

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL
UMBI BIDARA UPAS (*Merremia mammosa*)
TERHADAP PROLIFERASI LIMFOSIT
DAN PRODUKSI ROI MAKROFAG**

Studi Eksperimental Infeksi *Salmonella Typhimurium* pada Mencit Balb/C

***THE EFFECT OF ETHANOL EXTRACT BIDARA UPAS TUBER
(Merremia mammosa) TO LYMPHOCYTES PROLIFERATION
AND ROI MACROPHAGE PRODUCTION
Experimental Study of Salmonella Typhimurium Infection In Mice Balb/C***



**Tesis
Untuk memenuhi sebagian persyaratan
Mencapai derajat Sarjana S-2**

Magister Ilmu Biomedik

**JON FARIZAL
22010110400005**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2012**

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL UMBI BIDARA UPAS
(*Merremia mammosa*) TERHADAP PROLIFERASI LIMFOSIT
DAN PRODUKSI ROI MAKROFAG
Studi Eksperimental Infeksi *Salmonella Typhimurium* Pada Mencit Balb/C**

disusun oleh

Jon Farizal
22010110400005

Telah dipertahankan di depan tim penguji
pada tanggal 15 Desember 2011
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,
Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

DR.dr.Winarto.,DMM.,Sp.MK.,Sp.M (K)
NIP.19490617 197802 1 001

Prof. dr.Lisyani B.Suromo., Sp.PK (K)
NIP.19440518 197105 2 001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Ilmu Biomedik
Program Pascasarjana Universitas Diponegoro

DR.dr. Winarto., DMM,Sp.MK.,Sp.M (K)
NIP. 19490617 197802 1 001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/ tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, Maret 2012

Penulis

RIWAYAT HIDUP

I. Identitas

Nama : Jon Farizal, S.ST
NIM Magister Biomedik : 22010110400005
Tempat tanggal lahir : Bengkulu Selatan, 15 Juni 1977
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Laki-laki

II. Riwayat Pendidikan

1. Sekolah Dasar : SDN 26 Curup Bengkulu
2. SMP : SMPN 6 Curup Bengkulu
3. SMA : SMAN 3 Curup Bengkulu
4. Perguruan Tinggi : D IV Keperawatan USU Medan
5. Program Pasca Sarjana : Magister Ilmu Biomedik UNDIP
Semarang

III. Riwayat Pekerjaan

1. Staf Dosen Poltekkes Kemenkes Bengkulu (2003 s/d 2005)
2. Dosen Poltekkes Kemenkes Bengkulu (2005 s/d Sekarang)

IV. Riwayat Keluarga

Nama Istri : Rini Patroni, S.ST
Nama Anak : 1. Zalfa Rahma Salsabila
2. Muhammad Nabil

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb

Puji Syukur Penulis panjatkan kehadiran ALLAH S.W.T atas rahmat dan karunia-NYA sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan Tesis ini sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan derajat kesarjanaan S-2 pada program studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro Semarang. Selesainya penyusunan Tesis ini merupakan karunia ALLAH S.W.T melalui niat dan usaha yang ikhlas serta bantuan dari berbagai pihak.

Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis menghaturkan ucapan terima kasih secara khusus kepada yang terhormat ;

1. Prof. DR. dr. Sudharto P. Hadi, MES, Ph.D, Rektor Universitas Diponegoro, atas kesempatan yang telah diberikan kepada penulis untuk melanjutkan pendidikan pada Program Pascasarjana Universitas Diponegoro.
2. Prof. DR. dr. Anies, M.Kes, PKK Direktur Pascasarjana Universitas Diponegoro, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melanjutkan pendidikan pada Program Pascasarjana Universitas Diponegoro.
3. DR.dr. Winarto.,DMM,Sp.MK,Sp.M (K), Selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro Semarang dan memberikan kemudahan selama proses pendidikan.
4. Prof. DR. dr. H.Tjahjono.,Sp.PA.(K) FIAC selaku pembimbing Pertama dan selaku Ketua Kosentrasi Patobiologi yang telah memberikan masukan, arahan bantuan dan dapat meluangkan waktu dalam proses bimbingan dengan baik yang sifatnya membangun.
5. Prof dr. Lisyani B. Suromo,Sp.PK (K), selaku pembimbing Kedua yang telah memberikan arahan dengan sabar dalam penyusunan Tesis ini.

6. DR. dr. Andrew Johan.,M.Si, dan dr Neni Susilaningsih.,M.Si selaku sekretaris bidang akademik dan keuangan Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro Semarang.
7. Kedua orang tuaku Ibunda tercinta Dewi Rajin dan ayahanda tercinta Berinhar MS,dan Ibunda Mertua Saudi dan Ayahanda Mertua Zubirsyah. Kakak-kakak, adik-adik, dan keponakanku yang tidak bisa di sebutkan satu persatu, yang telah membantu dan memberikan dorongan motivasi kepada penulis.
8. Istriku dan kedua anakku tercinta (Rini Patroni, Zalfa Rahma Salsabila dan Muhammad Nabil) yang telah memberikan cinta, kesetiaan, kasih sayang, semangat, dorongan motivasi, dan do'a nya yang tulus.
9. Direktur Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Bengkulu yang telah memberikan izin dan kesempatan mengikuti Program Pascasarjana, Program Studi Ilmu Biomedik di Universitas Diponegoro.
10. Seluruh Dosen Program Studi Ilmu Biomedik atas segala ilmu yang diberikan kepada penulis selama mengikuti perkuliahan.
11. Mbak Nata, Mbak Fika, dan Mas Abdul, selaku tenaga Administrasi pelaksana Program Pascasarjana pada Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro Semarang yang telah banyak membantu dalam kelancaran Perkuliahan.
12. Teman-teman Angkatan 2010 di Program Pascasarjana pada Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro Semarang, yang telah memberikan motivasi dan semangat hingga terselesaikan Tesis ini.
13. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu- persatu yang telah berkenan membantu dalam penyelesaian Tesis ini.

Penulis Menyadari bahwa penulisan Tesis ini masih jauh dari sempurna untuk itu penulis mengharapkan saran dan masukan serta koreksinya demi kesempurnaan Tesis ini. Kendatipun disadari banyak kekurangan dalam Penulisan Tesis ini, penulis berharap semoga Tesis ini dapat memberikan manfaat.

Semarang, Maret 2012

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR SINGKATAN	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
ABSTRACT	xvii
BAB I PENDAHULUAN	
A. LATAR BELAKANG	1
B. RUMUSAN MASALAH	5
C. TUJUAN PENELITIAN	5
1. Tujuan Umum	5
2. Tujuan Khusus	5
D. MANFAAT PENELITIAN	6
E. KEASLIAN PENELITIAN	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. UMBI BIDARA UPAS	8
1. Klasifikasi umbi bidara upas	8
2. Kandungan Kimia dan Manfaat	9
B. LIMFOSIT	10
1. Organ Limpa	15
2. Faktor-faktor yang mempengaruhi proliferasi limfosit ..	17

C.	PRODUKSI ROI DAN AKTIVASI MAKROFAG.....	17
1.	Faktor-faktor yang mempengaruhi ROI.....	19
D.	<i>SALMONELLA TYPHIMURIUM</i>	21
1.	Aspek Bakteriologi	21
2.	Patogenesis <i>Salmonella typhimurium</i>	22
3.	Diagnosis Laboratorium <i>Salmonella typhimurium</i>	23
4.	Tanda dan Gejala Klinis mencit terinfeksi	23
BAB III	KERANGKA TEORI,KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS	
A.	KERANGKA TEORI.....	24
B.	KERANGKA KONSEP	25
C.	HIPOTESIS.....	25
BAB IV	METODE PENELITIAN	
A.	DESAIN PENELITIAN.....	26
B.	RUANG LINGKUP PENELITIAN.....	27
C.	POPULASI DAN SAMPEL	28
D.	VARIABEL PENELITIAN.....	30
E.	DEFINISI OPERASIONAL.....	30
F.	BAHAN DAN REAGEN	31
G.	ALAT PENELITIAN	32
H.	PROSEDUR PEMBUATAN EKSTRAK.....	32
I.	TEMPAT DAN WAKTU PENELITIAN	35
J.	PROSEDUR PENGUMPULAN DATA.....	35
K.	ALUR KERJA PENELITIAN.....	38
L.	PROSEDUR PEMERIKSAAN.....	39
M.	KODE ETIK PENELITIAN	42
N.	ANALISA DATA.....	43

BAB V	HASIL PENELITIAN	
	A. DESKRIPSI HASIL PENELITIAN.....	44
	B. RESPON PROLIFERASI LIMFOSIT	44
	1. BERAT LIMPA.....	44
	2. JUMLAH LIMFOSIT	46
	3. JUMLAH RELATIF LIMFOSIT	48
	C. PRODUKSI ROI MAKROFAG	50
BAB VI	PEMBAHASAN	
	A. PROLIFERASI LIMFOSIT.....	53
	B. PRODUKSI ROI MAKROFAG	56
	C. KETERBATASAN PENELITIAN.....	57
BAB VII	KESIMPULAN DAN SARAN	
	A. SIMPULAN	58
	B. SARAN.....	58

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR SINGKATAN

Ab	: Antibodi
Ag	: Antigen
APC	: <i>Antigen presenting cell</i>
Th	: <i>T helper</i>
CTL	: <i>Citotoxic T lymphocyte</i>
DNA	: <i>Deoxyribo nucleotida acid</i>
FADD	: <i>Fas-associated death domain</i>
FasL	: <i>Fas ligand</i>
Fc	: <i>Fragment cristal</i>
NADPH	: <i>Nicotanamide adenin dinucleotida phosfat</i>
ICAM	: <i>Intercelullar adhesion molecule</i>
IFN- γ	: <i>Interferon-γ</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
IUCC	: <i>International Union Against Cancer</i>
LAK	: <i>Lymphokine activated killer</i>
MAF	: <i>Macrofag activating factors</i>
MIF	: <i>Minimum inhibitions consentration</i>
ROI	: <i>Reactive oxygen intermediate</i>
NO	: <i>Nitric oksidase</i>
MHC	: <i>Major histocompatibility complex</i>
MIB-1	: <i>Monoclonal antibody</i>
MIF	: <i>Migration inhibition factor</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear factor kappa B</i>
NK	: <i>Natural killer</i>
LPS	: <i>Lipopolisakarida</i>
ROS	: <i>Reactive oxygen species</i>
NOR	: <i>Nucleolar Organizer Regions</i>
PCNA	: <i>Proliferation cell nuclear antigens</i>

RTK	: <i>Receptor tirocine kinase</i>
TCR	: <i>T-cell receptor</i>
PBS	: <i>Phosphate buffer saline</i>
TIL	: <i>Tumor infiltrating lymphocyte</i>
RPMI	: <i>Roswell Park Memorial Institute</i>
RNI	: <i>Reactive nitrogen intermediate</i>
NOS	: <i>Nitric oksidase synthase</i>
TNF- α	: <i>Tumor necrotic factor-α</i>
TUNEL	: <i>Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated UTP-biotin nick end labeling</i>

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1 Hasil Analisis Berat Limpa	46
Tabel 5.2 Analisis <i>Post Hoc Test</i> Berat Limpa	47
Tabel 5.3 Hasil Analisis Jumlah Limfosit	47
Tabel 5.4 Analisis <i>Post Hoc Test</i> Jumlah Limfosit	49
Tabel 5.5 Hasil Analisis Jumlah Relatif Limfoblas	49
Tabel 5.6 Analisis <i>Post Hoc Test</i> Jumlah Relatif Limfoblas	50
Tabel 5.7 Hasil Analisis Produksi ROI Makrofag	51
Tabel 5.8 Analisis <i>Mann Whitney</i> Produksi ROI Makrofag	52

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Umbi bidara upas	10
Gambar 2.2 Klasifikasi Limfosit	12
Gambar 2.3 Interaksi ROI dan NO	21
Gambar 2.4 <i>Salmonella typhimurium</i>	23
Gambar 3.1 Kerangka Teori	25
Gambar 3.2 Kerangka Konsep	26
Gambar 4.1 Bagan Rancangan Eksperimen	27
Gambar 4.2 Bagan Alur Penelitian	39
Gambar 5.1 Grafik <i>Boxplot</i> Berat limpa	46
Gambar 5.2 Grafik <i>Boxplot</i> Jumlah Limfosit	48
Gambar 5.3 Grafik <i>Boxplot</i> Jumlah Relatif Limfoblas	50
Gambar 5.4 Grafik <i>Boxplot</i> Produksi ROI	51

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1.Foto Respon Proliferasi Limfosit di Limpa	64
Lampiran 2.Foto Produksi ROI Makrofag	65
Lampiran 3.Foto Perlakuan Mencit	68
Lampiran 4.Data Hasil Pemeriksaan Laboratorium	72
Lampiran 5.Hasil Analisis Statistik	73
Lampiran 6. <i>Ethical Clearance</i>	88
Lampiran 7.Hasil Determinasi Umbi bidara upas	89

ABSTRAK

Latar Belakang : Demam tifoid merupakan penyakit yang masih menjadi masalah di negara berkembang. *Salmonella typhimurium* adalah bakteri intraseluler fakultatif, maka sistem imunitas yang berperan yaitu sistem seluler. *Merremia mammosa* merupakan tanaman obat tradisional sebagai imunomodulator yang mengandung banyak senyawa aktif yang dapat memacu fungsi proliferasi limfosit dan produksi *reactive oxygen intermediate* (ROI) makrofag .

Tujuan : Membuktikan pengaruh ekstrak *merremia mammosa* terhadap peningkatan proliferasi limfosit dan produksi ROI makrofag mencit Balb/C yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*.

Metode : Jenis penelitian ini adalah eksperimental dengan rancangan *the post test only control group design* pada hewan coba mencit balb/c yang terdiri dari 24 ekor mencit jantan, dibagi menjadi 4 kelompok. (K) merupakan kelompok kontrol yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*, dan kelompok perlakuan (P1,P2,P3) yang diberi ekstrak *Merremia mammosa* dengan dosis bertingkat (0,32 mg, 1,6 mg, 8 mg) selama 13 hari yang diinfeksi dengan *Salmonella typhimurium* pada hari ke 6 sebanyak 10^5 . Pada hari ke14 dilakukan isolasi splenosit dan aspirat *peritoneal exudate cells* (PEC) dilanjutkan pemeriksaan poliferasi limfosit. Data diperoleh dari penghitungan jumlah relatif limfoblas setiap 200 sel pada area homogen dan pemeriksaan produksi ROI makrofag data diperoleh dari penghitungan persentasenya setiap 50 sel makrofag dan tentukan derajatnya.

Hasil : Rerata berat limpa kontrol lebih tinggi dari perlakuan (362,00 dan 160,00) dengan ($P= 0,000$), rerata jumlah limfosit kontrol lebih rendah dari perlakuan (700,00 dan 3700,00) dengan ($P = 0,000$), rerata jumlah relatif limfoblas kontrol lebih rendah dari perlakuan (73,80 dan 108,33) dengan ($P = 0,000$), sedangkan rerata produksi ROI makrofag kontrol lebih rendah dari perlakuan (1,640 dan 3,400) dengan ($P=0,005$).

Kesimpulan : Pemberian ekstrak *Merremia mammosa* dapat meningkatkan proliferasi limfosit dan produksi ROI makrofag secara bermakna.

Kata kunci : Proliferasi limfosit, Produksi ROI makrofag, *Merremia mammosa*, *Salmonella typhimurium*

ABSTRACT

Background: Typhoid is a disease that still becomes a problem in the developing countries. *Salmonella typhimurium* is a facultative intracellular bacterium; therefore, the immunity system playing the role in this case is the cellular system. *Merremia mammosa* is a traditional medicinal plant containing many active compounds that may accelerate the function of lymphocyte proliferation and production of reactive oxygen intermediate (ROI) of the macrophage.

Objective: To prove the influence of *Merremia mammosa* extract on the increase of lymphocyte proliferation and macrophage ROI production of Balb/C mice infected by *Salmonella typhimurium*.

Method: This research was an experimental research using the post test only control group design on the experimental animals of Balb/C mice, consisting of 24 male mice, and divided into 4 groups. (C) was the control group infected by *Salmonella typhimurium*, and the treatment groups (T1, T2, T3) were provided with *Merremia mammosa* extract with stepped dosages (0.32 mg, 1.6 mg, and 8 mg) for 13 days, infected by *Salmonella typhimurium* on the 6th day a much as 10^5 . On the 14th day, splenocyte and peritoneal exudates cells (PEC) isolations were conducted continued with the observation of lymphocyte proliferation. The data were collected from the counting of relative amount of lymphoblast in every 200 cells in the homogenous areas; and for the observation of macrophage ROI production, the data were collected from the calculation of the percentage in every 50 macrophage cells and the degrees are determined.

Results: The average mass of the control spleen was heavier than that of the treatment groups (362.00 and 160.00) with ($P = 0.000$); the average amount of control lymphocyte was lower than that of the treatment groups (700.00 and 3,700.00) with ($P = 0.000$); the average relative amount of control lymphoblast was lower than that of the treatment groups (73.80 and 108.33) with ($P = 0.000$); meanwhile, the average of macrophage ROI production of the control was lower than that of the treatment groups (1.640 and 3.400) with ($P = 0.005$).

Conclusion: *Merremia mammosa* extract is able to increase the lymphocyte proliferation and macrophage ROI production significantly.

Keywords: lymphocyte proliferation, macrophage ROI production, *Merremia mammosa*, *Salmonella typhimurium*