar dan bertindak sebagai imunopotensiator yaitu menaikkan aktifitas makrofag, sel blast dan limfosit sitotoksitas.^{5:14} Penelitian ini menggunakan bahan induksi atau infeksi *Salmonella typhimurium* karena merupakan penyebab penyakit sistemik pada binatang yang menyerupai tifoid pada manusia sehingga lazim digunakan untuk penelitian yang mempelajari patogenitas dan pengobatan infeksi. Perjalanan infeksi sistemik *Salmonella typhimurium* terjadi beberapa fase, fase I terjadi 1 jam setelah diinfeksi secara intravena atau intraperitoneal. Fase II dimulai sejak 1 hari infeksi yang disebut tahap pertumbuhan eksponensial, bakteri masuk ke dalam sirkulasi darah melalui pembuluh limfe melakukan invasi ke hepar dan limpa untuk selanjutnya melakukan multiplikasi. Fase III terjadi 3-7 hari, pertumbuhan bakteri pesat dihati dan limpa serta menjadi pertumbuhan yang menetap.⁹

Infeksi *Salmonella typhimurium* digunakan sebagai model infeksi intraseluler yang dapat memacu imunitas seluler. Pada fase III hari 3-7 infeksi *Salmonella typhimurium*, terjadi pertumbuhan bakteri yang akan memacu makrofaq memproduksi sitokinnya, sehingga akan mengaktifasi sistem imun baik alami maupun adaptif terutama system imun selular. Infeksi intraseluler pada gambaran darah tepi sering ditemukan sel limfosit yang teraktivasi. Limfosit

teraktivasi memiliki ciri limfosit yang lebih besar dan reaktif, sitoplasma lebih lebar, warna lebih biru atau abu-abu, inti oval, bentuk ginjal atau lobulated, kadang – kadang terdapat anak inti dengan kromatin kasar.¹ Aktivitas filtrat buah buni (*Antidesma bunius*) sebagai bahan *Biological response modifiers* belum banyak di gali, terutama pengaruhnya terhadap jumlah limfosit teraktivasi, sel mononuklear (limfosit, monosit dan basofil) dan polimorfonuklear (neutrofil dan eosinofil), karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai aktivitas *Biological Response Modifiers* (BRM) alami filtrat buah Buni (*Antidesma bunius*) terhadap jumlah limfosit teraktivasi, sel mononuklear dan polimorfonuklear pada darah hewan coba tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) strain wistar yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*.

Metode Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental di laboratorium dengan rancangan penelitian menggunakan *the post test-only control group*. Populasi dalam penelitian ini adalah hewan coba tikus putih jantan strain wistar. Sampel dalam penelitian ini adalah darah hewan coba tikus putih jantan strain wistar. Variabel bebas: Filtrat buah Buni (*Antidesma bunius*), Variabel terikat: Jumlah limfosit teraktivasi, Jumlah sel Mononuklear dan Polimorfonuklear. Cara pengambilan sampel : Menggunakan *non random purposive sampling*. Kriteria inklusi hewan coba adalah : Tikus putih jantan strain wistar, Berumur 2-3 bulan, Berat badan 200 – 250 gram, Secara fisik berbadan sehat dan aktif sebelum diinfeksi *Salmonella typhimurium*, Jumlah sel leukosit $5.0 - 13.0 \times 10^3/\text{mm}^3$, Neutrofil 9-34%, limfosit 63-84%, Monosit 0-5%, Eosinofil 0-6% dan Basofil 0-1%. Kriteria eksklusi hewan coba adalah : Tikus putih jantan strain wistar mati sebelum waktu observasi.

Kriteria buah Buni (*Antidesma bunius*) adalah buah matang dengan warna

merah gelap atau ungu tua. Besar sampel dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan pendapat Weill bahwa sampel minimal untuk pemakaian hewan coba adalah 4 ekor dan dengan faktor koreksi 25% dari unit eksperimen, maka pada penelitian ini digunakan ($6 \times 4 = 24$ ekor), faktor koreksi $24 \times 25\% = 6$ ekor. Total hewan coba yang digunakan adalah 24 ekor + 6 ekor = 30 ekor. Hewan coba tersebut ditempatkan pada kandang terpisah, masing – masing kandang berisi 5 ekor tikus, sesuai dengan pembagian perlakuannya dan faktor koreksinya. Instrumentasi penelitian : *Photometer Humanalyzer*, *Hemositometer Improved-Neubauer*, *Elisa reader (Humman)*, *Centrifuge* , Inkubator, Autoklaf, Kandang tikus putih, Timbangan kualitatif, Timbangan kuantitatif, Blender kecil (blender untuk bumbu), *Beaker glass*, Dispenser 100-1000 mikron, *Blue tip*, Gunting, Pinset, Centrifuge, Tabung reaksi 5 ml, Eppendorf tubes. Bahan penelitian: Reagen ELISA Ig M dan Ig G (Sigma), Antikoagulan EDTA, Natrium Citrat 3,8%, Buah Buni (*Antidesma bunius*), *Salmonella typhimurium* dan Cat Rapid Hematologi.

Cara Kerja :

1. Persiapan dan aklimatisasi hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar

Penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar karena beberapa alasan antara lain, mudah dikembang biakan, mudah diperlihara, mudah diambil darahnya cukup melalui ekor untuk mendapatkan darah kapiler, fisiologinya diperkirakan identik dengan manusia (Harmita & Maksum 2008). Aklimatisasi hewan coba selama 7 hari terhadap air, makanan, udara, dan kondisi laboratorium. Pakan yang diberikan selama aklimatisasi adalah pakan standar tikus putih (*Rattus norvegicus*) dan Aquadest untuk air minum.

2. Pembagian hewan coba berdasarkan kelompok perlakuan dan faktor koreksi.

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih jantan strain wistar, jumlah sampel dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan pendapat Weill bahwa sampel minimal untuk pemakaian hewan coba adalah 4 ekor dan dengan faktor koreksi 25% dari unit eksperimen, maka pada penelitian ini digunakan ($6 \times 4 = 24$ ekor), faktor koreksi $24 \times 25\% = 6$ ekor. Total hewan coba yang digunakan adalah 24 ekor + 6 ekor = 30 ekor. (Harmita & Maksum, 2008). Hewan coba tersebut ditempatkan pada kandang terpisah, masing – masing kandang berisi 5 ekor tikus, sesuai dengan pembagian perlakuannya dan faktor koreksinya.

3. Pembuatan filtrat buah Buni .

100 gram buah Buni yang matang dengan kriteria buah ungu kehitaman dipisahkan dari kelompok tandan buah. Buah buni sesuai kriteria ditimbang 100 gram. Buah tersebut dihancurkan dengan menggunakan blender khusus untuk biji – bijian, kemudian disaring dengan menggunakan kain kassa steril atau kertas saring steril, hasil saringan berupa filtrat ditampung pada botol steril, filtrat ini diasumsikan konsentrasinya 100 % atau merupakan filtrat murni dari filtrat buah Buni. Filtrat yang sudah jadi disimpan dalam lemari es suhu 4 – 8 derajat celsius bila belum digunakan.

4. Pengelompokkan hewan coba dan jenis perlakuannya

Adapun pengelompokkan hewan coba dan jenis perlakuannya adalah :

a. Kelompok kontrol 1 (K1) : Kontrol negatif atau kontrol sehat tanpa perlakuan hanya diberikan pakan standart dan aquadest selama 7 hari, dan hari ke – 7 diambil darahnya untuk pemeriksaan jumlah limfosit teraktivasi, jumlah sel Mononuklear dan Polimorfonuklear.

b. Kelompok kontrol 2 (K2) : Kontrol positif diinfeksi *Salmonella typhimurium* secara intraperitoneal dengan dosis 10^5 CFU/ 1 kali /

perekor hewan coba pada hari pertama, 12 jam setelah diinfeksi hanya diberi pakan standart dan aguadest dan tidak diberi filtrat buah Buni 100% sampai hari ke-7. Pada hari ke – 7 diambil darahnya untuk pemeriksaan jumlah limfosit teraktivasi, jumlah sel Mononuklear dan Polimorfonuklear.

- c. Kelompok Perlakuan (P1) : Kelompok perlakuan diinfeksi *Salmonella typhimurium* secara intraperitoneal dengan dosis 10^5 CFU/ 1 kali / perekor hewan coba pada hari pertama, 12 jam setelah infeksi kelompok ini diberi pakan standart, aguadest dan filtrat buah Buni 25% 3 kali sehari sampai hari ke-7. Pada hari ke – 7 diambil darahnya untuk pemeriksaan jumlah limfosit teraktivasi, jumlah sel Mononuklear dan Polimorfonuklear.
- d. Kelompok Perlakuan (P2) : Kelompok perlakuan diinfeksi *Salmonella typhimurium* secara intraperitoneal dengan dosis 10^5 CFU/ 1 kali / perekor hewan coba pada hari pertama, 12 jam setelah infeksi kelompok ini diberi pakan standart, aguadest dan filtrat buah Buni 50% 3 kali sehari sampai hari ke-7. Pada hari ke – 7 diambil darahnya untuk pemeriksaan jumlah limfosit teraktivasi, jumlah sel Mononuklear dan Polimorfonuklear.
- e. Kelompok Perlakuan (P3) : Kelompok perlakuan diinfeksi *Salmonella typhimurium* secara intraperitoneal dengan dosis 10^5 CFU/ 1 kali / perekor hewan coba pada hari pertama, 12 jam setelah infeksi kelompok ini diberi pakan standart, aguadest dan filtrat buah Buni 75% 3 kali sehari sampai hari ke-7. Pada hari ke – 7 diambil darahnya untuk pemeriksaan jumlah limfosit teraktivasi, jumlah sel Mononuklear dan Polimorfonuklear.
- f. Kelompok Perlakuan (P4) : Kelompok perlakuan diinfeksi

Salmonella typhimurium secara intraperitoneal dengan dosis 10^5 CFU/ 1 kali / perekor hewan coba pada hari pertama, 12 jam setelah infeksi kelompok ini diberi pakan standart, aguadest dan filtrat buah Buni 100% 3 kali sehari sampai hari ke-7. Pada hari ke – 7 diambil darahnya untuk pemeriksaan jumlah limfosit teraktivasi, jumlah sel Mononuklear dan Polimorfonuklear.

5. Cara perlakuan pemberian filtrate buah Buni 100%

Sebelum perlakuan tikus putih yang sudah diaklimatisasi dipuaskan selama 5 jam dan ditimbang, kemudian diberi tanda pada ekor, telinga dan kaki untuk menghindari kesalahan pengambilan pada saat pengukuran dan pemberian perlakuan. Masing – masing hewan coba tersebut selanjutnya dimasukkan dalam kandang – kandang hewan coba sesuai dengan jenis perlakuan. Pemberian filtrat buah Buni sesuai kelompok perlakuan dengan volume sesuai berat badan hewan coba yang dihitung dengan rumus :

$$\frac{BB(s) \times V}{BB(std) F}$$

Keterangan:

BB (s) : berat badan tikus putih yang

sebenarnya

BB (std): berat badan standar (200 gram)

V : jumlah yang diberikan (5 ml)

F : frekuensi pemberian 3 kali

6. Pemeriksaan jumlah limfosit teraktivasi, sel mononuclear dan sel polimorfonuklear.

Langkah – langkah dalam pemeriksaan hitung jenis sel mononuclear dan polimorfonuklear serta gambaran dan jumlah sel limfosit teraktivasi pada sediaan apus darah tepi, dengan prosedur pembuatan preparat sebagai berikut :

- Meneteskan darah pada garis tengah kaca objek kira – kira 1 cm dari ujung.
- Dengan tangan kanan diletakkan kacaobjek lain disebelah kiri tetesan dan gerakkan ke kanan sampai menyentuh tetesan darah.
- Darah akan menyebar pada sisi penggeser.
- Menggeserkan kaca ke kiri dengan memegangnya miring 45 derajat.
- Preparat dibiarkan kering di udara dan diberi label.
- Preparat yang telah kering difiksasi dengan methanol 90%, dikeringkan kembali.
- Preparat diberi pewarnaan larutan Giemsa dan didiamkan selama 20-50 menit atau dapat menggunakan zat rapid hema.
- Preparat dicuci dengan air mengalir dan selanjutnya preparat dikeringkan.
- Preparat sediaan apus darah tepi yang sudah kering dibaca di bawah mikroskop cahaya untuk menghitung prosentase sel mononuclear dan polimorfonuklear serta jumlah dan morfologi sel limfosit teraktivasi dalam 100 sel leukosit.

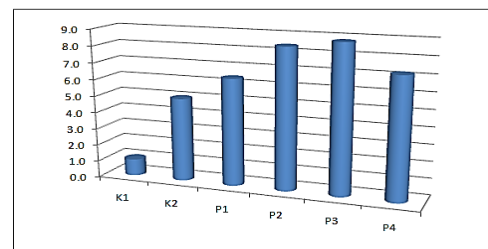
Analisa Data : Data hasil pemeriksaan jumlah limfosit teraktivasi dan Perhitungan jumlah sel Mononuklear dan Polimorfonuklear pada kelompok K1, K2, dan K3 dianalisa menggunakan uji statistik *One Way anova*, pada tingkat kepercayaan 95% $P\alpha = 0.05$, dilanjutkan dengan uji *post hoc*.

Hasil

1. Hasil hitung jumlah limfosit teraktivasi.

Limfosit teraktivasi dihitung dengan cara hitung sediaan apus darah tepi yang diwarnai dengan cat rapid hema atau cat giemsa, banyaknya limfosit teraktivasi dihitung dalam 100 leukosit. Gambaran morfologi limfosit teraktivasi yaitu mempunyai sitoplasma lebar, warna lebih biru atau biru tua yang berukuran

lebih besar, sitoplasma lebar dengan vakuolisasi halus sampai sangat nyata, inti terletak pada salah satu tepi sel, berbentuk bulat oval atau seperti ginal, inti bentuk atipikal dengan kromatin agak longgar, terdapat/tidak ada anak inti. Adapun hasil perhitungan limfosit teraktivasi dan gambar limfosit teraktivasi dapat dilihat pada grafik 1 berikut ini.



Grafik1. Hasil Analisis Deskriptif Jumlah Limfosit Teraktivasi per 100 sel
Keterangan :

- Kelompok K1: kontrol negatif (kontrol sehat tanpa perlakuan)
- Kelompok K2: kontrol positif diinfeksi *Salmonella typhimurium* tanpa pemberian filtrat buah buni
- Kelompok P1 :Kelompok perlakuan diinfeksi *Salmonella typhimurium* dan diberi filtrat buah Buni 25% .
- Kelompok P2 :Kelompok perlakuan diinfeksi *Salmonella typhimurium* dan diberi filtrat buah Buni 50% .
- Kelompok P3 :Kelompok perlakuan diinfeksi *Salmonella typhimurium* dan diberi filtrat buah Buni 75% .
- Kelompok P4 :Kelompok perlakuan diinfeksi *Salmonella typhimurium* dan diberi filtrat buah Buni 100% .

Berdasarkan data pada grafik 1, pada mencit yang terinfeksi *Salmonella typhimurium*, terjadi peningkatan jumlah limfosit yang teraktivasi. Setelah diberikan filtrat buah buni (*Antidesma bunius*) selama 7 hari, terjadi peningkatan jumlah limfosit yang teraktivasi. Peningkatan paling tinggi didapatkan pada kelompok perlakuan 3 yang diberikan filtrat 75 %.

2. Hasil hitung jumlah sel PMN dan MN.

Sel polimorfonuklear (PMN) dan sel mononuclear (MN) di hitung dalam 100 leukosit menggunakan sediaan apus darah tepi yang diwarnai dengan cat rapid hema atau cat giemsa. Jumlah sel PMN dan MN

dinyatakan dalam prosentase. Sel PMN meliputi Basofil, Eosinofil, Stab netrofil, dan Segmen netrofil, sedangkan sel MN meliputi limfosit dan Monosit. Adapun jumlah sel PMN dan MN pada masing – masing kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel1.

Tabel 1. Hasil Analisis Deskriptif Jumlah Sel PMN dan MN

Kelompok	Replika	PMN	PMN	PMN	Total	MN	MN	Total
k	si (N)	Basofi	Eosinofi	Netrofi	PMN	Limfosi	Monosi	MN
		l	l	l		t	t	
K1	5	0.0	2.8	36.4	39.2	57.6	3.2	60.8
K2	5	0.0	4.6	50.8	55.4	35.0	9.6	44.6
P1	5	0.0	2.4	43.0	45.4	49.8	4.8	54.6
P2	5	0.0	2.4	36.6	39.0	58.4	2.6	61.0
P3	5	0.0	1.2	26.6	27.8	70.0	2.2	72.2
P4	5	0.0	2.4	37.2	39.6	57.2	3.2	60.4

Keterangan :

- Kelompok K1 :kontrol negatif (kontrol sehat tanpa perlakuan)
- Kelompok K2:kontrol positif diinfeksi *Salmonella typhimurium* tanpa pemberian filtrat buah buni
- Kelompok P1 :Kelompok perlakuan diinfeksi *Salmonella typhimurium* dan diberi filtrat buah Buni 25% .
- Kelompok P2 :Kelompok perlakuan diinfeksi *Salmonella typhimurium* dan diberi filtrat buah Buni 50% .
- Kelompok P3 :Kelompok perlakuan diinfeksi *Salmonella typhimurium* dan diberi filtrat buah Buni 75% .
- Kelompok P4 :Kelompok perlakuan diinfeksi *Salmonella typhimurium* dan diberi filtrat buah Buni 100% .

Data pada tabel 1 menunjukkan bahwa, secara umum gambaran jumlah lekosit polimorfonuklear (PMN) dan mononuclear (MN) masih dalam batas normal, kecuali, pada kelompok kontrol positif (K2), terjadi peningkatan jumlah Netrofil dan Monosit yang melewati batas normal yaitu secara berturut-turut 50,8 (normal 9-35 %), dan 9,6 % (normal 0-5 %).

Analisis Penelitian

Untuk melihat efek dari filtrat buah buni (*Antidesma bunius*) pada penelitian ini

dilakukan analisis lebih lanjut data penelitian.

- Uji Hipotesis efek buah buni (*Antidesma bunius*) terhadap jumlah limfosit yang teraktivasi
Hasil uji hipotesis efek buah buni (*Antidesma bunius*) terhadap jumlah limfosit yang teraktivasi didapatkan nilai $p= 0,000$ ($p<0.05$). Hal ini berarti buah buni (*Antidesma bunius*) mempunyai efek yang signifikan dalam mempengaruhi jumlah limfosit yang teraktivasi. Setelah dilakukan uji beda dengan uji *Mann-Whitney*, diperoleh data terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan dengan nilai $p <0,05$. Hal ini membuktikan filtrat buah buni (*Antidesma bunius*) mampu meningkatkan aktifitas limfosit pada mencit yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*. Untuk melihat efek masing-masing dosis perlakuan, didapatkan hasil ada perbedaan yang signifikan jumlah limfosit yang teraktivasi antara kelompok P1 (25 %) dan P 4 (100%) dengan kelompok P2 (50 %) dan P3 (75%). Tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok P2 (50 %) dan P3 (75%), dan antara kelompok P1 (25 %) dan P 4

(100%). Hal ini berarti dosis efektif terdapat pada konsentrasi 50 % dan 75 %.

2. Uji Hipotesis efek buah buni (*Antidesma bunius*) terhadap peningkatan jumlah limfosit PMN dan MN

Hasil uji hipotesis efek buah buni (*Antidesma bunius*) terhadap jumlah lekosit polimorfonuklear (PMN), baik basofil, eosinofil dan netrofil, dan lekosit mononuklear (MN), yaitu limfosit dan monosit dapat dilihat pada tabel 2 berikut ini.

Tabel 2 Hasil Uji Hipotesis *Kruskal Wallis* “ Jumlah Lekosit Polimorfonuklear (PMN) dan Mononuklear (MN)

	PMN Basofi 1	PMN Eosinofi 1	PMN Netrofil	Total PMN	MN Limfosit	MN Monosit	Total MN
Chi-Square	.000	19.108	22.902	23.463	24.821	20.842	23.463
df	5	5	5	5	5	5	5
Asymp. Sig.	1.000	.002	.000	.000	.000	.001	.000

Hasil Uji hipotesis sebagaimana yang tersaji pada tabel 3.4 di atas menunjukkan bahwa filtrat buah buni (*Antidesma bunius*) mampu mempunyai efek yang signifikan dalam mempengaruhi jumlah lekosit jumlah polimorfonuklear yaitu eosinofil, Netrofil, dan lekosit mononuklear (MN), yaitu limfosit dan monosit. Tidak ditemukan efek filtrat buah buni (*Antidesma bunius*) terhadap basofil.

Setelah itu dilakukan uji beda dengan uji *Mann-Whitney*, diperoleh data terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol positif dengan semua kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Untuk melihat perbedaan efek antara kelompok perlakuan, juga dilakukan uji yang sama, hasilnya dapat dilihat pada tabel 3 berikut ini

Tabel 3 Hasil Uji *Mann - Whitney* “ Jumlah Lekosit Polimorfonuklear (PMN) dan Mononuklear (MN)”

Kelompok	PMN Eosinofil	PMN Netrofil	Tota l PM N	MN Limfosi t	MN Monosit	Total MN
P1-P2	1.000	.093	.070	.020	.008	.070
P1-P3	.033	.009	.009	.009	.008	.009
P1-P4	1.000	.011	.009	.009	.068	.009
P2-P3	.033	.012	.008	.009	.419	.008
P2-P4	1.000	.343	.340	.168	.504	.340
P3-P4	.033	.009	.009	.009	.230	.009

Pembahasan

Penelitian ini secara umum ingin membuktikan efek immunostimulan dari senyawa yang terkandung dalam filtrat buah buni (*Antidesma bunius*).

Imunomodulator atau immunostimulator tampak menjadi bagian terpenting dalam pencegahan dan pengobatan. Senyawa dengan efek immunostimulan atau disebut juga *Biological response modifiers* (BRM)

dapat membantu tubuh untuk mengoptimalkan fungsi sistem imun yang merupakan sistem utama yang berperan dalam pertahanan tubuh terhadap benda asing yang masuk ke dalam tubuh, termasuk infeksi oleh mikroorganisme. Pemakaian imunostimulator bertujuan menekan atau mengurangi infeksi virus dan bakteri intra dan ekstra seluler, mengatasi imunodefisiensi atau sebagai perangsang pertumbuhan sel – sel pertahanan dalam sistem imunitas.³

Untuk menginduksi peningkatan aktivitas dan jumlah lekosit pada hewan coba pada penelitian ini digunakan bakteri *Salmonella typhimurium*. Pemilihan filtrat buah buni disebabkan oleh mudahnya proses pembuatan sehingga dapat dimanfaatkan secara langsung oleh masyarakat, dan buah buni sendiri mudah ditemukan di pulau Lombok dan telah dipercayai secara turun temurun memiliki manfaat bagi kesehatan, disamping telah dibuktikan kandungan dan manfaatnya melalui penelitian. Buah buni mengandung senyawa-senyawa kimia kelompok antioksidan antara lain polifenol, asam fenolat, kelompok senyawa bioflavonoid seperti antosianin, katekin, kaempferol, dan kuersetin serta vitamin C (Anonim, 2010). Polifenol merupakan antioksidan yang potensial untuk mencegah pembentukan radikal bebas. Selain itu senyawa tersebut mempunyai sifat antibakterial dan antiviral.⁶

Hasil penelitian Gunarti dkk (2012) menunjukkan bahwa filtrat buah buni mampu menghambat dan merusak integritas DNA *Streptococcus pneumoniae* positif *Streptococcus pneumoniae* positif gen *lytA*, dan *nanA* dan *Staphylococcus aureus*.⁵ Beberapa teori dan hasil – hasil penelitian membuktikan bahwa senyawa polifenol dan flavonoid sangat potensial sebagai imunostimulan sehingga dapat menurunkan jumlah koloni kuman pada organ yang terinfeksi, terutama hepar dan bertindak sebagai imunopotensiator yaitu menaikkan aktifitas makrofag, sel blast dan

limfosit sitotoksitas. Pada penelitian, konsentrasi filtrat buah buni yang digunakan adalah 25 %, 50 %, 75 % dan 100%. Pemilihan dosis ini berdasarkan hasil penelitian sebelumnya tentang efek filtrat buah buni terhadap integritas DNA *Streptococcus pneumoniae* positif *Streptococcus pneumoniae* positif gen *lytA*, dan *nanA* dan *Staphylococcus aureus* oleh Gunarti dkk (2012). Lama pemberian selama 7 hari sesuai dengan gambaran fase-fase yang terjadi pada infeksi bakteri salmonella.^{5:7}

a. Jumlah Lekosit PMN dan MN

Respons imun terhadap salmonella meliputi sistem imun natural (*innate*) dan sistem imun adaptif (*acquired*). Untuk menilai efek dari pemberian filtrat buah buni (*Antidesma bunius*) terhadap sistem imun sistem imun natural (*innate*), maka dilakukan pengukuran jumlah polimorfonuklear (PMN) yaitu Basofil, Eosinofil, Netrofil, dan lekosit mononuklear (MN), yaitu limfosit dan monosit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, secara umum gambaran jumlah lekosit polimorfonuklear (PMN) dan mononuklear (MN) masih dalam batas normal, kecuali pada kelompok kontrol positif (K2), terjadi peningkatan jumlah Netrofil dan Monosit yang melewati batas normal yaitu secara berturut-turut 50,8 (normal 9-35 %), dan 9,6 % (normal 0-5 %). Namun, setelah dilakukan analisis, terdapat perbedaan yang signifikan antara jumlah total sel polimorfonuklear maupun komponen sel yang termasuk dalam sel PMN (eosinofil dan netrofil), serta jumlah total sel Mononuklear maupun komponen sel yang termasuk dalam sel MN (limfosit dan monosit) pada kelompok kontrol 1 (K1) dan kontrol 2 (K2). Perjalanan infeksi sistemik *Salmonella typhimurium* terjadi 3 fase. Fase I terjadi 1 jam setelah diinfeksi secara intravena atau intraperitoneal. Fase II dimulai sejak 1 hari infeksi yang disebut tahap pertumbuhan

eksponensial, bakteri masuk ke dalam sirkulasi darah melalui pembuluh limfe melakukan invasi ke hepar dan limpa untuk selanjutnya melakukan multiplikasi. Neutrofil sangat penting pada fase ini sebagai pertahanan *host* dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada fase ini.⁹ Gambaran efek dari pemberian buah buni (*Antidesma bunius*) dalam meningkatkan sistem imun innate, secara tidak langsung dapat dilihat dengan kesederungan semakin meningkatnya jumlah sel mononuklear. Tidak terjadinya peningkatan jumlah netrofil seperti pada kelompok kontrol 2 (K2), diduga juga merupakan indikator telah terlewatinnya fase 2 secara lebih efektif pada kelompok perlakuan, mengingat pengambilan sampel darah dilakukan setelah fase 2, dan mulai memasuki fase pembersihan, dimana yang berperan adalah sistem imun adaptif, yang diperantarai oleh Limfosit. Namun, untuk membuktikan hal tersebut, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

b. Limfosit teraktivasi

Respons imun terhadap salmonella meliputi sistem imun natural (*innate*) dan sistem imun adaptif (*acquired*). Sementara itu pada imun adaptif sel yang berperan adalah APC, sel Limfosit T dan sel limfosit B. Sel dendritik merupakan APC yang penting dalam inisiasi respons imun yang diperantarai sel T dan bersama dengan makrofag mempresentasikan antigen yang diproses dari bakteri intrasel gram negatif seperti *Salmonella*. Pada fase III hari 3-7 infeksi *Salmonella typhimurium*, terjadi pertumbuhan bakteri yang akan memacu makrofag memproduksi sitokinnya, sehingga akan meningkatkan kapasitas kerja sel NK. Fase pembersihan terjadi setelah minggu ketiga infeksi yang melibatkan imun adaptif khususnya sel limfosit T. Pada kejadian infeksi intraseluler seperti oleh *Salmonella typhimurium* pada gambaran darah tepi sering ditemukan

sel limfosit yang teraktivasi. Limfosit teraktivasi memiliki ciri limfosit yang lebih besar dan reaktif, sitoplasma lebih lebar, warna lebih biru atau abu-abu, inti oval, bentuk ginjal atau lobulated, kadang – kadang terdapat anak inti dengan kromatin kasar.¹ Pada penelitian terbukti bahwa infeksi *Salmonella typhimurium* mampu merangsang sistem imun adaptif pada hewan coba sebagai bagian dari proses pertahanan tubuh dari hewan coba. Pada Kelompok kontrol 2 (K2) yang diinfeksi dengan *Salmonella typhimurium*, terjadi peningkatan jumlah limfosit yang teraktivasi dari 1 % sebelum terinfeksi menjadi 5 % pada kelompok yang terinfeksi. Untuk meningkatkan sistem imun, dengan meningkatkan jumlah limfosit yang teraktivasi, maka diujicobakan pemberian filtrat buah buni (*Antidesma bunius*). Hasil dari pemberian filtrat buah buni (*Antidesma bunius*), ternyata mampu meningkatkan jumlah limfosit yang teraktivasi. Jumlah lekosit yang teraktivasi pada kelompok perlakuan secara berturut-turut adalah 6,4; 8,4; 8,8; dan 7,2, lebih tinggi dari kelompok kontrol 2. Setelah dilakukan analisis lebih lanjut, didapatkan peningkatan jumlah limfosit yang teraktivasi secara signifikan, baik jika dibandingkan dengan kelompok K 1 maupun dengan K2 ($p = 0,008$; $p < 0,05$). Namun, setelah dieksplorasi lebih lanjut, semakin tinggi konsentrasi filtrat buah, kemampuan meningkatkan jumlah limfosit yang teraktivasi cenderung makin meningkat. Setelah dilakukan uji beda dengan uji Mann-Whitney, didapatkan hasil kemampuan meningkatkan jumlah limfosit yang teraktivasi paling tinggi dicapai oleh kelompok P3 (75%) yaitu mencapai 8,8, namun tidak berbeda secara signifikan dengan yang dicapai oleh kelompok P 2 (50 %). Oleh karena itu, berdasarkan penelitian ini, untuk mendapatkan efek immunostimulan dari

buah buni, konsentrasi yang dianjurkan adalah 50%-75%.

Kesimpulan

1. Filtrat buah buni (*Antidesma bunius*) mempunyai mampu meningkatkan jumlah limfosit teraktivasi pada hewan coba secara signifikan.
2. Konsentrasi filtrat buah buni (*Antidesma bunius*) 50% dan 70 % mempunyai efektivitas paling tinggi meningkatkan jumlah limfosit teraktivasi pada hewan coba.
3. Pemberian filtrat buah buni (*Antidesma bunius*) memberikan efek terhadap jumlah lekosit polimorfonuklear dan mononuklear pada hewan coba secara signifikan
4. Pemberian filtrat buah buni (*Antidesma bunius*) tidak mempunyai efek terhadap jumlah sel polimorfonuklear basofil.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan melihat kemampuan fagositosis dan morfologi limfosit yang teraktivasi serta parameter aktivitas *Biological Response Modifiers* (BRM) lainnya.
2. Perlu dilakukan penelitian efektifitas filtrat buah buni (*Antidesma bunius*) dalam mencegah infeksi salmonella.
3. Perlu dilakukan penelitian untuk menentukan dosis efektif dan dosis letal dan membandingkan efektifitas filtrat buah buni (*Antidesma bunius*) dengan *Biological Response Modifiers* (BRM) lainnya

Daftar Pustaka

1. Abbas AK, Litchman AH, Pober JS, 2003. Cellular and molecular immunology. Fourt edition. Philadelphia: WB Saunders Co.
2. Anonim. 2010. *Antosianin Zat Fungsi onal Filtrat buah* <http://yissaprayogo.wordpress.com>.
3. Block, K.I and M.N.Mead, 2003. *Immune System Effects Of Echinacea, Ginseng and Astragalus : A review.*

Integrative cancer therapies. 2(3):247-267.

4. Ening Wiedosari, 2007. *Peranan Immunomodulator Alami (Aloe vera) dalam Sistem Imunitas Seluler dan Humoral*. Wartazoa vol 17 NO 4.
5. Gunarti dan Yunan J, 2012. Kadar Hambatan Minimal (KHM), Kadar Bunuh Minimal (KBM) dan Integritas DNA *Streptococcus pneumoniae* *lytA*, dan *nanA* yang terpapar filtrate buah buni (*Antidesma bunius*). Laporan Risbinakes Tahun 2012.
6. Hernani dan Mono Raharjo. 2004. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta: Penebar Swadaya.
7. Ima Arum Lestari, 2008. Pengaruh Pemberian *Phyllanthus niruri* L terhadap respon imunitas seluler mencit balb/c yang diinfeksi dengan *Salmonella typhimurium*. Tesis Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang.
8. Karnen Garna Baratawidjaja, 2006. *Imunologi dasar*. Edisi -7. Balai penerbit FKUI Jakarta.
9. Kresno SB, 2001. *Imunologi: Diagnosis dan prosedur laboratorium*. Edisi ke-4. Balai Penerbit FKUI Jakarta.
10. Nurhidayati, 2009. Efek Protektif Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) terhadap Hepatotoksis yang diinduksi Karbon Tetraklorida (CCL4) Penelitian Eksperimental Pada Tikus Putih (*Rattus novergicus*). Tesis farmakologi. Universitas Airlangga.
11. Roitt Ivan, 2002. *Imunologi. Essential Immunology*. Edisi 8. Penerbit Widya Medika. Jakarta.
12. Sunarno, 2007. Efek *Phyllanthus niruri* L pada Prosentase Neutrofil, Koloni bakteri limpa, dan Histopatologi Hepar Mencit balb/C yang diinfeksi *Salmonella Typhimurium*. Tesis Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang.
13. Tizard, I.R. 2000. *Immunology : An Indroduction*. 6th Ed. New York:

- Saunders College Publishing, pp.98-161
14. Yunan J dan Iswidhani, 2012. Pengaruh Filtrat Buah Buni (*Antidesma bunius*) terhadap Kadar Hambatan Minimal (KHM), Kadar Bunuh Minimal (KBM) dan Perubahan Profil Resisten Methicillin. Laporan Risbinakes 2012.

