

PENGARUH TEH KOMBINASI BUNGA *EUPHORBIA MILII* DAN PROPOLIS TERHADAP JUMLAH NODULUS LIMFATIKUS DAN DIAMETER SENTRUM GERMINATIVUM PADA LIMPA MENCIT YANG DIINFEKSI *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

A.A.A. Biantari Apsari Trinaya¹, Ni Made Linawati², Ida Ayu Ika Wahyuniari², IGA Dewi Ratnayanti², IGK Nyoman Arijana², I Wayan Sugiritama², IGN Sri Wiryawan²

1. Program Studi Sarjana Kedokteran dan Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran

Universitas Udayana

2. Bagian Histologi, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

Email: aaabiantariapsaritrinaya@gmail.com

ABSTRAK

Tuberculosis merupakan penyakit infeksi yang dapat menimbulkan inflamasi yang diakibatkan ketidakmampuan makrofag membunuh bakteri. Hal ini mengaktifkan sitokin pro-inflamasi untuk aktivasi sistem imun didapat (sel T dan sel B). Aktivasi sel B merangsang pembentukan nodulus limfatikus yang melingkari selubung limfoid periarteriolar. Sel B berdiferensiasi menjadi sel plasma dan antibodi membentuk struktur sementara sentrum germinativum. Diameter sentrum germinativum dan jumlah nodulus limfatikus menjadi indikator teh kombinasi *Euphorbia milii* dan propolis sebagai imunomodulator. Propolis mengandung terpen, asam phenolat, dan *caffeoyl acid phenethyl ester* yang berfungsi sebagai imunomodulator. Glikosida triterpen Euphorbin menstimulasi aktivitas lisosom makrofag meningkatkan kadar IL-12 untuk proliferasi sel B dan sel T limpa sebagai pertahanan tubuh melawan patogen. Kandungan ekstrak *Euphorbia milii* dan propolis diharapkan dapat meningkatkan sistem imun pasien terinfeksi *M.Tb*. Rancangan penelitian berupa *post test only control group* dengan 24 sampel mencit dibagi 6 kelompok secara acak. Kelompok perlakuan diberikan teh kombinasi, sedangkan kontrol diberikan aquades. Mencit diinfeksi *M.Tb*, dilakukan terminasi dan pemeriksaan histopatologi limpa dengan pengecatan H.E. Dilakukan perhitungan jumlah nodulus limfatikus dan diameter sentrum germinativum. Teknik analisis data yang digunakan One Way ANOVA dan *Post Hoc* dengan LSD test. Berdasarkan hasil pemeriksaan histopatologi limpa mencit terdapat perbedaan signifikan jumlah nodulus limfatikus ($p=0,002$) dan diameter sentrum germinativum ($p=0,018$) antara kelompok yang diberikan teh kombinasi dengan yang diberikan aquades. Teh kombinasi *Euphorbia milii* dan propolis meningkatkan jumlah nodulus limfatikus dan diameter sentrum germinativum limpa mencit terinfeksi *M.Tb*. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan membedakan pemberian dosis untuk mengetahui dosis efektif.

Kata kunci: *Euphorbia milii*, Imunomodulator, *Mycobacterium tuberculosis*, Nodulus limfatikus, Propolis, Sentrum germinativum

ABSTRACT

Tuberculosis bacteria cause inflammation pro-inflammatory cytokines are activated the acquired immune system (T cells and B cells). B cells multiply to differentiate into plasma cells and antibodies to form a temporary structure called germinal centre. Diameter of germinal centre and number of lymph nodules are indicators of the tea combination *Euphorbia milii* and propolis as immunomodulators. Propolis acid and triterpene glycosides from Euphorbin stimulates macrophage lysosome activity to increase IL-12 levels, increase proliferation of B cells and T cells lymphocyte as the body's defense against pathogens. This study design use post-test only control group with 24 samples of mice divided randomly into 6 groups, the treatment for half group was given tea combination, the control was given placebo. *M. Tb* was infected to the mice and terminated after that, histopathological examination of the spleen used to see the number of lymphatic nodules and diameter germinal centre count. Data analysis techniques used One Way ANOVA and Post Hoc with LSD test. The results found, the number of lymphatic nodules ($p=0.002$) and diameter germinal centre ($p=0.018$), were have significant differences between the groups given tea combination and those who only given by aquades. The results showed that the tea combination of *Euphorbia milii* and propolis had an effect to increase the number of lymphatic nodules and the diameter of the spleen germinal centre of mice infected with *M. Tb*. Further research is needed to differentiate the dose.

Keywords: *Euphorbia milii*, Imunomodulator, *Mycobacterium tuberculosis*, lymphatic nodules, Propolis, germinal centre

PENDAHULUAN

Tuberculosis (TB) adalah penyakit menular yang disebabkan oleh *Mycobacterium Tuberculosis* (*M.Tb*). Jumlah kasus baru penderita TB di seluruh dunia mencapai 8,8 juta per tahun dengan angka 75% menginfeksi usia produktif. Indonesia termasuk dalam lima Negara jumlah penderita TB terbanyak dan berada pada peringkat kedua Dunia¹. Kasus TB di Indonesia mengalami peningkatan sebesar 117 per 10.000 penduduk atau sebanyak 298.128 kasus, sedangkan jumlah pasien TB di pulau Bali terhitung sebanyak 3.100 kasus². Penyakit ini mudah menginfeksi manusia, yaitu melalui udara yang terkontaminasi (*droplet*) bakteri *bacillus Mycobacterium tuberculosis*. Penanganan *M.tb* sudah tersedia di berbagai pelayanan kesehatan, namun angka kasus terinfeksi *M.tb* masih tinggi. Pengobatan *M.Tb* memiliki kekurangan seperti waktu terapi yang lama (4 sampai 6 bulan), tingkat kepatuhan konsumsi obat rendah, komplikasi, dan resistensi obat. Oleh karena itu, masih diperlukan alternatif lain dalam menanggulangi *M.Tb* seperti penggunaan obat tradisional.

Euphorbia milii merupakan tanaman hias yang memiliki berbagai manfaat. Tanaman ini digunakan warga China dan Brazil sebagai obat tradisional. Studi tentang aktivitas anti mikroba dari *Euphorbia milii* pernah dilakukan oleh peneliti India menggunakan *cup plate method*, menghasilkan zona perlambatan pertumbuhan yang cukup berpengaruh pada organisme gram positif (*Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*) dan organisme gram negatif (*Escherichia coli* dan *Proteus vulgaris*)³. *Euphorbia milii* mengandung senyawa aktif glikosida triterpen berfungsi sebagai imunomodulator. Senyawa tersebut bekerja menstimulasi aktivitas lisosom makrofag meningkatkan kadar IL-12, sehingga terjadi peningkatan proliferasi sel B dan sel T limpa sebagai pertahanan tubuh melawan patogen.⁴

Senyawa glikosida triterpen diharapkan dapat meningkatkan eliminasi bakteri *M.tb* oleh lisosom makrofag. Propolis memiliki manfaat yang sama seperti *Euphorbia milii*. Peneliti dunia banyak yang telah meneliti aktivitas imunomodulator propolis. Beberapa wilayah seperti Yunani, Egypt, dan Assyrians menggunakan propolis untuk mengobati luka, tumor, dan ruam. Propolis terbuat dari campuran resin yang dikumpulkan lebah madu dari tunas pohon, bunga dan sumber botani lain. Propolis merupakan bahan sterilisasi gerbang sarang lebah. Propolis digunakan sebagai antimikroba lokal seperti antibiotik dan antijamur, sebagai *emollient* untuk merawat kulit terbakar dan sebagai imunomodulator⁵. Imunomodulator adalah

substansi yang dapat memodulasi fungsi dan aktivitas sistem imun. Imunomodulator memiliki tiga fungsi utama, yaitu meregulasi sistem imun (imunoregulator), meningkatkan fungsi dan aktivitas sistem imun (imunostimulator), dan menekan atau menghambat respons imun yang tidak dibutuhkan. Propolis memiliki bahan aktif yang berperan sebagai imunomodulator yaitu ekstrak ethanol, triterpen, dan *cinamic acid*.

Propolis dapat berfungsi sebagai *natural killer* dengan cara meningkatkan produksi jumlah hidrolase lisosom untuk melawan sel tumor⁶. *Euphorbia milii* dan Propolis memiliki manfaat sebagai imunomodulator dengan fungsi spesifik sebagai imunostimulan sehingga memungkinkan untuk memberi manfaat pada kasus pasien terinfeksi *M.tb*. Tubuh yang terinfeksi *M.Tb* akan merangsang makrofag melawan bakteri *M.Tb* dengan menyelubungi bakteri, mengaktifkan sistem imun selular dan humoral. Respons imun primer dari fagositosis makrofag mensekresikan IL-12 yang akan menambah ukuran diameter pulpa putih pada limpa. Berdasarkan masalah tersebut maka dibutuhkan penelitian lebih lanjut mengenai gambaran histopatologi limpa yang terinfeksi *M.Tb* dan apakah kombinasi teh *Euphorbia milii* dan propolis dapat memberikan pengaruh terhadap gambaran histologi limpa mencit yang diinfeksi *M.Tb*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini berupa analitik eksperimental murni dengan rancangan *randomized post test only controlled group* yang sudah mendapatkan persetujuan dari komisi etik penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Udayana dengan nomor 1229/UN14.2.2/PD/KEP/2018. Mencit yang dipelihara dan digunakan pada penelitian ini adalah *Mus musculus* strain Balb/c dengan usia 6 sampai 8 minggu, jenis kelamin jantan, berat badan 20-30 gram, dan kondisi sehat. Terdapat 24 ekor mencit yang dikelompokkan menjadi 6 kelompok penelitian secara acak.

Persiapan Teh kombinasi bunga *Euphorbia milii* dan Propolis

Perkebunan bunga Ketewel di Gianyar merupakan tempat mendapatkan bunga *Euphorbia milii*. Bunga *E.milii* dipanen dalam keadaan segar, berwarna merah tua. Sebanyak 100 gram bunga *E.milii* dikukus dengan suhu 100°C selama 90 detik. didiamkan pada suhu ruangan selama 5 menit, dikeringkan dengan oven pada suhu 95°C selama 30 menit, kemudian bunga digiling menjadi bubuk teh. Bubuk bunga lalu diayak dengan ayakan 120 mesh. Pertanian lebah madu di daerah Plaga, Badung,

tempat mendapatkan sarang lebah madu yang akan dijadikan propolis. Sarang lebah madu seberat 100 gram direbus pada suhu 60 – 70°C hingga tala meleleh berwarna kehitaman. Bagian atas adonan diambil dengan menyerap menggunakan kertas saring kemudian diperas sehingga dihasilkan propolis. Teh dibuat dari campuran propolis dan bubuk bunga *Euphorbia milii*. Teh dimasukkan ke dalam kantong teh. Teh diseduh sebanyak 100 gr, dengan 200 ml air. Propolis sebanyak 100 gr dimasukan kedalam teh.

Persiapan suspensi bakteri *Mycobacterium tuberculosis*

Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* jenis H37Rv (ATCC27294) dikembangkan pada media cair Middlebrook 7H9 selama 2 minggu, diletakan di lemari pendingin -70 °C. Proses *thawing* pada suhu 37 °C, disonifikasi 10 detik agar homogen. Kuman berkonsentrasi 10⁵ bakteri per-mili pada 60µl diinokulasikan intranasal menggunakan mikropipet.⁷

Prosedur Penelitian

Kelompok kontrol 1 (K1) diberikan aquabidest selama 4 minggu, pada hari ke 28 diinfeksi M.Tb H37Rv 60µl (10⁵ bakteri perml) setelah 24 jam pasca infeksi dilakukan terminasi. Kelompok kontrol 2 (K2) diberikan aquabidest selama 4 minggu, pada hari ke 28 diinfeksi M.Tb H37Rv 60µl (10⁵ bakteri per ml) kemudian setelah 48 jam pasca infeksi dilakukan terminasi. Kelompok kontrol 3 (K3) diberikan aquabidest selama 4 minggu, pada hari ke 28 diinfeksi M.Tb H37Rv 60µl (10⁵ bakteri perml) kemudian setelah 7 hari pasca infeksi dilakukan terminasi. Kelompok perlakuan 1 (P1) diberikan Teh kombinasi *Euphorbia milii* dan propolis dosis 15mg/20grbb selama 4 minggu, pada hari ke 28 diinfeksi M.Tb H37Rv 60µl (10⁵ bakteri perml) kemudian setelah 24 jam pasca infeksi dilakukan terminasi. Kelompok perlakuan 2 (P2) diberikan Teh kombinasi *Euphorbia milii* dan propolis dosis 15mg/20grbb selama 4 minggu, pada hari ke 28 diinfeksi M.Tb H37Rv 60µl (10⁵ bakteri perml) kemudian setelah 48 jam pasca infeksi dilakukan terminasi. Kelompok perlakuan 3 (P3) diberikan Teh kombinasi *Euphorbia milii* dan propolis dosis 15mg/20grbb selama 4 minggu, pada hari ke 28 diinfeksi M.Tb H37Rv 60µl (10⁵ bakteri perml) kemudian setelah 7 hari pasca infeksi dilakukan terminasi.

Persiapan Jaringan Histopatologi Limpa

Tahap Pencucian (*washing*) dan *processing* Organ limpa diambil dari mencit yang telah diterminasi, dilakukan fiksasi dengan larutan PBS-formalin 10%. Kemudian dibawa ke bagian Histologi fakultas kedokteran universitas udayana

untuk dibuat preparat histologi organ limpa dan dilakukan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE). Respons imun limpa mencit kelompok kontrol dan perlakuan akan diamati berdasarkan jumlah nodulus limfatikus dan ukuran diameter sentrum germinativum. menggunakan mikroskop cahaya dari pembesaran 40 kali sampai 100 kali, dengan 5 lapangan pandang, dan dihitung rerata dari setiap lapangan pandang. Aplikasi *optilab viewer plus 2.2* digunakan saat mengambil gambar histologi limpa. Diameter sentrum germinativum diukur menggunakan aplikasi image raster yang telah dikalibrasi dengan satuan µm (mikrometer).

ANALISIS DATA

Data kuantitas Jumlah nodulus limfatikus mencit dan diameter Sentrum germinativum pada limpa di tabulasi, diuji normalitas dengan shapiro wilk dan homogenitas data dengan test levene. Data homogen dan berdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji *parametric one way ANOVA* ($p < 0,05$).

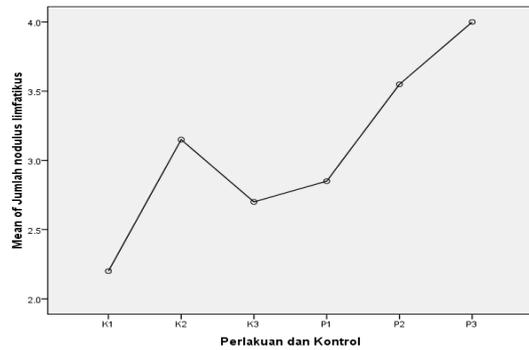
HASIL

Pengaruh Teh kombinasi *Euphorbia mili* dan Propolis Terhadap Jumlah Nodulus Limfatikus

Ditemukan, bahwa rerata jumlah nodulus limfatikus terbesar adalah 4,4 yang berada pada kelompok P3, disusul dengan 4,2 pada kelompok K2. Hasil lengkap dapat dilihat pada **tabel 1**.

Tabel 1. Hasil Uji Deskriptif Jumlah Nodulus Limfatikus Pada Limpa Mencit yang telah diinfeksi *M.Tb* pada masing-masing Kelompok

Kelompok	Sampel (n)	Min	Max	Mean	Standar Deviasi
Kontrol 1	4	1,6	2,6	2,20	0,489
Kontrol 2	4	2,6	4,2	3,15	0,718
Kontrol 3	4	2,2	3,2	2,70	0,416
Perlakuan 1	4	2,2	3,6	2,85	0,597
Perlakuan 2	4	3,2	4,0	3,55	0,341
Perlakuan 3	4	3,4	4,4	4,00	0,432
Total	24	1,6	4,4	3,07	0,750

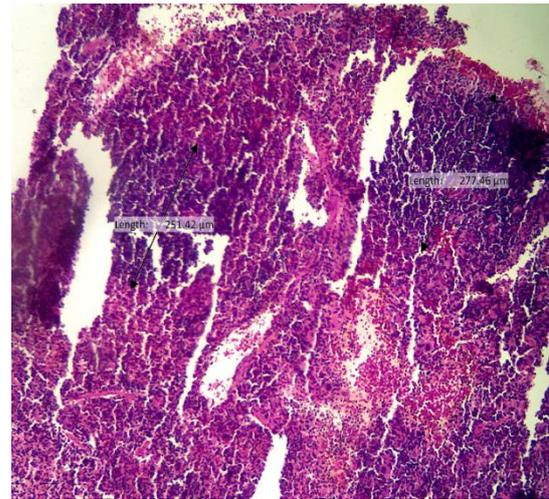


Gambar 1. Perbedaan Rerata Jumlah Nodus Limfatikus Mencit yang telah diinfeksi *M.Tb* pada Masing-Masing Kelompok . Tampak kelompok P3 memiliki rerata tertinggi karena pemberian teh dan perbedaan waktu terminasi

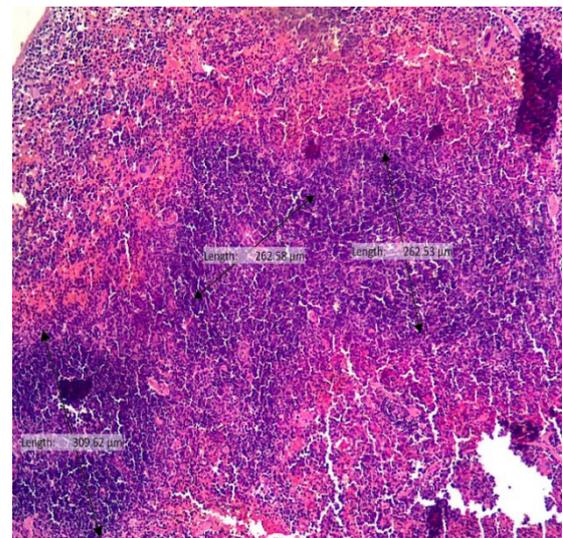
Peneliti menghubungkan perbedaan rerata setiap kelompok dengan uji *Post Hoc* anova, dan didapatkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok K3 dengan P3 ($p = -1,30$). Jumlah nodulus limfatikus pada kelompok P3 secara signifikan lebih banyak dibandingkan dengan kelompok K1, K2, K3, dan P1 sesuai dengan **tabel 1**. **Gambar 1** menunjukkan kelompok P3 memiliki rerata tertinggi karena pemberian teh dan perbedaan waktu terminasi, dengan jumlah nodulus maximum 4.4

Pengaruh Campuran Teh *Euphorbia mili* dan Propolis Terhadap Diameter Sentrum Germinativum

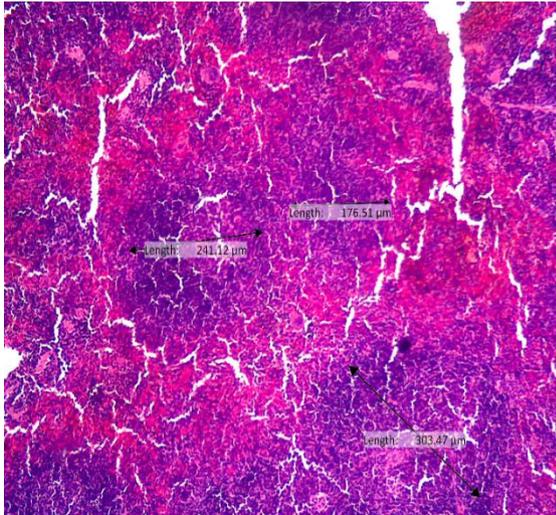
Parameter lain yang dilihat sebagai respons imunitas terhadap pemberian campuran teh *Euphorbia mili* dan propolis terhadap limpa mencit dengan paparan *M.Tb* adalah dengan melihat rerata diameter sentrum germinativum pada nodulus limfatikus yang nampak pada pemeriksaan histopatologi. Berdasarkan hasil uji deskriptif, nilai rerata diameter sentrum germinativum tertinggi terdapat pada kelompok P3 yaitu sebesar $302,97 \pm 21,24 \mu\text{m}$ disusul dengan kelompok P1 yaitu sebesar $284,53 \pm 14,69 \mu\text{m}$ data selengkapnya dapat dilihat pada **tabel 2**, Foto gambar histopatologi dapat dilihat pada **gambar 2**.



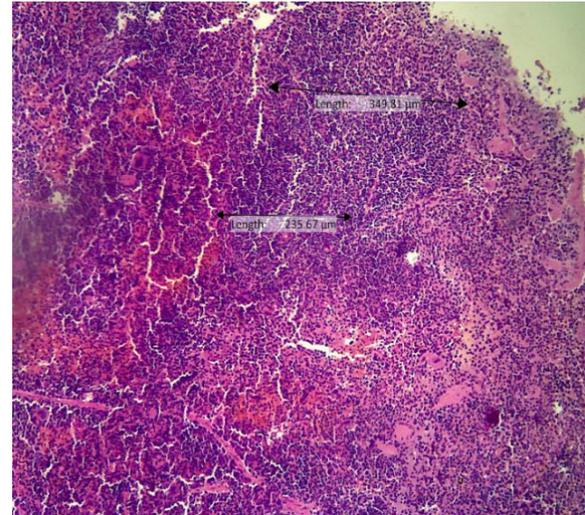
Gambar 2A. Histopatologi organ limpa mencit diinfeksi *M.Tb* kelompok K1 dengan aquades dan diterminasi setelah 24 jam pasca infeksi. Tampak 2 nodulus limfatikus dengan diameter kecil.



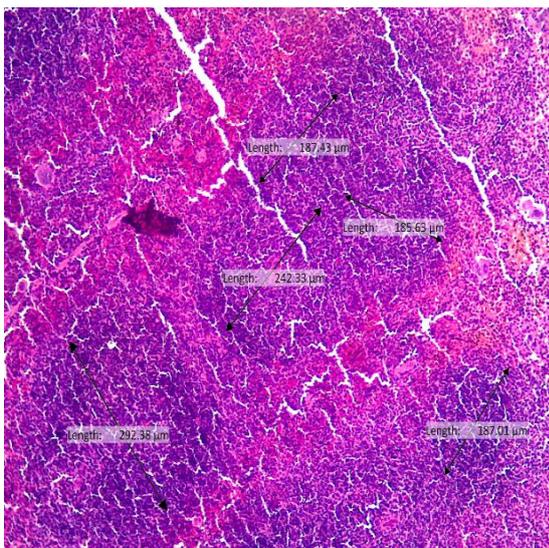
Gambar 2B. Histopatologi organ limpa mencit diinfeksi *M.Tb* kelompok P1 dengan teh kombinasi dan diterminasi setelah 24 jam pasca infeksi. Tampak 3 nodulus limfatikus dengan warna yang lebih gelap dibandingkan kelompok K1.



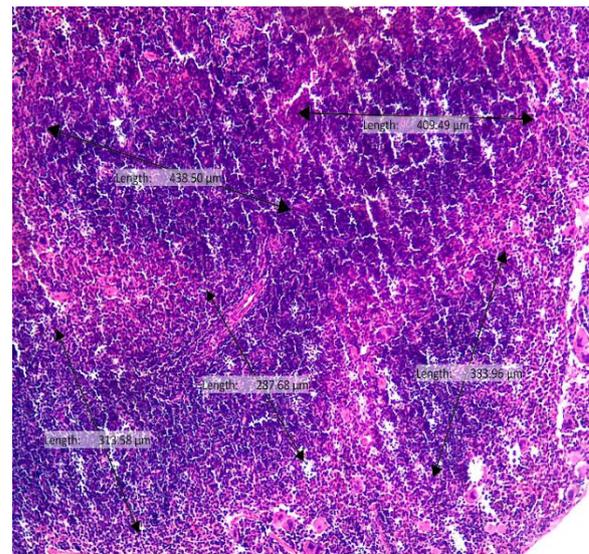
Gambar 2C. Histopatologi organ limpa mencit diinfeksi *M. Tb* kelompok K2 dengan aquades dan diterminasi setelah 48 jam pasca infeksi. Tampak 3 nodulus limfatikus dengan diameter yang tidak terlalu besar.



Gambar 2E. Histopatologi organ limpa mencit diinfeksi *M. Tb* kelompok K3 dengan aquades dan diterminasi setelah 7 hari pasca infeksi. Tampak 2 nodulus limfatikus yang terlihat samar tidak terlalu jelas, dengan diameter tidak terlalu besar.



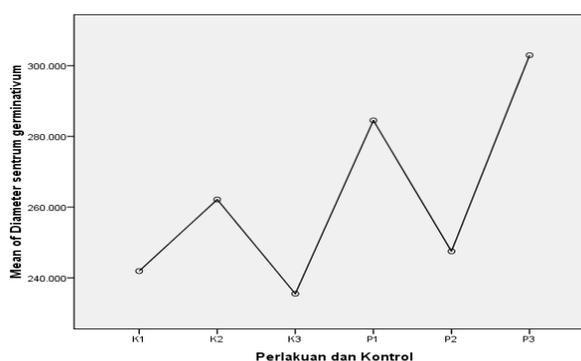
Gambar 2D. Histopatologi organ limpa mencit diinfeksi *M. Tb* kelompok P2 dengan teh kombinasi dan diterminasi setelah 48 jam pasca infeksi. Tampak 5 nodulus limfatikus dengan diameter yang agak besar, hampir sama pada setiap nodul.



Gambar 2F. Histopatologi organ limpa mencit diinfeksi *M. Tb* kelompok P3 dengan teh kombinasi dan diterminasi setelah 7 hari pasca infeksi. Tampak 5 nodulus limfatikus yang terlihat sangat jelas dengan warna sel-sel yang lebih gelap. Pemberian teh kombinasi pada kelompok ini menyebabkan pematangan sel imunitas paling aktif terlihat dari sentrum germinativum menunjukkan diameter yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok K1, K2, K3, P1 dan P2.

Tabel 2. Hasil Uji Deskriptif Rerata Diameter Sentrum Germinativum Pada Limpa Mencit diinfeksi *M.Tb* pada Masing-Masing Kelompok

kelompok	Sampel (n)	Min (µm)	Max (µm)	Mean (µm)	Standar Deviasi
Kontrol 1	4	233,72	254,64	241,91	9,20
Kontrol 2	4	225,48	321,52	262,16	41,50
Kontrol 3	4	218,28	269,90	235,49	23,35
Perlakuan 1	4	262,78	294,31	284,53	14,69
Perlakuan 2	4	209,56	302,34	247,49	39,27
Perlakuan 3	4	285,38	330,70	302,97	21,24
Total	24	209,56	330,70	262,42	34,70



Gambar 3. Kurva Menunjukkan Perbedaan dari Rerata Diameter Sentrum Germinativum Mencit diinfeksi *M.Tb* pada Masing-Masing Kelompok

Uji *Post Hoc* dilakukan untuk melihat perbedaan rerata pada masing-masing kelompok. Ditemukan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3) cenderung memiliki hasil diameter sentrum germinativum yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol (K1, K2, dan K3). Ditemukan perbedaan yang signifikan secara statistik pada K1 vs P1 ($p=0,042$) dan K3 vs P3 ($p=0,003$).

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil studi campuran teh *Euphorbia milii* dan Propolis secara umum menyebabkan peningkatan jumlah nodulus limfatikus dan diameter sentrum germinativum pada kelompok perlakuan yang diterminasi setelah tujuh hari pasca infeksi. Efek ini dilihat makin meningkat seiring dengan bertambahnya waktu yang diperlukan sebelum tikus diterminasi. Baik peningkatan jumlah nodulus limfatikus maupun diameter sentrum germinativum dianggap sebagai suatu respons imunitas dalam menghadapi serangan tertentu yaitu adanya hiperplasia limpa dalam rangka meningkatkan sel-sel fagosit untuk menghadapi antigen tertentu.⁸

Peneliti memperoleh terjadinya peningkatan jumlah nodulus limfatikus berdasarkan

proses pematangan imunitas yang terjadi pada sel-sel limfosit limpa, hal ini dibuktikan dari hasil penelitian pada kelompok perlakuan dengan teh kombinasi *Euphorbia milii* dan propolis yang diterminasi saat tujuh hari pasca infeksi. Hasil penelitian ini menunjukkan terdapat perbedaan rerata yang signifikan antara kelompok perlakuan yang diterminasi saat tujuh hari pasca infeksi dengan pemberian teh kombinasi *Euphorbia milii* dan propolis dengan kelompok kontrol yang diberikan aquades. Hal ini menunjukkan bahwa teh kombinasi *Euphorbia milii* dan propolis bekerja pada sel imun adaptif yang terbentuk akibat aktivasi kerja sel limfosit T dalam mengenali antigen bakteri *M.Tb* didalam sel, sehingga terjadi peningkatan jumlah nodulus limfatikus yang merupakan struktur sementara dari respons sel limfosit T. Hasil tersebut menunjukkan adanya efek imunomodulator aktivasi peningkatan sistem imunitas pada teh kombinasi *Euphorbia milii* dan propolis. Peningkatan sistem imunitas dapat ditandai dengan meningkatnya jumlah nodulus limfatikus. Hasil penelitian ini didukung studi yang dilakukan oleh Yuliani yang melihat efek pemberian antioksidan likopen terhadap mikroskopik limpa mencit *Sprague Dawley* menunjukkan peningkatan jumlah nodulus limfatikus seiring dengan penambahan dosis likopen dikarenakan adanya peningkatan aktivitas imun limpa yang meningkatkan proliferasi limfosit limpa sehingga akan meningkatkan jumlah dan ukuran limpa secara morfologi.⁹

Mencit yang mendapat asupan propolis menunjukkan bahwa zat yang terkandung dalam propolis dapat bertindak sebagai imunostimulan dengan mengaktifasi makrofag dan meningkatkan fagositosis makrofag. *Cinamic acid* yang terkandung didalam propolis dapat digunakan sebagai pertahanan tubuh dengan menstimulasi aktivasi sel limfosit T, meningkatkan sekresi IL-1 dan IL-2¹⁰. Berdasarkan hasil penelitian diatas ditemukan bahwa diameter sentrum germinativum kelompok perlakuan yang diterminasi 24 jam dan tujuh hari pasca infeksi memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol, namun hal tersebut tidak terjadi pada kelompok perlakuan yang diterminasi 48 jam pasca infeksi. Pada kelompok ini tidak didapatkan perbedaan signifikan akibat adanya proses lain yang mempengaruhi, yaitu pada kelompok kontrol turut serta mendapat induksi bakteri, sehingga dapat terjadi perubahan tergantung pada kondisi imunitas hewan coba.

Kelompok dengan waktu 24 jam dan tujuh hari sebelum terminasi, didapatkan perbedaan rerata diameter sentrum germinativum yang signifikan dengan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa setelah proses pembentukan nodulus limfatikus oleh sel limfosit T, terjadi proliferasi sel B menghasilkan antibodi dan sel plasma sebagai

respons lanjutan dalam mengatasi antigen bakteri *M.Tb*. Respons ini yang menentukan ukuran dari diameter sentrum germinativum. Dengan adanya efek peningkatan proliferasi sel limfosit B akibat *Euphorbia milii* juga didukung pada studi yang dilakukan oleh Delgado & Paugmarten yang menunjukkan bahwa terdapat peningkatan stimulasi sintesis DNA pada sel limfosit manusia secara in vitro dengan pemberian ekstrak *Euphorbia milii* sebesar 5 µg/ml dengan efek yang meningkat seiring dengan peningkatan dosis¹¹. Studi senyawa diterpenoid yang diekstrak dari *Euphorbia milii* menunjukkan adanya aktivitas imunomodulator yang berasal dari 14-desoxo-3β,5α,7β,10,15β-O-pentaacetyl-14α-O-benzoyl-10,18-dihydromyrsinol yang dapat meningkatkan aktivitas oksidasi dari sel fagosit dan meningkatkan proliferasi pada limfosit perifer¹². Adanya efek imunomodulator ini menyebabkan peningkatan proliferasi yang menyebabkan peningkatan ukuran diameter sentrum germinativum. Selain itu, campuran propolis yang diberikan pada penelitian ini juga mendukung adanya peningkatan aktivitas sistem imun. Hasil tersebut sejalan dengan studi yang ada sebelumnya bahwa propolis meningkatkan fungsi fagositosis sistem imun yang kemungkinan besar juga dihasilkan melalui peningkatan proliferasi sel sel imunitas.¹³

Bahan aktif propolis seperti terpen, benzoate, cinnamat, asam phenolat, dan caffeate acid phenetyl Esther (CAPE) yang berfungsi sebagai imunomodulator¹⁴. Berdasarkan hasil uji *Post Hoc LSD test* kelompok kontrol dan perlakuan pada jumlah nodulus limfatikus yang diterminasi tujuh hari pasca infeksi dan diameter sentrum germinativum yang diterminasi 24 jam dan tujuh hari pasca infeksi menunjukkan perbedaan yang signifikan. *Euphorbia milii* mengandung senyawa glikosida triterpene aktif yang berfungsi sebagai imunomodulator yang bekerja dengan merangsang aktivitas lisosom makrofag dan meningkatkan kadar IL-12, dimana hal ini menyebabkan peningkatan proliferasi sel B dan sel T pada limpa sebagai pertahanan tubuh terhadap patogen⁴. Studi terbaru mengenai pembentukan jumlah nodulus limfatikus sebagai respons dari sel limfosit T, menunjukkan bahwa pemberian 25 µL *E.milii* ekstrak encer dalam 10% *dimethylsulfoxide* memberikan peningkatan yang signifikan ($p < 0,05$) dalam persentase CD4 + T limfosit positif untuk tipe 1 sitokin TNF-α dan IFN-γ. Neutrofil dan CD8 + limfosit T menunjukkan profil campuran produksi sitokin, ditandai dengan peningkatan persentase ekspresi sel IFN-γ, TNF-α, dan IL-10. Temuan yang disajikan menunjukkan bahwa efek yang secara populer dikaitkan dengan *E.milii* mungkin dikaitkan dengan efeknya pada produksi TNF-α dan IFN-γ.¹⁵

Kegiatan farmakologi dari dua triterpenoid tersebut menunjukkan bahwa mereka memiliki aktivitas imunomodulator dengan mendorong efek stimulasi pada proliferasi limfosit darah perifer manusia yang diaktifkan oleh PHA. Dengan berbagai penjelasan mekanisme kerja *E.milii* dalam mempengaruhi imunitas, adalah mungkin bahwa ekstrak tumbuhan ini dapat membantu tubuh kita untuk mengatasi infeksi *M.Tb* terhadap respons imun. Didukung dengan hasil dari studi ini dimana campuran teh *E.milii* dan propolis secara signifikan meningkatkan jumlah nodulus limfatikus dan diameter sentrum germinativum pada limpa mencit yang diinfeksi *M.Tb*. Penelitian mengenai ekstrak *Euphorbia milii* mampu meningkatkan aktivitas sel pembunuh alami pada tikus yang terinfeksi *M.Tb* melalui ekspresi NKp46. NKp46 adalah reseptor aktivasi pada antigen permukaan sel pembunuh alami. *Euphorbia milii* memiliki kemampuan untuk meningkatkan ekspresi th17 melalui IL-17 pada tikus yang telah terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*. Dimana IL-17 adalah sitokin pro-inflamasi yang berperan dalam sistem imun.¹⁶

Ekstrak etanol dari bunga *Euphorbia milii* dan propolis dengan dosis 10 mg/20g berat badan mampu meningkatkan ekspresi NKp46 pada jaringan paru tikus yang terinfeksi *M.Tb* selama dua minggu. NKp46 adalah salah satu gen yang mengatur produksi dan aktivitas sel-sel *Natural Killer* paru-paru dan membantu paru-paru untuk melawan infeksi *M.Tb*¹⁷. *Caffeic Acid Phenetyl Esther* (CAPE) yang terkandung didalam propolis terbukti berfungsi sebagai imunomodulator. Hal ini berdasarkan penelitian bahwa kultur makrofag terinfeksi *M.Tb* dengan intervensi propolis meningkatkan konsentrasi IL-12 dibandingkan dengan kelompok tanpa intervensi propolis. Senyawa imunostimulan propolis meningkatkan aktivitas fagosit makrofag sehingga IL-12 turut di produksi.¹⁸

SIMPULAN

Pemberian teh kombinasi *Euphorbia milii* dan propolis terbukti meningkatkan jumlah Nodulus Limfatikus dan diameter Sentrum Germinativum lebih tinggi dibandingkan dengan yang mendapatkan aquades. Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa teh kombinasi *Euphorbia milii* dan propolis dapat berfungsi sebagai imunomodulator, bekerja meningkatkan sistem imunitas dalam menghadapi antigen yang pada penelitian ini menggunakan infeksi bakteri *Mycobacterium tuberculosis*.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization (WHO). Global tuberculosis report. Geneva: WHO; 2017.
2. Kemenkes RI. Tuberkulosis. Jakarta; Kementerian Kesehatan RI. 2017.

3. Narendra, D., Mounisha, A., Bhavani, B., Sireesha, G., Kamari, K. V., Reddy, M. S. Antimicrobial Studies on flowers of *Euphorbia Mili*. *Der Pharmacia Lettre*. 2015;7(3):196-204.
4. Qin, D., Wu, J., Vora, KA., Ravetch, JV., Szakal, AK. Fcγ receptor IIB on follicular dendritic cells regulates the B cell recall response. *The Journal of Immunology*. 2000;164(12):6268-75.
5. Enciso-Díaz OJ, Méndez-Gutiérrez A, De Jesús LH, Sharma A, Villarreal ML, Taketa AC. Antibacterial activity of *Bougainvillea glabra*, *Eucalyptus globulus*, *Gnaphalium attenuatum*, and propolis collected in Mexico. *Pharmacology & Pharmacy*. 2012; 3(04):433.
6. Sforcin JM. Propolis and the immune system: a review. *Journal of ethnopharmacology*. 2007; 113(1):1-4.
7. Saunders BM, Cheers C. Intranasal infection of beige mice with *Mycobacterium avium* complex: role of neutrophils and natural killer cells. *Infection and immunity*. 1996; 64(10):4236-41.
8. Prasetyo, William., Yazid, Noor., Prasetyo, Awal. Gambaran Histopatologi Limpa Tikus Wistar yang Diinduksi Karsinogenesis Kolon dan Induksi Karsinogenesis Kolon plus Diet *Amorphophallus Onchophyllus* (Penelitian Observasional Laboratorik terhadap Tikus Wistar yang Diinduksi 1, 2 DMH Subkutan, diet tinggi lemak dan protein). *Media Medika Muda*. 2006;(4):11-18.
9. Yuliani S. EFEK LIKOPEN TERHADAP GAMBARAN MIKROSKOPIK LIMPA TIKUS BETINA SPRAGUE DAWLEY. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 2011;1(1):9-15.
10. Krol W, Scheller S, Czuba Z, Matsuno T, Zydowicz G, Shani J, Mos M. Inhibition of neutrophils' chemiluminescence by ethanol extract of propolis (EEP) and its phenolic components. *Journal of Ethnopharmacology*. 1996;55(1):19-25.
11. Delgado IF, Paumgartten FJ. Effects of *Euphorbia milii* latex on mitogen-induced lymphocyte proliferation. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. 2014;16(1):107-11.
12. Vasas A, Hohmann J. *Euphorbia* diterpenes: isolation, structure, biological activity, and synthesis. *Chemical reviews*. 2014; 114(17):8579-612.
13. Tao, Y., Wang, D., Hu, Y., Huang, Y., Yu, Y. and Wang, D. The Immunological Enhancement Activity of Propolis Flavonoids Liposome In Vitro and In Vivo. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014.h.1-8.
14. Sulaeman A. Indonesian Stingless Bee Propolis is Effective to Accelerate Healing Process and Nutritional Status Recovery of Tuberculosis Patients. *Modern Approaches in Drug Designing*. 2018;2(2).
15. Avelar, BA., Lélis, FJ., Avelar, RS., Weber, M., Souza, EM., Lopes, MT., dkk. The crude latex of *Euphorbia tirucalli* modulates the cytokine response of leukocytes, especially CD4+ T lymphocytes. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2011; 21(4):662-7.
16. Linawati, N, M., Sukrama, Made., Mertaniasih, Made. The Influence of *Euphorbia Mili* Flower Extract in the Activity of Th17 through IL-17 Secretion in *Mycobacterium tuberculosis* Infected Mice. *International Journal of Science and Research (IJSR)*. 2016;5(1):626 – 627.
17. Linawati, N, M., Widhiartini, Alit., Wandu, Nyoman., Dwija, Putra., Wiryawan, Sri., Arijana, Kamasan. dkk. The Optimal dose of *Euphorbia milii* extracts in NKp46 expression against mice infected with *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of US-China Medical Science*. 2014;11(2): 68-73.
18. Linawati M, Bagiada M. Pengaruh Propolis Terhadap Sekresi Interleukin-12 Pada Supernatan Kultur Makrofag dari Penderita Tuberculosis Paru yang Diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*. *SMF Ilmu Penyakit Dalam*. 2008.