



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa*)  
TERHADAP RESPON PROLIFERASI LIMFOSIT LIMPA MENCIT  
BALB/C YANG DIINFEKSI *Salmonella typhimurium***

**LAPORAN AKHIR PENELITIAN KARYA TULIS ILMIAH**

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh  
Program Pendidikan Sarjana  
Fakultas Kedokteran

**Disusun oleh :  
NUR KHASANAH  
G2A 005 143**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2009**

## HALAMAN PENGESAHAN

Laporan Akhir Karya Tulis Ilmiah

Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*)

Terhadap Respon Proliferasi Limfosit Limpa Mencit Balb/C yang Diinfeksi

*Salmonella typhimurium*

Telah diuji dan dipertahankan di hadapan tim penguji Karya Tulis Ilmiah

Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang pada tanggal

25 Agustus 2009

dan telah diperbaiki sesuai dengan saran-saran yang diberikan.

Tim Penguji,  
Ketua Penguji

dr. Hermina Sukmaningtyas, M.Kes, Sp.Rad  
NIP: 132 205 006

Penguji

Pembimbing

dr. Henny Kartikawati M.Kes, Sp.THT-KL  
NIP: 132 233 169

dr. Ratna Damma Purnawati, M.Kes.  
NIP: 131 916 037

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
DAFTAR ISI .....	iii
DAFTAR TABEL .....	vi
DAFTAR GAMBAR .....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
ABSTRAK .....	ix
BAB I       PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.3.1. Tujuan Umum .....	3
1.3.2. Tujuan Khusus .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
BAB II       TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 <i>Nigella sativa</i> .....	5
2.2 <i>Salmonella</i> .....	7
2.2.1 <i>Salmonella typhi</i> .....	7
2.2.2 <i>Salmonella typhimurium</i> .....	9
2.3. Demam Tifoid.....	11
2.3.1 Epidemiologi.....	11

2.3.2 Patogenesis.....	12
2.4 Respon imun terhadap infeksi .....	13
2.5 Limpa .....	15
2.6 Kerangka Teori .....	18
2.7 Kerangka Konsep.....	19
2.8 Hipotesis .....	19
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>20</b>
3.1 Ruang Lingkup Penelitian .....	20
3.2 Rancangan Penelitian .....	20
3.3 Populasi dan Sampel .....	20
3.3.1 Populasi .....	20
3.3.2 Sampel Penelitian.....	20
3.4 Variabel Penelitian .....	21
3.4.1 Variabel Bebas .....	21
3.4.2 Variabel Tergantung.....	21
3.5 Bahan dan Alat.....	22
3.5.1 Bahan.....	22
3.5.2 Alat .....	22
3.6 Data yang dikumpulkan.....	22
3.7 Cara Kerja.....	22
3.8 Definisi Operasional.....	24
3.8.1 Variabel Bebas .....	24
3.8.3 Variabel Tergantung.....	25

3.9 Analisis Data.....	25
3.10 Alur Penelitian .....	26
BAB IV HASIL .....	29
4.1 Berat Limpa .....	29
4.2 Jumlah Relatif Limfoblas .....	30
BAB V PEMBAHASAN .....	34
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN .....	37
6.1 Kesimpulan.....	37
6.2 Saran.....	37
DATAR PUSTAKA .....	37
LAMPIRAN	

## DAFTAR TABEL

- Tabel 1 Berat Limpa Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan
- Tabel 2 Rerata Jumlah Relatif Limfoblas Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan
- Tabel 3 Nilai p pada uji *Post hoc* Jumlah Relatif Limfoblas Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan

## DAFTAR GAMBAR

- Gambar 1      Boxplot jumlah relatif limfoblas
- Gambar 2      Foto preparat limfosit limpa perbesaran 400x
- Gambar 3      Foto preparat limfosit limpa perbesaran 1000x

## DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1    CARA PEMBUATAN EKSTRAK MINYAK BIJI *Nigella sativa*
- Lampiran 2    PROSEDUR ISOLASI SPLENOSIT
- Lampiran 3    PROSEDUR PEMERIKSAAN PROLIFERASI LIMFOSIT
- Lampiran 4    DOSIS KONVERSI *Nigella sativa*
- Lampiran 5    TABEL KONVERSI PERHITUNGAN DOSIS
- Lampiran 6    ALOKASI WAKTU PENELITIAN
- Lampiran 7    *DESCRIPTIVES* DAN ANALISIS DATA



**Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) terhadap  
Respon Proliferasi Limfosit Limpa Mencit Balb/C yang Diinfeksi  
*Salmonella typhimurium***

Nur Khasanah<sup>1</sup>, Ratna Damma Purnawati<sup>2</sup>

**ABSTRAK**

**Latar belakang:** Minyak *Nigella sativa* memiliki efek meningkatkan respon imun yang dimediasi sel T dan sel NK, ratio Th:Ts dan pertumbuhan sel B. Infeksi *Salmonella typhimurium* menimbulkan respon imun seluler berupa proliferasi limfosit. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian ekstrak *Nigella sativa* terhadap respon proliferasi limfosit limpa mencit Balb/C yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*.

**Metode:** Penelitian ini menggunakan “*Randomized Post Test Only Control Group Design*”. Sampel terdiri dari 36 ekor mencit Balb/C yang dibagi acak menjadi 6 kelompok: kelompok K(-) (hanya diberi pakan standar dan *polyethylene glycol*/PEG), K(+NS (diberi ekstrak *N. Sativa* 5.2 mg/hari), K(+ST (diinfeksi *S. typhimurium*), P1,P2 dan P3 masing-masing diberi ekstrak *N. sativa* 0.52 mg/hari, 5.2 mg/hari dan 52 mg/hari serta diinfeksi *S. typhimurium*. Ekstrak *N. sativa* dilarutkan dalam PEG dan diberikan selama 15 hari, *S. typhimurium* diinjeksikan pada hari ke-11, pada hari ke-16 dilakukan dekapitasi mencit, dan dilakukan pemeriksaan berat limpa dan jumlah limfoblas per 200 sel limpa. Data diuji dengan uji *Anova*.

**Hasil:** Hasil uji statistik *Anova* menunjukkan terdapat perbedaan bermakna jumlah relatif limfoblas antara kelompok K(-) dengan K(+NS, K(+ST, P1,P2,dan P3; antara K(+NS dengan P1 dan P2; antara K(+ST dengan P1 dan P2; antara P1 dengan P3; serta antara P2 dengan P3 ( $p < 0.05$ ).

**Kesimpulan:** Pemberian ekstrak *N. sativa* dosis 0.52 mg dan dosis 5.2 mg lebih efektif dari pada dosis 52 mg dalam meningkatkan jumlah relatif limfoblas mencit Balb/C yang diinfeksi *S. typhimurium*. Terdapat penurunan jumlah relatif limfoblas sesuai kenaikan dosis ekstrak *N. Sativa*.

**Kata kunci:** *Nigella sativa*, proliferasi limfosit, *Salmonella typhimurium*

---

<sup>1</sup> Mahasiswa Fakultas Kedokteran UNDIP

<sup>2</sup> Dosen Bagian Histologi Fakultas Kedokteran UNDIP

***The Effect of Black Seed (Nigella sativa) Extract  
on Lymphocyte Proliferation Response of Balb/C Mice Spleen  
Infected by Salmonella typhimurium***  
Nur Khasanah<sup>1</sup>, Ratna Damma Purnawati<sup>2</sup>

**ABSTRACT**

**Background:** *Nigella sativa* oil had beneficial immunomodulator effects; raised NK cell and T cell mediated immune response, Th:Ts ratio, B cell growth, and stimulated macrophage activation. *Salmonella typhimurium* infection made cellular immune responses; lymphocyte proliferation and macrophage phagocytosis. This research is aimed to know the effect of *Nigella sativa* extract on lymphocyte proliferation response of Balb/C mice spleen infected by *Salmonella typhimurium*.

**Method:** This study was an experimental study with randomized post test only control group design. The samples were 36 male Balb/C mice, randomly divided into 6 groups. Group K(-) (treated with standard diet only and polyethylene glycol/PEG), K(+)*NS* (received *N. sativa* extract 5.2 mg/day), K(+)*ST* (infected with *S.typhimurium* and received PEG), group P1, P2 and P3 each received *N. sativa* extract 0.52 mg/day, 5.2 mg/day, extract 52 mg/day, and infected with *S.typhimurium*. *N.sativa* was solvened with PEG and given for 15 days. The termination was done on the day 16<sup>th</sup>, then the spleen weight and the number of lymphoblast were being measured. Data was tested with Anova.

**Result:** The Anova Test showed that there were significant differences between K(-) and K(+)*NS*, K(+)*ST*, P1, P2, P3; between K(+)*NS* and P1, P2; between K(+)*ST* and P1, P2; between P1 and P3; between P2 and P3 ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** *N. sativa* extract doses 0.52 mg and 5.2 mg, per day has increase the lymphocyte proliferation in spleen of Balb/C mice infected with *S.typhimurium* better than doses 52 mg. Lymphoblast relative count decrease with the increasing of *N. sativa* doses.

**Keywords:** *Nigella sativa*, lymphocyte proliferation, *Salmonella typhimurium*

---

<sup>1</sup> Student of Medical Faculty Diponegoro University

<sup>2</sup> Histology Lecture of Medical Faculty Diponegoro University

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1. Latar Belakang

*Nigella sativa* (*N. sativa*) merupakan tanaman obat yang dikenal di Indonesia dengan nama jintan hitam.<sup>1</sup> Biji dan minyak esensial jintan hitam (*Nigella sativa* L.) telah banyak digunakan dalam pengobatan tradisional.<sup>2</sup>

Banyak penelitian yang telah membuktikan efek ekstrak *Nigella sativa*. Dalam berbagai penelitian, minyak biji jintan hitam menunjukkan khasiat sebagai antikanker, antiradikal bebas dan immunomodulator, analgesik, antimikroba, antiinflamasi, spasmolitik, bronkhodilator, hepatoprotektif dan antihipertensi.<sup>2,3</sup> Efek antibakterial *fenolic fraction* minyak *Nigella sativa* pertama kali dilaporkan oleh Topozada et al. Thymohydroquinone kemudian diisolasi dan ditemukan memiliki aktivitas tinggi melawan mikroorganisme gram positif, sementara ekstrak *Nigella sativa* sendiri ditemukan memiliki efek terhadap organisme multiresisten, termasuk bakteri gram positif dan gram negatif.<sup>4</sup>

Thymoquinone merupakan zat aktif utama *volatile oil* dari ekstrak *Nigella sativa* dan paling berperan dalam aktivitas biologinya. Dalam berbagai penelitian, minyak *Nigella sativa* dan zat aktifnya memiliki efek immunomodulator yang menguntungkan, yaitu meningkatkan respon imun yang dimediasi sel T dan sel NK.<sup>5</sup> *Nigella sativa* juga meningkatkan ratio Th:Ts.<sup>6</sup> Pada penelitian lain telah dibuktikan bahwa minyak *Nigella sativa* meningkatkan pertumbuhan sel B melalui peningkatan IL-3, serta merangsang aktivitas makrofag dengan peningkatan IL-1 $\beta$ .<sup>7</sup>

Pada infeksi karena bakteri intrasel, tubuh mengadakan respon imun, berupa kerjasama antara repon imun alami oleh sel NK, serta respon imun buatan oleh limfosit.<sup>8</sup> Respon imun ini terjadi melalui mekanisme imunitas yang diperantarai sel T yang mengaktifkan makrofag.<sup>9</sup> Sel T juga berperan membunuh sel terinfeksi melalui mekanisme lisis oleh CTLs.<sup>8</sup> Pada gambaran darah tepi sering ditemukan sel limfosit yang teraktivasi.<sup>10</sup>

*Salmonella typhi* merupakan bakteri gram negatif, fakultatif anaerobik, berbentuk batang nonspora.<sup>11</sup> Bakteri ini menyebabkan penyakit demam tifoid. Sering dijumpai pembesaran limpa (hipertrofi dan hiperplasia) akibat proliferasi limfosit di pulpa merah serta infiltrasi neutrofil dan makrofag ke dalam limpa.<sup>10</sup>

Port d'entre *Salmonella typhi* adalah usus, dengan cara penularan fekal-oral melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi.<sup>12</sup> Selain *Salmonella typhi*, terdapat serovar *Salmonella enterica* yang sebenarnya menyebabkan masalah kesehatan lebih besar, namun tidak banyak diketahui secara luas, yaitu *Salmonella typhimurium*. Kuman ini menyebabkan gastroenteritis. Di Amerika Serikat, *Salmonella typhimurium* merupakan serovar *Salmonella* yang paling sering menyebabkan salmonellosis.<sup>11</sup>

Demam tifoid merupakan penyakit yang disebabkan *Salmonella typhi*, yang menyebabkan masalah kesehatan serius di negara-negara berkembang. Di dunia tercatat 17 hingga 22 juta kasus per tahun, dan 216.000-600.000 angka kematian disebabkan oleh penyakit ini.<sup>13</sup> Di daerah endemis, insidens tertinggi pada anak-anak usia 5-19 tahun.<sup>14</sup>

Dengan berlatar belakang hal tersebut, penelitian ini bermaksud mengetahui efek pemberian ekstrak minyak *Nigella sativa* pada proliferasi limfosit mencit Balb/C yang diinfeksi bakteri intraseluler, yaitu *Salmonella typhimurium*.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak minyak *Nigella sativa* terhadap respon proliferasi limfosit limpa mencit Balb/C yang diinfeksi dengan *Salmonella typhimurium*?

## **1.3. Tujuan Penelitian**

### **1.3.1. Tujuan Umum**

Tujuan umum dalam penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pemberian ekstrak minyak *Nigella sativa* terhadap respon proliferasi limfosit limpa mencit Balb/C yang diinfeksi dengan *Salmonella typhimurium*.

### **1.3.2. Tujuan Khusus**

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah

1. membandingkan berat limpa pada mencit kelompok perlakuan dosis bertingkat dengan mencit kelompok kontrol.
2. membandingkan jumlah relatif limfoblas limpa pada mencit kelompok perlakuan dosis bertingkat dengan mencit kelompok kontrol.

3. Menentukan dosis efektif *Nigella sativa* yang dapat meningkatkan respon proliferasi limfosit limpa.

#### **1.4. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai:

- a. menambah pengetahuan tentang efek pemberian ekstrak minyak *Nigella sativa* terhadap proliferasi limfosit limpa mencit Balb/C yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*
- b. bahan informasi untuk melakukan penelitian lanjutan tentang berbagai manfaat *Nigella sativa*.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 *Nigella sativa*

*Nigella sativa* Linn. merupakan tanaman berbunga tahunan, bagian dari keluarga Ranunculaceae ( buttercup ), biasa disebut jintan hitam.<sup>15</sup> Umumnya mudah tumbuh di benua Eropa ( tepatnya di Eropa timur bagian tengah ). *Nigella sativa* juga banyak ditemukan di sepanjang dataran Pakistan sampai dengan India, namun asalnya secara umum dari daerah Turki dan Italia.<sup>7</sup> Tanaman ini berbatang tegak, biasanya berusuk, serta berbulu kasar yang kadang-kadang rapat atau jarang. Daun jintan hitam berbentuk lanset dan bergaris dengan panjang 1,5-2 cm, ujung meruncing, serta memiliki tiga tulang daun yang berbulu. Bunganya memiliki lima kelopak bunga dengan bentuk bulat telur, biasanya berwarna biru pucat atau putih. Bagian tanaman yang biasa dimanfaatkan adalah bijinya. Biji jintan hitam kecil dan pendek ( panjangnya hanya 1-3mm ), berwarna hitam, berbentuk trigonal, tampak seperti batu api jika diamati dengan mikroskop. Biji-biji ini berada dalam buah yang berbentuk bulat telur atau agak bulat.<sup>16</sup>

Taksonomi *Nigella* <sup>15</sup>

*Kingdom* : Plantae  
*Division* : Magnoliophyta  
*Class* : Magnoliopsida  
*Order* : Ranunculales  
*Family* : Ranunculaceae

*Genus* : Nigella

*Species* : *N. sativa*

*Nigella sativa* juga dikenal dengan nama-nama lain, seperti : *Black cumin* atau *Fitch* (dari kitab Injil), *Black seed* atau *Love in the Mist* atau *Black carraway seed* atau *Habbatul Barka* (Inggris dan Amerika Serikat), *Kalonji*, *Azmut*, *Gurat*, *Aof*, dan *Aosetta* (Urdu, Hindi, Srilangka), serta *Syuniz/Shinaiz*, *Al-Habbah Al-Sawda*, *Habbet el-baraka* dan *Khondria* (Persia dan Pakistan).<sup>7</sup>

Pada awalnya, *Nigella sativa* ditemukan di makam Tutankhamen, tempat raja-raja dimakamkan bersama-sama pada masa itu, di negeri Yunani kuno. Di Negara-negara benua Asia, tanaman ini juga sering dipakai dalam pengobatan tradisional, terutama untuk mengangkat derajat kesehatan dan pengobatan pada banyak penyakit ringan, seperti demam, flu, sakit kepala, asma, berbagai infeksi bakteri, infeksi cacing, serta dijadikan sebagai zat penambah penyedap masakan.<sup>7</sup>

*Nigella sativa* mengandung nutrisi, minyak esensial dan asam lemak. Komposisi nutrisi biji *Nigella sativa* yaitu: protein 21%; karbohidrat 35%; lemak 35-38%. Nutrisi yang dikandung biji jintan hitam dalam 100 g kadar air yaitu: energi 531 kcal; protein 20,8 g; thiamin 1,5 mg; riboflavin 0,1 mg; piridoksin 0,5 mg; niacin 5,7 mg; kalsium 185,9 mg; iron 10,5 mg; copper 1,8 mg; zinc 6 mg; phosphorus 526 mg; folacin 0,061 mg. Minyak *Nigella sativa* dengan komposisi minyak esensial 1,4% mengandung: carvone 21.1%;  $\epsilon$ -pinene 7.4%; sabinene 5.5%;  $\alpha$ -pinene 7.7%; P-cymene 46.8%; lain-lain 11.5%. Minyak *Nigella sativa* juga mengandung asam lemak, yaitu: *myristic acid* (C14:0) 0.5%; *palmitic acid* (C16:0) 13.7%; *palmitoleic acid* (C16:1) 0.1%; *stearic acid* (C18:0) 2.6%; *oleic*



*acid* (C18:1) 23.7%; *linoleic acid* (C18:2) (omega-6) 57.9%; *linolenic acid* (C18:3n-3) (omega-3) 0.2%; *arachidic acid* (C20:0) 1.3%. Asam lemak jenuh dan tak jenuh yang dikandung minyak *Nigella sativa* yaitu: *saturated acid* 18,1 %; *monounsaturated acids* 23,8 %; *polyunsaturated acids* 58,1 %.<sup>7,15,17</sup>

Bahan aktif yang terkandung dalam *Nigella sativa* antara lain thymoquinone, thymohydroquinone, dithymoquinone, thymol, carvacrol, nigellicine, nigellimine-N-oxide, nigellidine dan alpha-hedrin.<sup>5</sup>

Banyak penelitian yang membuktikan bahwa Thymoquinone, komponen utama dalam minyak esensial *Nigella sativa*, memiliki efek antiinflamasi, analgesik, antipiretik, antimikroba, proteksi terhadap nefrotoksisitas dan hepatotoksisitas karena penyakit lain dan obat-obatan, serta menurunkan tekanan darah.<sup>18</sup> *Nigella sativa* juga telah dibuktikan memiliki efek positif terhadap imunitas tubuh, yaitu meningkatkan ratio Th:Ts.<sup>6</sup> Selain itu *Nigella sativa* terbukti meningkatkan produksi IL-3 pada sel limfosit, serta IL-1 $\beta$  yang merangsang aktivitas makrofag.<sup>7</sup> Pada penelitian lain terbukti bahwa ekstrak *Nigella sativa* dan protein-protein yang terkandung di dalamnya dapat menghasilkan efek stimulator pada sistem imun tubuh yang sebanding dengan efek supresornya. Terjadi produksi TNF $\alpha$ , aktivasi sel-sel limfosit, serta peningkatan IL-1 $\beta$ .<sup>19</sup>

## **2.2 *Salmonella***

### **2.2.1 *Salmonella typhi***

*Salmonella* merupakan kuman bentuk batang, tidak berspora, pada pewarnaan gram bersifat Gram negatif, ukuran 1-3,5 um, besar koloni rata-rata 2-

4 mm, serta memiliki flagel peritrikh kecuali *Salmonella pullorum* dan *Salmonella gallinarum*.<sup>12</sup>

*Salmonella typhi* mudah tumbuh pada perbenihan biasa, tidak meragikan laktosa atau sukrosa, membentuk asam dan gas dari glukosa dan manosa, dan membentuk H<sub>2</sub>S. Bakteri ini dapat hidup dalam air beku untuk jangka waktu yang cukup lama, tahan terhadap bahan kimia tertentu, seperti *brilliant green*, *sodium tetrathionat* dan *sodium deoksikolat*, yang bersifat menghambat bakteri lain, sehingga senyawa tersebut sering ditambahkan pada media untuk mengkultur *Salmonella*.<sup>20</sup>

Seperti Enterobacteriaceae lain, *Salmonella* memiliki antigen O, antigen H serta antigen Vi. Antigen somatik O tahan terhadap pemanasan 100<sup>0</sup>C, alkohol dan asam. Antibodi yang dibentuk terutama IgM. Antigen flagel H rusak pada pemanasan di atas 60<sup>0</sup>C, alkohol dan asam. Antibodi yang dibentuk terutama IgG. Antigen Vi adalah polimer dari polisakarida yang bersifat asam, terdapat pada bagian paling luar dari badan kuman. Dapat dirusak dengan pemanasan 60<sup>0</sup>C selama 1 jam, serta pada penambahan fenol dan asam. Kuman yang memiliki antigen Vi lebih virulen terhadap binatang maupun manusia.<sup>12,20</sup>

*Salmonella sp.* menyebabkan berbagai macam infeksi, mulai dari gastroenteritis yang ringan hingga demam tifoid yang berat disertai bakteremia. Beberapa species *Salmonella*, seperti *Salmonella typhimurium*, menghasilkan enterotoksin yang termolabil. Toksin diduga berasal dari dinding sel/membrane luar. Sementara itu, kemampuan *Salmonella* untuk hidup intraseluler mungkin disebabkan adanya antigen permukaan ( antigen Vi).<sup>12</sup> Pada *Salmonella*

*typhimurium* tidak terdapat antigen Vi. Antigen ini berfungsi mereduksi pengeluaran IL-8, IL-8 sendiri berfungsi menginduksi PMN neutrofil. Hal tersebut menjelaskan mengapa pada awal infeksi *S. typhimurium*, sel radang yang mendominasi adalah sel PMN, sementara pada infeksi karena *S. typhi* didominasi MN.<sup>10</sup>

### **2.2.2. *Salmonella typhimurium***

*Salmonella enterica serovar Typhimurium* merupakan serovar *Salmonella* yang menyebabkan infeksi Salmonellosis terbanyak di Amerika Serikat. Pada manusia, Salmonellosis menyebabkan diare, demam, dan nyeri abdominal 12-72 jam setelah infeksi dan dapat berlangsung hingga 7 hari. Beberapa kasus memerlukan perawatan di rumah sakit. *Salmonella* ditransmisikan melalui feses manusia atau binatang. Insidensi Salmonellosis non-tifoid ( yang disebabkan *Salmonella enterica* ) meningkat secara tajam di berbagai belahan di dunia, menyebabkan peningkatan jumlah infeksi dan kematian pada manusia tiap tahunnya.<sup>21</sup>

Sequensi genom dari dua bakteri *Salmonella* ( *S. typhimurium* LT2 dan *S. enterica serovar Typhi* (*S. typhi* )), dapat memunculkan cara baru untuk mendiagnosa, mengobati, juga dalam pembuatan vaksin untuk kedua penyakit yang ditimbulkan. Dari genom juga dapat dimengerti mengapa kedua serovar ini memiliki sifat berbeda. *Typhimurium* secara umum tidak diketahui secara luas, namun dapat menimbulkan masalah kesehatan yang lebih besar dari tifoid. Pada sequence *Salmonella thyphimurium* ditemukan 50 gen yang mengkode protein permukaan.<sup>11</sup>

*Salmonella typhimurium* merupakan bakteri gram negative yang pathogen, predominan ditemukan pada lumen usus. Toksisitasnya berhubungan dengan membrane permukaan yang mengandung lipopolisakarida (LPS), yang berfungsi juga melindungi bakteri dari lingkungan sekitarnya. LPS tersusun atas antigen-O, inti polisakarida, dan lipid A, yang menghubungkannya dengan *outer membrane*. Lipid A tersusun dari dua *phosphorylated glucosamines* yang terikat dengan asam lemak. Grup fosfat ini menentukan toksisitas bakteri. Beberapa binatang mengeluarkan enzim yang memecah grup fosfat ini sebagai bentuk pertahanan dari patogenitas bakteri tersebut. Antigen-O, yang berada pada bagian paling luar dari kompleks LPS, bertanggung jawab dalam respon imun penjamu. *S. typhimurium* memiliki kemampuan mengendalikan antigen-O, yang berpengaruh pada perubahan konformasinya, sehingga antibody lebih sulit mengenali.<sup>21</sup>

*Salmonella typhimurium* menginfeksi dengan cara masuk secara langsung ke dalam sel nonfagosit. Kontak ini menginduksi terjadinya formasi pada permukaan sel bakteri berupa *appendages*. *Appendages* ini lebih pendek dibandingkan flagella namun lebih tebal dibandingkan flagella maupun pili. Kesemuanya menyebabkan pembentukan sitoskeleton penjamu sehingga bakteri dapat memasuki sel. Sistem membran ini berhubungan dengan 14 gen pada kromosom *S. typhimurium*. Gen *Inv* bertanggung jawab dalam pembentukan dan emisi *appendages*. Gen *Inv* harus mengalami kontak dengan sistem ini untuk bekerja. *InvC*, salah satu jenis gen ini bertanggung jawab pada ATPase yang menyediakan kebutuhan energi untuk melengkapi proses ini.<sup>21</sup>

*Salmonella typhimurium* menyebabkan gastroenteritis pada manusia dan mamalia lain. Ketika sel bakteri memasuki epitel usus, menyebabkan kerusakan mikrovili pada permukaan sel. Hal ini menyebabkan kenaikan jumlah sel darah putih ke mukosa, sehingga mengacaukan absorpsi dan sekresi, suatu proses yang mengarah pada diare. Pada muntah, *S.typhimurium* menyebabkan gejala yang sama dengan demam tifoid pada manusia.<sup>11,21</sup>

## **2.3. Demam Tifoid**

### **2.3.1. Epidemiologi**

Demam tifoid merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi*, yang gejala klinisnya berupa panas tinggi hingga gangguan kesadaran, anoreksia, malaise, nyeri otot, sakit kepala, batuk dan konstipasi. Dapat dijumpai pula bradikardi relative, pembesaran hati dan limpa, serta beberapa komplikasi. Komplikasi yang terjadi antara lain ensefalitis, hepatitis, serta komplikasi pada usus berupa perdarahan dan perforasi. Port d'entre *Salmonella typhi* adalah usus, dengan cara penularan fekal-oral melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi. Seseorang bisa menjadi sakit bila menelan organisme ini ; sebanyak 50% orang dewasa menjadi sakit bila menelan sebanyak  $10^7$  kuman. Dosis di bawah  $10^5$  tidak menimbulkan penyakit.<sup>12</sup>

Demam tifoid masih merupakan penyakit endemik di Indonesia. Kelompok penyakit menular ini dapat menimbulkan wabah. Surveilans Departemen Kesehatan RI, frekuensi kejadian demam tifoid di Indonesia pada tahun 1990 sebesar 9,2 dan pada tahun 1994 terjadi peningkatan frekuensi

menjadi 15,4 per 10.00 penduduk. Insidens demam tifoid bervariasi di tiap daerah, dan biasanya terkait masalah sanitasi lingkungan.<sup>22</sup>

*Case fatality rate* (CFR) demam tifoid di tahun 1996 sebesar 1,08% dari seluruh kematian di Indonesia. Namun demikian, berdasarkan Survei Kesehatan Rumah Tangga Departemen Kesehatan RI tahun 1995 demam tifoid tidak termasuk dalam 10 penyakit dengan mortalitas tertinggi.<sup>22</sup>

### **2.3.2. Patogenesis**

Masuknya kuman *Salmonella typhi* ke dalam tubuh manusia terjadi melalui makanan yang terkontaminasi oleh kuman. Sebagian kuman dimusnahkan di dalam lambung, sebagian lolos masuk ke dalam lumen usus, yang selanjutnya berkembang biak. Jika respons imun humoral usus kurang baik, kuman akan menembus epitel, terutama sel-M, dan selanjutnya di lamina propria kuman berkembang biak serta difagosit, terutama oleh makrofag. Kuman dapat hidup dan berkembang biak di dalam makrofag, dan selanjutnya dibawa ke plaque Peyer ileum distal kemudian ke kelenjar getah bening mesenterika. Selanjutnya melalui duktus torasikus, kuman yang terdapat di dalam makrofag ini masuk ke dalam sirkulasi darah (menyebabkan bakteremia pertama yang asimtomatik) dan menyebar ke seluruh organ retikuloendotelial tubuh terutama hati dan limpa. Di organ-organ ini kuman meninggalkan sel fagosit dan kemudian berkembang biak di luar sel, selanjutnya masuk ke dalam sirkulasi darah lagi, menimbulkan bakteremia kedua yang disertai tanda dan gejala penyakit sistemik.<sup>22</sup>

Masa inkubasi demam tifoid umumnya 1-2 minggu, namun dapat lebih singkat, yaitu 3 hari, atau lebih panjang, yaitu sekitar 2 bulan. Gejala klasik

penyakit ini adalah demam tinggi pada minggu ke-2 dan ke-3 sakit. Gejala lain yang menyertai, diantaranya anoreksia, malaise, nyeri otot, sakit kepala, batuk dan konstipasi. Juga sering ditemukan pembesaran hati dan limpa.<sup>12</sup>

#### **2.4. Respon imun terhadap infeksi**

Respon imun terhadap bakteri intraseluler meliputi sistem imun spesifik dan sistem imun nonspesifik. Respon imun nonspesifik dimulai dengan pengenalan komponen bakteri seperti LPS dan DNA, diikuti dengan pengambilan dan penghancuran bakteri oleh sel fagosit yang memfasilitasi proteksi host terhadap infeksi. Peran ini dilakukan oleh makrofag, sel NK dan neutrofil.<sup>12</sup>

System imun spesifik mempunyai kemampuan untuk mengenal benda yang dianggap asing. Terdiri dari imun spesifik humoral dan system imun spesifik seluler. Sistem imun spesifik humoral terutama diperankan oleh sel B atau Limfosit B, sedangkan sistem imun spesifik seluler diperankan oleh sel T.

Pematangan limfosit terjadi melalui proses yang disebut seleksi. Seleksi pematangan primer terjadi dalam organ limfoid primer. Sel diseleksi melalui interaksi dengan molekul MHC. Limfosit dengan seleksi positif akan masuk ke jaringan limfoid perifer (sekunder) untuk selanjutnya berproliferasi dan menjadi matang.<sup>23</sup>

Bila sel B dirangsang oleh benda asing, sel tersebut akan berproliferasi, berdiferensiasi dan berkembang menjadi sel plasma yang membentuk antibodi. Fungsi utama antibodi ini ialah pertahanan terhadap infeksi ekstraseluler, virus dan bakteri serta menetralisasi toksinnya.<sup>23</sup>

Limfosit T atau sel T berperan pada sistem imun spesifik seluler. Sel T terdiri dari beberapa sel subset dengan fungsi yang berlainan, yaitu Th1, Th2, T delayed type hypersensitivity, Cytotoxic T lymphocyte (CTL) atau Tcytotoxic dan Ts (supresor) atau Th3. Th1 dan Tdth berperan dalam reaksi hipersensitivitas lambat. Th2 merangsang sel B untuk meningkatkan produksi antibodi. CTL berfungsi membunuh sel yang terinfeksi. Ts berfungsi menekan aktivitas sel efektor T yang lain dan sel B.<sup>23</sup>

Fungsi utama sistem imun spesifik seluler adalah pertahanan terhadap bakteri yang hidup intraseluler, virus, jamur, parasit dan keganasan. Yang berperan pada imunitas seluler adalah sel CD4<sup>+</sup> yang mengaktifkan sel Th1 yang selanjutnya mengaktifkan makrofag untuk menghancurkan mikroba dan sel CD8<sup>+</sup> yang membunuh sel terinfeksi.<sup>23,24</sup>

Sel T diperlukan untuk ekspresi penuh imunitas terhadap bakteri intraseluler. Sel T dengan Cluster designation 4 (CD4) berfungsi dalam membantu aktivasi dan diferensiasi sel B.<sup>2</sup> Proteksi utama respons imun spesifik terhadap bakteri intraseluler berupa imunitas seluler, yang terdiri atas dua tipe reaksi, yaitu aktivasi makrofag oleh sel CD4<sup>+</sup>Th1 yang memproduksi IFN $\gamma$  (DTH) yang memacu pembunuhan mikroba dan lisis sel terinfeksi oleh CD8<sup>+</sup>/CTL. Makrofag yang diaktifkan sebagai respons terhadap mikroba intraseluler dapat pula menimbulkan kerusakan jaringan berupa granuloma yang terjadi pada DTH terhadap protein mikroba. Bakteri intraseluler yang dimakan makrofag dapat hidup dalam fagosom dan masuk dalam sitoplasma. CD4<sup>+</sup> memberikan respons terhadap peptide antigen-MHC-II asal bakteri intravesikuler, memproduksi IFN $\gamma$



yang mengaktifkan makrofag untuk menghancurkan mikroba dalam fagosom. CD8<sup>+</sup> memberikan respons terhadap peptide-MHC-I yang berasal dari antigen sitosol dan membunuh sel terinfeksi.<sup>23</sup>

Jika terdapat respon dari antigen serta faktor pertumbuhan yang disekresikan oleh limfosit yang teraktivasi dan sel-sel imun lain, akan terjadi pembelahan limfosit. Selain itu juga terdapat peningkatan jumlah sel yang disebut proliferasi. Limfosit akan berdiferensiasi menjadi sel efektor dan sel memori. Sel efektor, misalnya sel Th, CTL dan sel B yang mensekresi antibodi. Beberapa dari sel T dan sel B juga membentuk sel memori.<sup>8</sup>

## **2.5. Limpa**

Limpa merupakan kumpulan jaringan limfoid terbesar dalam organisme.<sup>25</sup> Pada orang dewasa normal, berat limpa kurang lebih 150 gram.<sup>26</sup> Limpa tampak merah-ungu karena kandungan darahnya. Terletak di abdomen kiri-atas, mempunyai konsistensi lunak, dan sebagian besar permukaan serosanya licin. Karena konsistensinya lunak, limpa mudah ruptur pada trauma tumpul.<sup>27</sup>

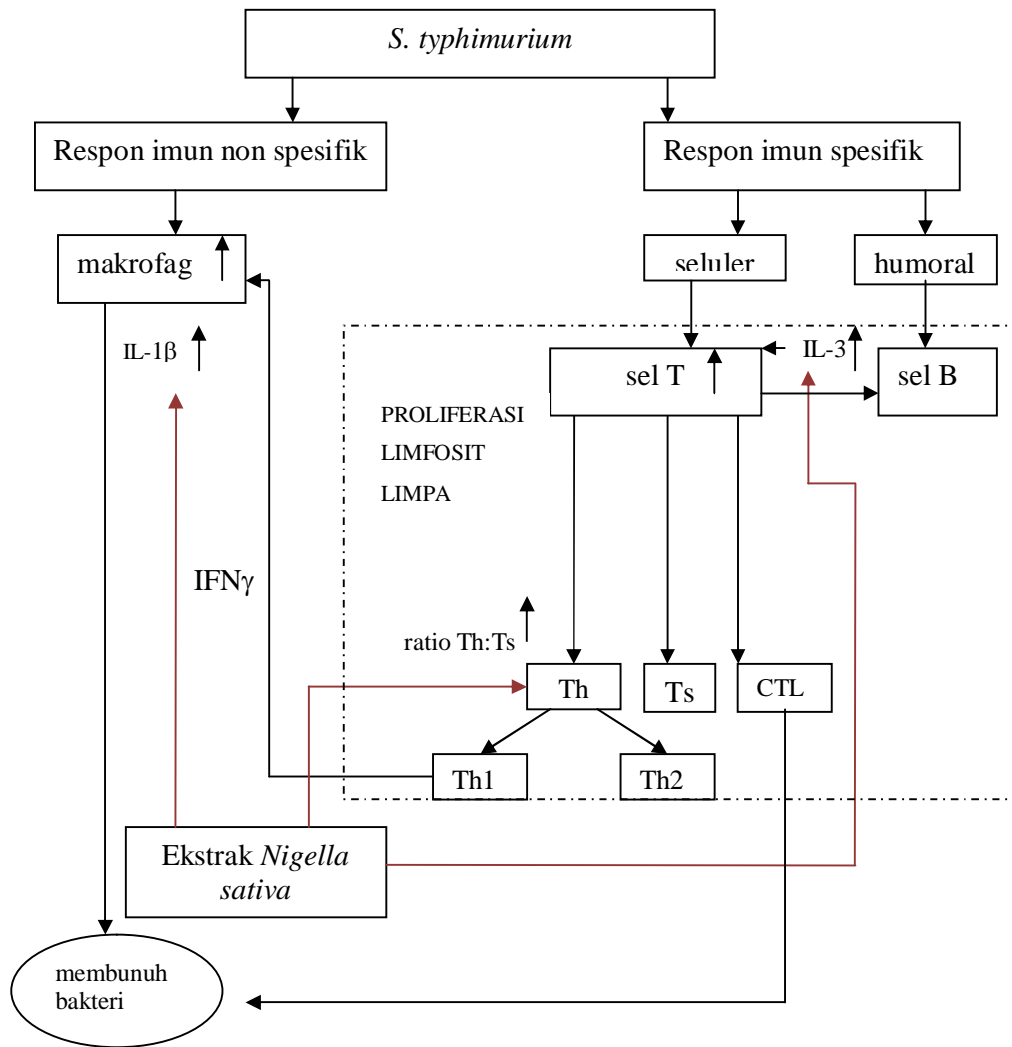
Fungsinya yang paling dikenal ialah membentuk limfosit, menghancurkan eritrosit serta mempertahankan organisme terhadap partikel asing yang masuk dalam aliran darah.<sup>25</sup> Dalam melakukan fungsi tersebut, limpa menghasilkan antibodi humoral terhadap antigen yang diangkut melalui darah. Selain itu, organ ini memiliki banyak makrofag yang berperan dalam destruksi sel darah merah yang sudah rusak. Makrofag juga bertugas menyalurkan debris yang beredar dan setiap bahan renik yang mungkin terdapat dalam darah.<sup>27</sup>

Secara histologis, limpa terdiri atas pulpa putih dan pulpa merah. Pulpa limpa ini menempati ruang antara trabekula dan simpai pembungkus limpa.<sup>27</sup> Pulpa putih terdiri atas jaringan limfoid yang menyelubungi arteri sentralis dan nodulus limfatikus yang ditambahkan pada selubung. Sel-sel limfoid yang mengelilingi arteri sentralis terutama adalah limfosit T. Nodulus limfatikus terutama terdiri dari limfosit B. Di antara pulpa putih dan pulpa merah terdapat zona marginalis terdiri atas banyak sinus dan jaringan ikat longgar. Dalam zona ini terdapat sedikit limfosit dan banyak makrofag aktif. Zona marginalis banyak mengandung antigen darah sehingga memiliki peran utama dalam aktivitas imunologis limpa. Banyak arteriol pulpa yang berasal dari arteri sentralis meluas keluar dan menjauhi pulpa putih tetapi kemudian membalik dan mencurahkan isinya ke dalam sinus-sinus dari zona marginalis yang mengelilingi nodulus. Akibatnya daerah ini berperan penting dalam menyaring sel darah dan melancarkan sel imun. Selain itu, sejumlah besar makrofag juga memindahkan debris antigenik. Zona marginalis tidak hanya memindahkan antigen tapi juga Limfosit T dan B yang dikeluarkan dari darah. Sewaktu limfosit keluar dari sirkulasi sistemik dan menerobos pulpa putih, mereka melewati sel dendritik dalam zona marginalis. Jika terdapat sel T, sel B dan antigen yang sesuai, maka timbul suatu respon imun. Sel B aktif bermigrasi ke pusat nodulus pulpa putih, kemudian menghasilkan sel plasma.<sup>25</sup>

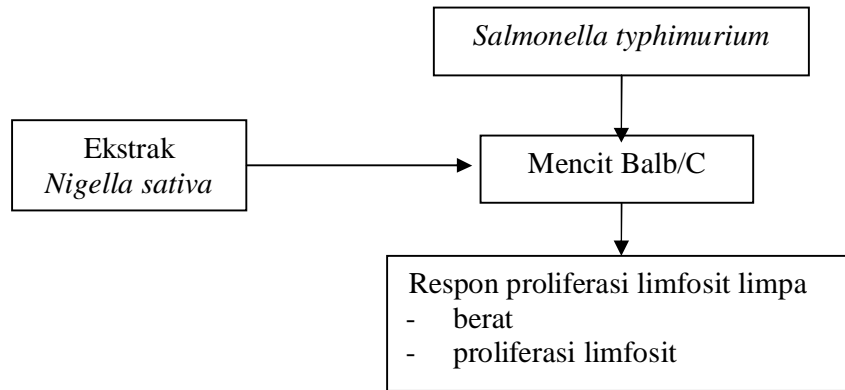
Proliferasi limfosit merupakan penanda adanya fase aktivasi dari respon imun tubuh. Proliferasi limfosit ini berupa peningkatan produksi limfoblas yang kemudian akan menjadi limfosit. Secara makroskopis dapat terlihat pembesaran

organ-organ limfoid. Limpa merupakan salah satu organ limfoid perifer dan bagian dari sistem imun. Infeksi Salmonella melibatkan limpa sehingga organ ini mengalami hipertrofi dan hiperplasia. Limpa menjadi lunak dan membengkak akibat proliferasi limfosit di pulpa merah serta infiltrasi neutrofil dan makrofag ke dalam limpa. Aktivasi limfosit limpa disebabkan oleh respon imun dan peran makrofag serta sel NK dengan dikeluarkannya sitokin, seperti  $IFN\gamma$  dan  $TNF\alpha$ .<sup>28</sup>

## 2.6. Kerangka Teori



## 2.7. Kerangka Konsep



## 2.8. Hipotesis

1. Pemberian ekstrak *Nigella sativa* berpengaruh meningkatkan berat limpa pada mencit kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.
2. Pemberian ekstrak *Nigella sativa* berpengaruh meningkatkan jumlah relatif limfoblas pada mencit kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.
3. Didapatkan dosis *Nigella sativa* yang efektif meningkatkan respon proliferasi limfosit limpa.