

## Profil Sel Timosit $CD4^+CD8^+$ Pada Mencit Yang Diinfeksi *Salmonella thypi* Setelah Diberi Ekstrak Daun *Moringa oleifera*

Akhmad Fathir, Widodo, \*Muhaimin Rifa'i

Jurusan Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Brawijaya Malang  
Email: rifa123@ub.ac.id  
\* Corresponding author

### Abstrak

*Moringa oleifera* merupakan tumbuhan yang kaya akan kandungan zat gizi maupun fitokimia. Tujuan dari penilaian ini untuk mengetahui profil sel timosit  $CD4^+CD8^+$  mencit yang diinfeksi *Salmonella thypi* setelah diberi ekstrak daun *M. oleifera*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium menggunakan rancangan acak lengkap faktorial. Mencit dibagi menjadi 2 grup yaitu grup non infeksi (diberi ekstrak daun *M. oleifera* dosis 0 mg/kg BB, 14 mg/kg BB, 42 mg/kg BB dan 84 mg/kg BB) dan mencit yang diinfeksi *S. thypi* (diberi ekstrak daun *M. oleifera* dosis 0 mg/kg BB, 14 mg/kg BB, 42 mg/kg BB dan 84 mg/kg BB). Hasil penelitian menunjukkan pemberian ekstrak daun *M. oleifera* dapat meningkatkan jumlah sel timosit  $CD4^+CD8^+$  pada kelompok mencit non infeksi maupun pada kelompok mencit diinfeksi *S. thypi*. Peningkatan tertinggi jumlah sel timosit  $CD4^+CD8^+$  terlihat pada pemberian ekstrak daun *M. oleifera* dosis 84 mg/kg BB.

Kata kunci:  $CD4^+CD8^+$ , *S. thypi*, *M. oleifera* Lam

### Abstract

*Moringa oleifera* has rich nutrients and phytochemicals. The study was aimed to know profile  $CD4^+CD8^+$  thymic cell in mice infected by *Salmonella thypi* after induction with aqueous leaf extract *M. oleifera*. The experimental laboratory studies were conducted using completely factorial randomized design. Mice were divided into two groups, ie groups non infection (induced by aqueous leaf extract of *M. oleifera*. dosage 0 mg/kg BW, 14 mg/kg BW, 42 mg/kg BW and 84 mg/kg BW) and groups infection with *S. thypi* (induced by aqueous leaf extract of *M. oleifera*. dosage 0 mg/kg BW, 14 mg/kg BW, 42 mg/kg BW). The result showed that aqueous leaf extract of *M. oleifera* increasing number  $CD4^+CD8^+$  thymic cell in all group of mice infected with *S. thypi*. The highest number of  $CD4^+CD8^+$  cell thymic present in mice treated with the leaf extract *M. oleifera* dosage of 84 mg/kg BW.

Key Words:  $CD4^+CD8^+$ , *S. thypi*, *M. oleifera* Lam

### PENDAHULUAN

Demam tifoid merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *S. thypi* dan masih menjadi masalah kesehatan di Indonesia. Baker *et al*, (2008) melaporkan kasus demam tifoid di Indonesia ditemukan sebesar 380-810 kasus per seratus ribu jumlah penduduk pertahun, dan dianggap sebagai penyebab kematian yang cukup tinggi.

Sistem imunitas tubuh yang secara tidak langsung memiliki peran dalam menjaga tubuh terhadap infeksi bakteri *S. thypi* adalah sel timosit  $CD4^+CD8^+$ . Sel T  $CD4^+CD8^+$  merupakan sel *double positif* yang terletak dilapisan luar timus (Verinaud *et al*, 2004). Sel

T *double positif*  $CD4^+CD8^+$  melalui tahapan *positive selection* dan *negative selection* berkembang menjadi sel *single positive*  $CD4^+$  atau  $CD8^+$  (Liu dan Remy, 2004; Schmitz, 2006; Smedt *et al*, 2011). Abbas dan Andrew (2011) menyebutkan, sel T  $CD4^+$  mengaktifkan fagosit untuk menghancurkan mikroba yang berada di vasikula, sedangkan sel T  $CD8^+$  membunuh sel yang terinfeksi mikroba yang berada di dalam sitoplasma. Rifa'i (2011) menjelaskan, perkembangan sel T  $CD4^+CD8^+$  dipengaruhi oleh faktor homeostasis maupun stimuli. Stimuli dapat berasal dari bahan-bahan alami dari luar tubuh yang memiliki kemampuan sebagai imunomodulator. Salah satu tumbuhan yang

diduga memiliki kemampuan sebagai imunomodulator adalah daun *M. oleifera*.

*M. oleifera* atau biasa disebut kelor merupakan tanaman yang dibudidayakan di negara-negara subtropis dan tropis seperti di Indonesia (Gaikwad *et al*, 2011). Tumbuhan *M. oleifera* disebut juga dengan tumbuhan serba guna atau “*the miracle tree of live*” karena bunganya, bijinya maupun daunnya memiliki kandungan fitokimia dan zat gizi yang sangat tinggi (Fashey 2005 dan Rajanandh dan Kavitha 2010). Hasil Penelitian Bamishaiye *et al*, (2011) menunjukkan hasil bahwa ekstrak daun *M. oleifera* memiliki kandungan saponin, flavonoid, tanin, caumarin antraquinon, alkaloid dan lain-lain. Kandungan saponin lebih tinggi menggunakan ekstrak air dibandingkan menggunakan ekstrak eter dan etanol. Hasil penelitian terbaru Sudha *et al*, (2010) dan Biswas *et al*, (2012) melaporkan bahwa, ekstrak daun *M. oleifera* memiliki peran sebagai imunostimulan karena dapat merangsang sistem imunitas tubuh, yang dibuktikan dengan adanya peningkatan aktivitas makrofag, pelepasan nitrit oksidase pada sel monosit tikus dan adesi neutrofil.

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui profil sel T CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> di timus mencit yang diinfeksi *S. thypi* setelah diberi ekstrak daun *M. oleifera* dan hasil dari penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi mengenai manfaat daun *M. oleifera* terhadap sistem imunitas terutama perkembangan sel T CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>.

## BAHAN DAN METODE

### Sampel penelitian

Penelitian menggunakan hewan mencit berjenis kelamin betina Galur DDY, diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gajah Mada (LPPT-UGM) Yogyakarta sebanyak 32 ekor. *S. thypi* yang digunakan dalam percobaan ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi PAMKI (Perhimpunan Ahli Mikrobiologi Klinik Indonesia) Cabang Malang Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dengan kode strain isolate 2016-D dengan nama ilmiah *S. thypi*. Adapun daun *M. oleifera* yang digunakan dalam pembuatan ekstrak diambil dari daerah Karduluk Kecamatan Pragaan Kabupaten Sumenep pada tanggal 21 Mei 2012 (musim penghujan).

### Ekstrak *M. oleifera*

Daun *M. oleifera* dikering-anginkan pada suhu ruang dan dibuat simplesia. Simplesia yang didapat dibuat ekstrak menggunakan metode infusa dengan cara, simplesia diambil sebanyak 5 g dicampur dengan aquades 50 ml dan dididihkan selama 15 menit, selanjutnya disaring menggunakan kertas saring. Ekstrak yang telah didapat dicampur dengan Na-CMC 0,5% dan digunakan sesuai dengan desain penelitian.

### Perlakuan hewan coba

Mencit yang sudah diaklimasi selama 7 hari dilakukan pengelompokan sesuai dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial. Mencit dalam percobaan ini dibagi menjadi 2 kelompok, meliputi kelompok non infeksi (diberi ekstrak daun *M. oleifera* 1 x sehari selama 20 hari) dan kelompok yang diinfeksi *S. thypi* (diberi ekstrak daun *M. oleifera* 1 x sehari, selama 20 hari dan pada hari ke 21 diinfeksi *S. thypi* dengan dosis 10<sup>8</sup> sel secara intra peritonial). Di dalam 2 kelompok tersebut, dibagi lagi menjadi 4 bagian yaitu sebagai kelompok kontrol (K- (tanpa diperlakukan)/ K+ (diinfeksi *S. thypi*)), kelompok perlakuan P1 (diberi ekstrak daun *M. oleifera* dengan dosis 14 mg/kg BB mencit), kelompok perlakuan P2 (diberi ekstrak daun *M. oleifera* dengan dosis 42 mg/kg BB mencit) dan kelompok perlakuan P3 (diberi ekstrak daun *M. oleifera* dengan dosis 84 mg/kg BB mencit).

Kelompok mencit yang diinfeksi *S. thypi*, pada hari ke 22 dilakukan uji konfirmasi untuk mengetahui keberhasilan *S. thypi* dalam menginfeksi mencit. Uji konfirmasi dilakukan menggunakan uji *pour plate* dan uji katalase (Dyszal *et al*, 2010).

Setelah hari ke 26 pasca perlakuan dilakukan proses pengorbanan mencit dengan dislokasi leher, selanjutnya dilakukan pembedahan dan dilakukan pengambilan organ timus. Organ timus digerus, disaring dan disuspensi dengan PBS, homogenat disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm pada suhu 4 °C selama 5 menit. Pellet disuspensi dengan PBS 1 ml. Homogenat yang diperoleh dipindahkan pada tabung mikrosentrifus baru dan ditambahkan PBS. kemudian disentrifus pada 2500 rpm dengan suhu 4 °C selama 5 menit dan diambil pelletnya.

Sel yang telah diisolasi dalam bentuk pellet ditambah antibodi rat *anti-mouse anti-CD4 FITC conjugated* dan *rat anti-mouse anti-CD8 PE conjugated* sebanyak 500 µl. Sel

tersebut selanjutnya ditambah PBS dan dilakukan uji *flow cytometry*. Adapun penghitungan jumlah total sel dilakukan menggunakan hemositometer dengan cara, suspensi sel hasil isolasi dalam PBS diwarnai dengan larutan pewarna *evans blue*. Sel yang dihitung adalah sel hidup yang tidak terwarnai oleh pewarna *evans blue*.

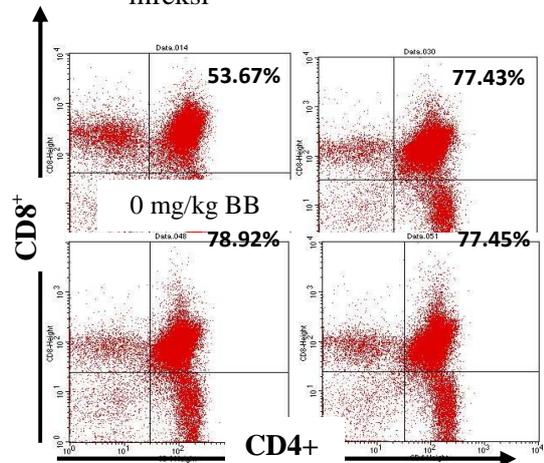
**Analisa data**

Data hasil *flow cytometry* dianalisis menggunakan perangkat lunak BD cellquest Pro™ dan dilanjutkan dengan analisa menggunakan uji *statistic two way ANOVA (analysis of variance)* signifikansi 0,05% pada program SPSS 16.0 dan apabila terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji Tukey.

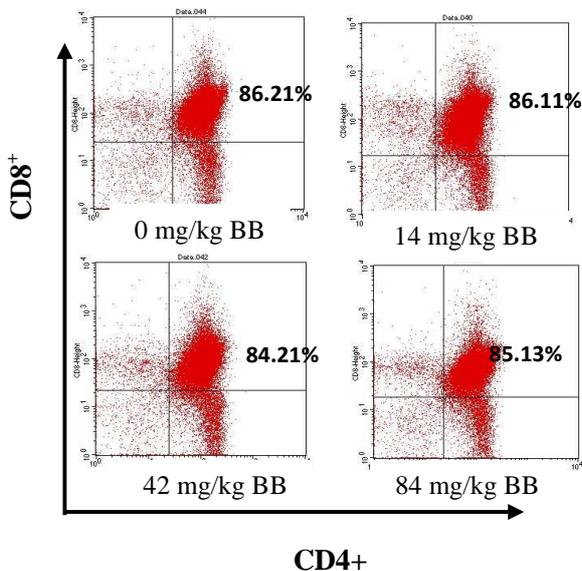
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa pemberian ekstrak daun *M. oleifera* dapat meningkatkan jumlah relatif sel T  $CD4^+CD8^+$  pada kelompok perlakuan mencit non infeksi (Gambar 1) maupun pada kelompok perlakuan mencit yang diinfeksi *S. thypi* (Gambar 2).

Gambar 1. Jumlah relatif sel timosit  $CD4^+CD8^+$  hasil *flow cytometry* pada kelompok perlakuan mencit non infeksi



Gambar 2. Jumlah relatif sel timosit  $CD4^+CD8^+$  hasil *flow cytometry* pada kelompok perlakuan mencit diinfeksi *S. thypi*



Berdasarkan penghitungan jumlah absolut sel didapatkan hasil bahwa pemberian ekstrak daun *M. oleifera* secara nyata dapat meningkatkan jumlah absolut sel T  $CD4^+CD8^+$  di timus mencit kelompok perlakuan non infeksi maupun pada kelompok perlakuan mencit yang diinfeksi *S. thypi* (Tabel 1).

Tabel 1. Jumlah absolut rata-rata sel T  $CD4^+CD8^+$  mencit

Dosis ekstrak	Kelompok Perlakuan	
	Non infeksi	Dinfeksi
0 mg/kg BB	2703930± 154054 <sup>a</sup>	9403117± 432053a
14 mg/kg BB	6673951± 290660 <sup>b</sup>	11450470± 399660 <sup>b</sup>
42 mg/kg BB	15682482± 397674 <sup>c</sup>	21368933± 761070 <sup>c</sup>
84 mg/kg BB	21099132± 632674 <sup>d</sup>	31058347± 237667 <sup>d</sup>

Keterangan: Huruf yang sama pada kolom yang sama menyatakan tidak berbeda nyata pada taraf signifikansi 0.05%

Peningkatan jumlah absolut sel tersebut paling tinggi terlihat pada pemberian dosis ekstrak daun *M. oleifera* 84 mg/kg BB yaitu dengan jumlah sel sekitar  $21 \times 10^6$  sel/ml untuk kelompok perlakuan mencit non infeksi dan untuk kelompok perlakuan mencit yang diinfeksi *S. thypi* dengan jumlah sel sekitar  $31 \times 10^6$  sel/ml.

Adapun peningkatan jumlah absolut sel tersebut, paling rendah terlihat pada dosis 14 mg/kg BB dengan jumlah sel sekitar  $66 \times 10^5$  sel/ml untuk kelompok perlakuan mencit non infeksi dan pada kelompok perlakuan mencit diinfeksi *S. thypi* jumlah sel sekitar  $11 \times 10^6$  sel/ml.

Terjadinya peningkatan jumlah absolut sel timosit tersebut pasca pemberian ekstrak daun *M. oleifera* diduga karena di dalam ekstrak tersebut terdapat senyawa aktif berupa flavonoid dan saponin yang mampu menstimuli sel untuk berdiferensiasi menjadi sel T CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>. Bertolini *et al.*, (1995) dan Messaoudene *et al.*, (2011) menjelaskan bahwa, pemberian flavonoid secara *in vivo* dapat meningkatkan jumlah IL-12 dan penambahan IL-12 secara *in vitro* dapat memicu CD34<sup>+</sup> untuk berproliferasi menjadi sel T CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>.

Tingginya peningkatan jumlah absolut sel T CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> pada kelompok perlakuan mencit yang diinfeksi *S. thypi* dibandingkan dengan kelompok perlakuan mencit non infeksi (Tabel 1), diduga karena adanya stimuli dari IL-12 untuk memicu peningkatan jumlah sel T CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> di timus, disebabkan karena sel yang mengalami infeksi lebih banyak membutuhkan sel T CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> dalam mengeliminasi *S. thypi* yang berada di dalam tubuh. Hasil penelitian Koebernick *et al.*, (2002) menyatakan bahwa, tikus yang terinfeksi *S. thypi* menunjukkan kecenderungan peningkatan produksi IL-12. Abbas dan Andrew (2011) menyebutkan, pada kasus infeksi terjadi peningkatan jumlah sel-sel efektor, sel-sel efektor tersebut dihasilkan untuk memerangi infeksi.

## KESIMPULAN

Pemberian ekstrak daun *M. oleifera* dapat meningkatkan jumlah sel T CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>.

## DAFTAR PUSTAKA

Abbas, K.A dan Andrew H. Lichman. 2011. *Basic Immunology 3e Updated Edition*. Philadelphia. Elsevier. 84-128.

- Bertolini, F., D. Soligo., Lorenza L., Chiara C., Federica S., dan Girolamo S. 1995. The Effect of Interleukin-12 In *Ex-Vivo* Expansion Of Human Haemopoietic Progenitors. *British Journal Of Hematology*. 4: 935.
- Baker S., K. Holt., E. Vosse. dan P. Roumagnac. 2008. High-Throughput Genotyping of *Salmonella enteric* Serovar Typhi Allowing Geographical Assignment of Haplotypes and Pathotypes Within an Urban District of Jakarta, Indonesia. *Journal Clinical Microbial*. 46 (5): 1741-1746.
- Bamishaiye, E.I. F.F., Olayemi, E.F., Awagu dan O.M. Bamshaiye. 2011. Proximate and Phytochemical Composition of *Moringa oleifera* Leaves at Three Stages of Maturation. *Journal of Food Science and Technology*. 3(4): 233-237.
- Biswas, S. K., A. Chowdhury., Joysre D., Ajoy R dan Zahid H. 2012. Harmacological Potentials of *Moringa oliefera* Lam. *International Journal Pharmaceutical Sciences and Research*. 3(2): 305-310.
- Dyszal, J L., J N Smith., Darren E L., Jitesh A S., Matthew C S., Mathew A V., Glenn M Y., dan Brian M.M.A. 2010. *Salmonella Enterica* Serovar Typhimurium Can Detect Acyl Homoserine Lactone Production By *Yersinia enterocolitica* In Mice. *Journal Of Bacteriology*. 192: 29-37.
- Fashey J W. 2005. *Moringa oleifera*: A Review Of The Medical Evidence For Its Nutritional, Therapeutic and Prophylactic Properties. *Journal Tress For Live* 1: 1-5.
- Gaikwad, Switi B., G. Krishna M., Kavitha J., dan Reddy. 2011. *Moringa Oleifera* Leaves: *Moringa oleifera* Leaves: Immunomodulation In Wistar Albino Rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 3: 426-430.
- Schmitz I., C. Meyer dan K Schulze O. 2006. CD95 Ligand Mediates T-Cell Receptor-Induced Apoptosis Of A CD4<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> Double Positive Thymic Lymphoma. *Original Article Oncogene* 25: 7587-7596.
- Koebernick H., Leander G., John R. D., Wolfgang R., Michael S. R., Hans W. M. C dan Stefan H.E.K. 2002. Macrophage Migration Inhibitory Factor

- (MIF) Plays a Pivotal Role In Immunity Against *Salmonella typhimurium*. *PNAS*. 99 (21): 13681-13686.
- Liu, X., dan R. Bosselut. 2004. Duration of TCR Signaling Controls CD4-CD8 Linage Differentiation in Vivo. *Article Natura Immunology*. 5: 280-288.
- Messaoudene, D., H. Belguendouz., Mohamed L. A., Tarek B., Fifi O., Malika T., Pierre Y dan Chafia T. B. 2011. Ex Vivo Effects of Flavonoids Extracted From *Artemisia Herba Alba* On Cytokines and Nitric Oxide Production in Algerian Patients With Adamantiades Ehcet's Disease. *Journal of Inflammation*. 8: 35.
- Rajanandh M.G dan Kavitha J. 2010. Quantitative Estimation of  $\beta$ -Sitosterol, Total Phenolic and Flavonoid Compounds in the Leaves of *Moringa oleifera*. *International Journal of PharmTech Research*. 2(2): 1409-1414.
- Rifa'i, M. 2011. *Autoimun dan Bioregulator*. Malang. UB press.
- Sudha P., S. Mohammed., Basheeruddin A., Sunil S.D. dan Gowda K.C. 2010. Immunomodulatory Activity of Methanolic Leaf Extract of *Moringa oliefera* in Animals. *Indian J Physiol Pharmacol*. 54 (2): 133-140.
- Smedt, M. D., Georges L., Bart V., Tessa K., Tom T., and Jean P. 2011. T-Lymphoid Differentiation Potential Measured In Vitro is HIGHER In CD34<sup>+</sup>Cd38<sup>-10</sup> Hematopoietic Stem Cell From Umbilical Cord Blood Than From Bone Marrow and Is An Intrinsic Property Of The CELL. *Hematologica*. 5: 98.
- Verinaud L., Paula C., De Souza S dan Vania N. B. 2004. Review Thymic Atrophy In Infectious Diseases. *Braz. J. morphol. Sci*. 21(2): 111-116.