

Aktivitas Ekstrak Daun Kelor Terhadap Sel-T *Helper* dan Sel-T *Sitotoksik* pada Mencit yang Diinfeksi *Salmonella thypi*

(ACTIVITY OF AQUEOUS LEAF EXTRACT OF HORSERADISH TREE ON HELPER T- CELL AND CYTOTOXIC T- CELL IN MICE INFECTED WITH SALMONELLA THYPI)

Akhmad Fathir, Muhaimin Rifa'i, Widodo

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Brawijaya, Malang
Jl. Veteran, Malang 65145, Telp. 0341 575841
Email: fathir.biologi@gmail.com,

ABSTRAK

Penyakit demam tifoid disebabkan oleh infeksi *Salmonella typhi*, dan masih menjadi masalah di negara-negara berkembang termasuk Indonesia. Demam tifoid terjadi akibat imunitas tubuh terutama sel T CD4⁺ dan sel T CD8⁺ mengalami *defisiensi*, sehingga *S. thypi* dapat menginfeksi sel-sel tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak daun kelor dapat meningkatkan jumlah sel T CD4⁺ dan sel T CD8⁺ pada mencit yang diinfeksi *S. thypi*. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap pola faktorial. Mencit dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok non infeksi (diberi ekstrak daun kelor dosis 14 mg/kg BB, 42 mg/kg BB dan 84 mg/kg BB) dan mencit yang diinfeksi *S. thypi* (diberi ekstrak daun kelor dosis 14 mg/kg BB, 42 mg/kg BB dan 84 mg/kg BB). Hasil penelitian menunjukkan pemberian ekstrak daun kelor dapat meningkatkan jumlah sel T CD4⁺ dan sel T CD8⁺ pada semua kelompok mencit dan pemberian ekstrak daun kelor dengan dosis tinggi menyebabkan immunosupresi. Ekstrak daun kelor dapat berfungsi sebagai imunostimulan dan immunosupresi pada sel T CD4⁺ dan sel T CD8⁺ mencit.

Kata-kata kunci : sel T CD4⁺, sel T CD8⁺, limpa, *S. thypi*, kelor

ABSTRACT

Typhoid fever is caused by *Salmonella typhi* infection, and it is a still problem in many developing countries, including Indonesia. Typhoid fever occurs due to T cells, immune system, especially CD4⁺ and CD8⁺ T cells, are deficient. This condition can cause *S. thypi* infects human body cells. The study aim was to evaluate profile CD4⁺ and CD8⁺ T cells in mice spleen (*Mus musculus*) infected with *S. thypi* after inducted with aqueous leaf extract of horseradish tree. An experimental laboratory study was conducted using completely factorial randomized design. Mice were divided into two groups, ie non infection group (induced with aqueous leaf extract of horseradish tree, at dose 0 mg/kg BW, 14 mg/kg BW, 42 mg/kg BW and 84 mg/kg BW) and infection group, the Mice were infected with *S. thypi* (induced with aqueous leaf extract of horseradish tree, at dose 0 mg/kg BW, 14 mg/kg BW, 42 mg/kg BW and 84 mg/kg BW). The result showed that aqueous leaf extract of horseradish tree increased the number CD4⁺ of and CD8⁺ T cells in all groups of mice in conclusion administration of aqueous leaf extract of horseradish tree at high dose have causes immunosuppressive in immune system. Aqueous leaf extract of horseradish tree have a immunostimulatory and immunosuppressive functions in CD4⁺ and CD8⁺ T cells.

Key words: CD4⁺ T cell, CD8⁺ T cell, spleen, *S. thypi*, horseradish tree

PENDAHULUAN

Penyakit demam tifoid yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella thypi* masih menjadi masalah kesehatan di negara berkembang (Srinivasan *et al.*, 2007). Berdasarkan data WHO, kasus demam tifoid ditemukan sekitar

16 juta dan 600 ribu kasus menyebabkan kematian (Ravindran dan Stephen, 2005). Di Indonesia, penderita demam tifoid ditemukan sekitar 380-810 kasus per 100 ribu jumlah penduduk per tahun, dan dianggap sebagai penyebab kematian yang cukup tinggi (Baker *et al.*, 2008).

Infeksi *S. thypi* pada manusia, disebabkan oleh sistem imunitas tubuh yang mengalami penurunan aktifitas (*defisiensi*), sehingga sistem imunitas tubuh tidak mampu membunuh dan menghancurkan (meregulasi) bakteri *S. thypi*. Hal ini mengakibatkan *S. thypi* yang berada dalam peredaran darah dapat bertahan hidup, berkembang, melakukan invasi serta merusak sel-sel tubuh (Ugrinovic *et al.*, 2003; Diepen *et al.*, 2005; Cummings *et al.*, 2005). Sistem imunitas tubuh yang memiliki peran utama dalam meregulasi bakteri *S. thypi* adalah sel T CD4⁺ dan sel T CD8⁺ (Lapaquea *et al.*, 2009; Warrington *et al.*, 2011). Abbas dan Lichman, (2011) mengemukakan bahwa sel T CD4⁺ atau sering disebut sel T *helper* mengaktifkan makrofag untuk meningkatkan fagositosis terhadap mikroba yang berada di vesikula sedangkan sel T CD8⁺ atau yang disebut dengan sel *Cytotoxic T Lymphocyte* (CTL) membunuh sel yang mengandung mikroba atau protein mikroba dalam sitoplasma sehingga menghilangkan reservoir infeksi.

Infeksi *S. thypi* pada manusia dapat dicegah dengan cara meningkatkan sistem imunitas tubuh. Sistem imunitas tubuh terutama sel T CD4⁺ dan sel T CD8⁺ dapat ditingkatkan, salah satunya dengan menggunakan agen imunomodulator yang berasal dari bahan alami seperti tumbuhan. Satu di antara tumbuhan yang diduga dapat berfungsi sebagai imunomodulator adalah kelor (*Moringa oleifera* Lam).

Tumbuhan kelor di beberapa negara sudah sejak lama dimanfaatkan, di antaranya di Sinegal dan di Benin daun kelor dalam bentuk bubuk (*powder*) dibagikan secara gratis bagi anak-anak gizi buruk, sedangkan di India digunakan sebagai obat penyakit rematik articular kronis dan di Indonesia sendiri daun kelor digunakan sebagai sayuran dan obat rematik (Kumbhare dan Thangavel, 2011; Kasolo *et al.*, 2011). Pemanfaatan tumbuhan kelor di beberapa negara tidak terlepas dari kandungan senyawa aktif yang terkandung di dalamnya.

Ekstrak daun, biji dan bunga kelor dengan beberapa pelarut memiliki kandungan protein, karbohidrat, tannin, steroid, α -karoten, protein, vitamin C, kalsium, potassium, asam amino, dan berbagai fenolat (Makkar *et al.*, 2007; Sachan *et al.*, 2011). Kasolo *et al.*, (2011) melaporkan bahwa ekstrak daun kelor dengan menggunakan pelarut air dibandingkan dengan pelarut ethanol dan eter memiliki kandungan

saponin dan flavonoid lebih tinggi. Flavonoid memiliki peran sebagai antioksidan dan mampu menghentikan reaksi berantai radikal bebas, sedangkan saponin yang diisolasi dari ginseng dapat berfungsi sebagai agen imunostimulan (Rausch *et al.*, 2006; Bamishaiye *et al.*, 2011; Lakshminarayana *et al.*, 2011). Hasil penelitian lain menunjukkan ekstrak daun kelor memiliki peran sebagai imunostimulan karena dapat meningkatkan aktivitas makrofag (Biswas *et al.*, 2011).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak daun kelor dapat meningkatkan jumlah sel T CD4⁺ dan sel T CD8⁺ pada mencit yang diinfeksi *S. thypi*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang manfaat daun kelor terhadap sistem imunitas tubuh.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Fisiologi Hewan, Laboratorium Biologi Molekuler, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam dan Laboratorium Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya Malang, pada bulan Juni - September 2012.

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit berjenis kelamin betina, strain DDY, umur 6-7 minggu berjumlah 32 ekor yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu, Universitas Gajah Mada (LPPT-UGM) Yogyakarta. Bakteri *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 isolat 2016-D. Daun kelor yang digunakan dalam pembuatan ekstrak, menggunakan daun kelor tua yang terletak di deretan 3-5 dari pangkal pucuk atas, diambil di Desa Karduluk, Kecamatan Pragaan, Kabupaten Sumenep pada tanggal 21 Mei 2012.

Pembuatan Ekstrak Daun Kelor

Pembuatan ekstrak daun kelor dilakukan menggunakan metode infusa dengan cara daun kelor yang sudah kering, *diblender* dan disaring agar didapatkan dalam bentuk simplisia. Simplisia yang didapat diambil sebanyak 5 g dan dicampur dengan aquades sebanyak 50 mL.

Simplisia yang telah dicampur dengan aquades dididihkan pada suhu 85°C sambil *distirer* dengan kecepatan 200 rpm, dan setelah mencapai suhu 85°C dipertahankan selama 15 menit. Selanjutnya dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring. Ekstrak yang diperoleh diambil sesuai dengan dosis yang telah ditentukan dan ditambah dengan pelarut *Natrium Carboxymethyl Cellulose* (Na-CMC) 0,5% untuk diberikan pada mencit secara oral dengan volume pemberian sebanyak 100 µL.

Perlakuan Hewan Coba

Mencit yang diperoleh dari LPPT-UGM sebelum perlakuan diaklimasi selama tujuh hari di Laboratorim Biologi Molekuler, Universitas Brawijaya, Malang. Mencit yang diaklimasi dilakukan pengelompokan sesuai dengan rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial. Mencit dalam percobaan ini dibagi menjadi dua kelompok, meliputi kelompok non infeksi (diberi ekstrak daun kelor 1 × sehari selama 20 hari) dan kelompok yang diinfeksi *S. thypi* (diberi ekstrak daun kelor 1 × sehari, selama 20 hari dan pada hari ke 21 diinfeksi *S. thypi* dengan dosis 10⁸ sel secara intra peritoneal). Di dalam dua kelompok tersebut, dibagi lagi menjadi empat bagian, seperti disajikan pada Tabel 1.

Uji Konfirmasi Keberadaan Bakteri *S. thypi* di Dalam Darah

Kelompok mencit yang diinfeksi *S. thypi*, pada hari ke 22 dilakukan uji konfirmasi untuk mengetahui keberhasilan *S. thypi* dalam menginfeksi mencit. Uji konfirmasi dilakukan dengan cara mengambil darah mencit dari pembuluh darah ekor sebanyak 100 µL. Darah yang telah diambil selanjutnya dilakukan uji *pour plate* dan uji katalase. Uji *pour plate* dilakukan dengan menggunakan media *xylose lysine deoxycholate agar* (agar XLD) sedangkan uji katalase menggunakan *hidrogen peroksida* (H₂O₂) (Dyszal *et al.*, 2010).

Isolasi Sel pada Limpa

Setelah hari ke 26 pascaperlakuan, mencit dikorbankan nyawanya dengan dislokasi leher, selanjutnya dilakukan pembedahan untuk pengambilan organ limpa. Organ limpa yang telah didapat digerus, disaring, dan disuspensi dengan *phosphate buffered saline* (PBS). Homogenat disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm pada suhu 4°C selama 5 menit. *Pellet* disuspensi kembali dengan PBS 1 mL. Homogenat yang diperoleh dipindahkan ke tabung mikrosentrifus baru dan ditambahkan PBS 500 µL. Selanjutnya disentrifus pada 2500 rpm dengan suhu 4°C selama 5 menit dan setelah itu diambil *pelletnya*.

Tabel 1. Pengelompokan hewan perlakuan berdasarkan dosis dan injeksi *S. thypi*

Faktor I (Infeksi <i>S. thypi</i>)	Faktor II dosis ekstrak daun kelor
Non infeksi	K- Tanpa diperlakukan
	P1- Diberi ekstrak daun <i>M. oleifera</i> Lam dengan dosis 14 mg/kg BB mencit
	P2- Diberi ekstrak daun <i>M. oleifera</i> Lam dengan dosis 42 mg/kg BB mencit
Infeksi	P3- Diberi ekstrak daun <i>M. oleifera</i> Lam dengan dosis 84 mg/kg BB mencit
	K+ Diinfeksi <i>S. thypi</i>
	P1+ Diberi ekstrak daun <i>M. oleifera</i> Lam dengan dosis 14 mg/kg BB mencit + diinfeksi <i>S. thypi</i>
	P2+ Diberi ekstrak daun <i>M. oleifera</i> Lam dengan dosis 42 mg/kg BB mencit + diinfeksi <i>S. thypi</i>
	P3+ Diberi ekstrak daun <i>M. oleifera</i> Lam dengan dosis 84 mg/kg BB mencit + diinfeksi <i>S. thypi</i>

Keterangan:

- | | |
|-------------------------------------|--|
| K- : Kontrol negatif | K+ : Kontrol positif |
| P1- : Perlakuan pertama non infeksi | P1+ : Perlakuan pertama diinfeksi <i>S.thypi</i> |
| P2- : Perlakuan ke dua non infeksi | P2+ : Perlakuan ke dua diinfeksi <i>S.thypi</i> |
| P3- : Perlakuan ke tiga non infeksi | P3+ : Perlakuan ke tiga diinfeksi <i>S.thypi</i> |

Penghitungan Sel Limfosit

Sel yang telah diisolasi dalam bentuk *pellet* dilabel dengan antibodi *rat anti-mouse anti-CD4 fluorescein isothiocyante (FITC) conjugated* dan *rat anti-mouse anti-CD8 R-phycoerythrin (PE) conjugated* sebanyak 500 µL. Sel yang telah diberi label dengan antibodi ditambah 300 µL PBS dan dilakukan uji *flow* sitometri. 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*.

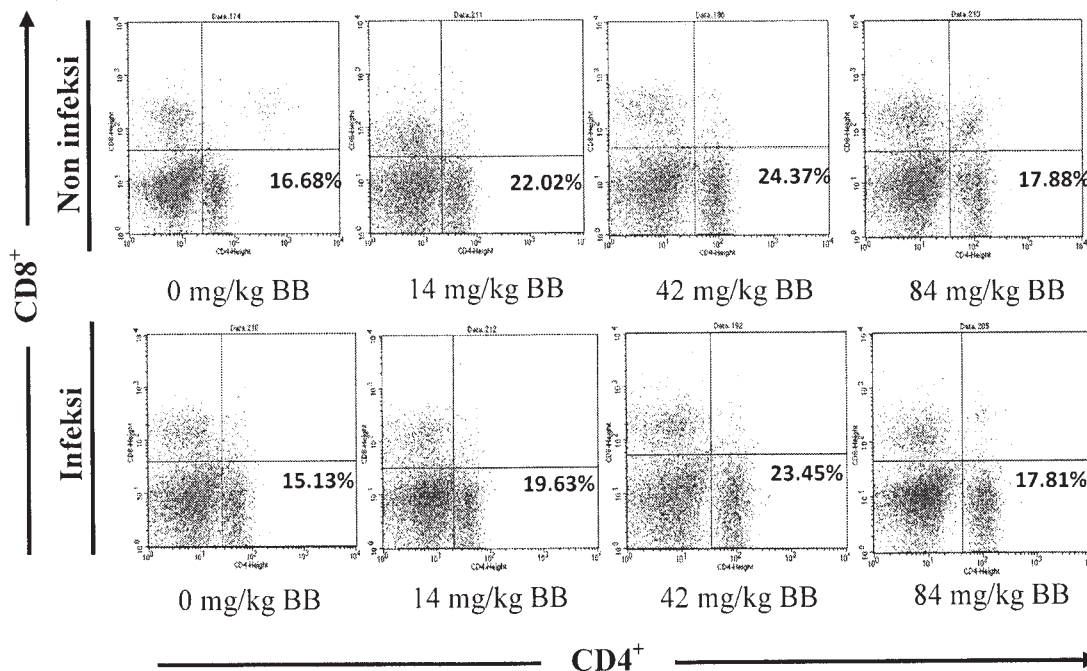
Analisis Data

Data hasil *flow* sitometri dianalisis menggunakan *software BD cellquest Pro™* dan dilanjutkan dengan analisis menggunakan uji sidik ragam dua arah (*two way analysis of variance*) dengan taraf signifikasi 0,05% pada program SPSS 16.0, dan apabila terdapat perbedaan yang signifikan dilanjutkan dengan uji tukey.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kelor dapat meningkatkan jumlah relatif sel T CD4⁺ (Gambar 1) pada kelompok mencit non infeksi maupun pada kelompok mencit yang diinfeksi *S. thypi*. Berdasarkan rata-rata jumlah absolut sel tersebut diperoleh hasil bahwa, terdapat peningkatan secara nyata ($p < 0,05$) jumlah sel T CD4⁺ pada kelompok mencit non infeksi maupun pada kelompok mencit yang diinfeksi *S. thypi* (Tabel 2). Peningkatan tertinggi jumlah sel T CD4⁺ untuk kelompok mencit non infeksi terlihat pada pemberian ekstrak daun kelor dosis 42 mg/kg BB (jumlah sel sekitar 20.10⁶ sel/mL), sedangkan peningkatan terendah terdapat pada pemberian dosis ekstrak 14 mg/kg BB (jumlah sel sekitar 11.10⁶ sel/mL).

Adapun peningkatan tertinggi jumlah sel T CD4⁺ untuk kelompok mencit yang diinfeksi *S. thypi* terlihat pada pemberian ekstrak daun kelor dosis 14 mg/kg BB (jumlah sel sekitar 26.10⁶ sel/mL), sedangkan peningkatan terendah



Gambar 1 : Presentasi peningkatan jumlah relatif sel T CD4⁺ hasil *flow* sitometri pada mencit non infeksi dan mencit diinfeksi *S. thypi* setelah diberi ekstrak daun kelor dengan dosis 14 mg/kg BB, 42 mg/kg BB dan 84 mg/kg BB .

terdapat pada pemberian ekstrak daun kelor dosis 42 mg/kg BB (jumlah sel sekitar 22.10^6 sel/mL) dan dosis ekstrak 84 mg/kg BB (jumlah sel sekitar 22.10^6 sel/mL).

Peningkatan jumlah sel T CD4⁺ disebabkan oleh adanya zat aktif di dalam ekstrak daun kelor yang memiliki fungsi sebagai imunostimulan terhadap sistem imunitas. Zat aktif yang diduga memiliki peran sebagai imunostimulan adalah saponin dan flavonoid. Saponin dan flavonoid diduga mampu menginduksi peningkatan sekresi sitokin yang terlibat dalam proses aktivitas sel T CD4⁺. Saponin dan flavonoid merupakan substansi yang berperan dalam memicu *up regulasi* sel T *helper* dengan cara memacu peningkatan produksi sitokin interleukin 2 (IL-2) (Cheeke *et al.*, 2000; Lyu dan Park, 2005). Sitokin IL-2 diperlukan oleh sel T CD4⁺ untuk berdiferensiasi pada subset sel T *heper* 2 (Th2) dan Th1 (Abbas dan Lichman, 2011).

Sel Th1 memproduksi *interferon gamma* (IFN α) yang mengaktifkan makrofag untuk memproduksi *Reaktif Oksigen intermediate* (ROI) dan enzim-enzim yang dapat membunuh bakteri. Senyawa IFN α merupakan senyawa yang berperan dalam aktivasi makrofag, meningkatkan kemampuan untuk proses fagositosis, dan menghancurkan mikroba (Mosser, 2003; Agnello *et al.*, 2003). Kresno, (2010) mengemukakan bahwa senyawa IFN α merangsang produksi isotop antibodi, misalnya imunoglobulin-G2 (IgG2), yang mengaktifkan komplemen dan melapisi (opsonisasi) bakteri, sehingga dapat meningkatkan fungsi makrofag. Hoffmann *et al.*, (2006) dan Qureshi *et al.*, (2012) melaporkan bahwa makrofag mengeluarkan *Nitrogen Monoksida* (NO), ROI, dan *Reaktif Nitrogen Intermediate* (RNI), senyawa tersebut dapat membentuk spesies antimikrob yang lebih toksik seperti peroksi-nitrit, sehingga

meningkatkan kerusakan terhadap struktur membran dan DNA bakteri *Salmonella*. Sudha *et al.*, (2011) melaporkan bahwa pemberian ekstrak daun kelor dapat meningkatkan aktivitas makrofag, pelepasan nitrit oksidase pada sel monosit tikus, dan adesi neutrofil.

Selain berfungsi sebagai imunostimulan ekstrak daun kelor dapat berfungsi sebagai immunosupresan. Hal tersebut terlihat pada pemberian dosis tinggi ekstrak daun kelor menyebabkan peningkatan jumlah sel T CD4⁺ lebih rendah dibandingkan dengan pemberian dosis rendah (Tabel 2). Hasil tersebut seperti yang dilaporkan oleh Sudha *et al.*, (2010) dan Biswas *et al.*, (2012) bahwa dosis rendah ekstrak daun kelor lebih efektif dibandingkan dengan dosis tinggi. Peningkatan jumlah sel yang lebih rendah tersebut diduga karena proses homeostasis di dalam tubuh. Proses homeostasis sangat penting untuk menjaga keseimbangan sel T *naive* (sel belum terpapar antigen) maupun sel T efektor (sel yang telah terpapar antigen) di dalam tubuh. Menurut Susan *et al.*, (2005) laju pembelahan sel dan laju kematian sel harus konstan karena jumlah sel dipertahankan dalam jumlah setimbang (homeostasis).

Tingginya jumlah sel T CD4⁺ pada kelompok mencit yang diinfeksi *S. thypi* bila dibandingkan dengan jumlah sel T CD4⁺ mencit non infeksi (Tabel 2), disebabkan pada mencit yang terinfeksi *S. thypi* telah mengalami peningkatan respons pada subset sel Th1. Sel Th1 memiliki peran dalam proses pembersihan patogen intraseluler yang berada di dalam tubuh (Hamza *et al.*, 2010). Watford *et al.*, (2003) dan Kresno, (2010) mengemukakan bahwa bakteri intraseluler menginduksi perkembangan sel T CD4⁺ menjadi fenotip sel Th, karena bakteri ini merangsang makrofag untuk memproduksi IL-12 dan sel *natural killer* (NK) memproduksi IFN α . Kedua jenis sitokin

Tabel 2. Jumlah rata-rata sel T CD4⁺ di limpa mencit pasca pemberian ekstrak daun kelor

Dosis ekstrak daun kelor	Kelompok (sel/mL)	
	Non infeksi	Diinfeksi <i>S. thypi</i>
0 mg/kg BB	6580699±67907 ^a	9782221±705372 ^a
14 mg/kg BB	11168394±568177 ^b	26696434±428615 ^c
42 mg/kg BB	20475243±448588 ^d	22958219±697738 ^b
84 mg/kg BB	18535985±464174 ^c	22684453±451033 ^b

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

Tabel 3. Jumlah rata-ran sel T CD8⁺ di limpa mencit pasca pemberian ekstrak daun kelor

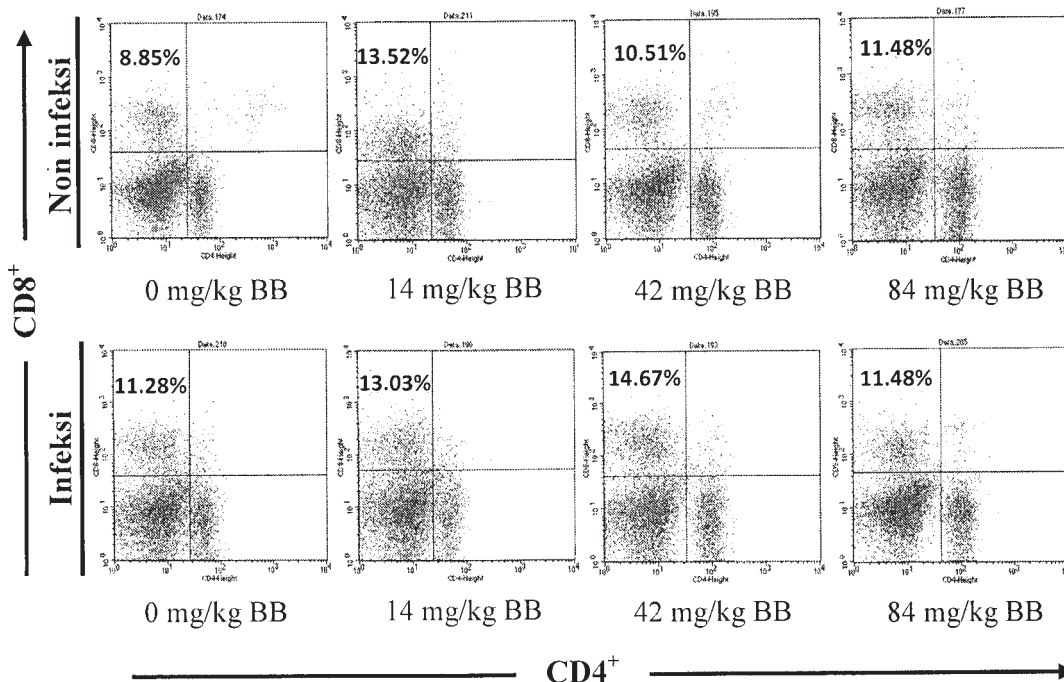
Dosis ekstrak daun kelor	Kelompok (sel/mL)	
	Non infeksi	dinfeksi
0 mg/kg BB	3234435±439196 ^a	4900146±63433 ^a
14 mg/kg BB	5008591±129955 ^b	17205362±697140 ^c
42 mg/kg BB	9276073±82445 ^c	14034793±571084 ^b
84 mg/kg BB	12967463±255922 ^d	13699624±454262 ^b

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

ini meningkatkan perkembangan sel Th1. Baratawidjaya (2010) menjelaskan, apabila sitokin IL-12 yang banyak diproduksi, maka akan merangsang *respons* sel Th1. Koebernick *et al.*, (2002) melaporkan bahwa, tikus yang terinfeksi *Salmonella* menunjukkan kecenderungan peningkatan produksi IL-12.

Pemberian ekstrak daun kelor selain meningkatkan jumlah sel T CD4⁺ juga terbukti dapat meningkatkan jumlah relatif sel T CD8⁺ (Gambar 2). Berdasarkan rata-ran jumlah absolut sel tersebut didapatkan hasil bahwa, terdapat peningkatan secara nyata ($p < 0.05$) jumlah sel T CD8⁺ pada kelompok mencit non infeksi maupun pada kelompok mencit yang diinfeksi

S. thypi (Tabel 3). Peningkatan tertinggi jumlah sel T CD8⁺ untuk kelompok mencit non infeksi terlihat pada pemberian ekstrak daun kelor dosis 84 mg/kg BB (jumlah sel berkisar 12.10^6 sel/mL), sedangkan peningkatan terendah terdapat pada pemberian ekstrak dengan dosis 14 mg/kg BB (jumlah sel berkisar 32.10^5 sel/mL). Adapun peningkatan tertinggi jumlah sel T CD8⁺ untuk kelompok mencit yang diinfeksi *S. thypi* terlihat pada pemberian ekstrak daun kelor dosis 14 mg/kg BB (jumlah sel berkisar 17.10^6 sel/mL) sedangkan peningkatan terendah terdapat pada pemberian dosis ekstrak 42 mg/kg BB (jumlah sel berkisar 14.10^6 sel/mL) dan 84 mg/kg BB (jumlah sel berkisar 13.10^6 sel/mL).



Gambar 2 : Presentasi peningkatan jumlah relatif sel T CD8⁺ hasil *flow* sitometri pada mencit non infeksi dan mencit diinfeksi *S. thypi* setelah diberi ekstrak daun kelor dengan dosis 14 mg/kg BB, 42 mg/kg BB dan 84 mg/kg BB .

Peningkatan jumlah sel T CD8⁺ dipengaruhi oleh adanya zat aktif di dalam ekstrak daun kelor berupa saponin dan flavonoid yang dapat merangsang peningkatan IL-2 pada sel T CD4⁺. Peningkatan IL-2 memungkinkan juga terjadinya peningkatan jumlah sel T CD8⁺. Menurut Mc Nally *et al.*, (2011), IL-2 dapat memicu aktivasi sel T CD8⁺, sehingga sel T CD8⁺ yang teraktivasi memproduksi perforin dan granzin. Kresno (2010) mengemukakan perforin dan granzin yang disekresikan oleh sel T CD8⁺ menghancurkan sel yang terinfeksi maupun antigen *S. thypi* yang berada di dalam sitoplasma, sehingga dalam penelitian ini jumlah sel T CD8⁺ pada mencit yang diinfeksi *S. thypi* lebih tinggi. Abbas dan Lichman, (2011) mengemukakan bahwa jumlah sel T CD8⁺ setelah terjadinya infeksi dapat meningkat beberapa kali lipat dibandingkan sebelum terinfeksi.

Peningkatan jumlah sel T CD8⁺ yang rendah pada pemberian dosis tinggi ekstrak daun kelor berkaitan dengan aktivitas sel T CD4⁺. Sebagaimana dilaporkan Komamoto *et al.*, (2011) bahwa tanpa adanya sel T CD4⁺ menyebabkan penurunan ekspansi sel T CD8⁺, hal tersebut disebabkan IL-2 yang dihasilkan dan digunakan sel T CD4⁺ diperlukan oleh sel T CD8⁺. Menurut Rifa'i (2010) sel T CD8⁺ mempunyai afinitas yang sangat tinggi terhadap IL-2 dan bahkan lebih tinggi dibandingkan afinitas sel T CD4⁺ dalam memanfaatkan IL-2, sehingga sel T CD8⁺ berkembang dengan sangat cepat dan terus menerus memproduksi sitokin termasuk faktor proinflamasi seperti *tumor necrosis factor alfa* (TNF α) dan IFN γ .

SIMPULAN

Ekstrak daun kelor dapat meningkatkan jumlah sel T CD4⁺ dan sel T CD8⁺ mencit yang tidak terinfeksi maupun mencit yang diinfeksi *S. thypi*, selain itu pemberian ekstrak daun kelor dengan dosis tinggi dapat berfungsi sebagai immunosupresi.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun kelor terhadap mencit yang diinfeksi dosis letal *S. thypi*

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Prof. Dr. drh. Aulanni'am DVM., Dess dan Dr. Ir. Sasmito Djati, MS atas saran-sarannya yang bermanfaat. Laboran Lab Fisiologi Hewan, Lab Biologi Molekuler, dan Lab Mikrobiologi, Fakultas MIPA serta laboran Mikrobiologi dan Lab Biomedik Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang yang telah menyediakan fasilitas, serta rekan sejawat *Team Engineering I* Bidang Imunologi atas bantuannya dalam pengambilan data.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas K A, Lichman A H. 2011. *Basic Immunology 3e Updated Edition*. Philadelphia: Elsevier. 103-107, 113-121
- Agnello D, Lankford C S, Bream J, Morinobu A, Gadina M, O'Shea J J, Frucht D M. 2003. Cytokines and transcription factors that regulate T helper cell differentiation: new players and new insights. *J Clin Immunol* 23 : 147-161.
- Baker S, Holt K, Whitehead S, Goodhead I, Perkins T, Stocker B, Hardy J, Dougman G. 2007. A linear plasmid truncation induces unidirectional flagellar phase change in H: z66 positive *Salmonella thypi*. *Journal Molecular Microbial* 66 : 1207-1218.
- Bamishaiye E I F F, Olayemi E F, Awagu, Bamshaiye O M. 2011. Proximate and phytochemical composition of *Moringa oleifera* leaves at three stages of maturation. *Advance Journal of Food Science and Technology* 3 : 233-237.
- Biswas S K, Chowdhury A, Joysre D, Ajoy R, Zahid H. 2012. Pharmacological potentials of *Moringa oliefera* Lam. *A Review. International Journal Pharmaceutical Sciences and Research* 3 : 305-310.
- Baratawidjaya K G. 2010. *Imunologi Dasar Edisi Ke 9*. Jakarta: FKUI Press. 136-137.
- Cummings L A, Sara L R B, David W W, Ivana F, Brad T, Cookson. 2005. Flic-specific CD4⁺ T cell responses are restricted by bacterial regulation of antigen expression. *The Journal of Immunology* 174 : 7929-7938.
- Cheeke P R. 2000. Actual and potential application of yucca schidigere and quillaja saponaria saponin in human and animal nutrition. *J Anim Sci* 77 : 1-10.

- Diepen A V, Gevel J S V, Koudijs M M, Ossendrop F, Beekhuizen H, Janssen R, Dissel J T V. 2005. Gamma irradiation or CD4⁺T cell depletion causes reactivation of latent *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection in C3H/HeN mice. *Journal Infection and Immunity* 75 : 2857-2862
- Dyszal J L, Smith J N, Darren E L, Jitesh A S, Matthew C S, Mathew A V, Glenn M Y, 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.
- Hoffmann O, Janine Z, Shannon H. S, Dorette F, Cordula M, Emilie D, Elaine I T, Joerg R. W. 2006. Interplay of pneumococcal hydrogen peroxide and host-derived nitric oxide. *Journal Infect Immun* 74 : 5058-5066.
- Hamza T, John B B, Bingyun L. 2010. Interleukin 12 a key immunoregulatory cytokine in infection applications. *Int J Mol Sci* 11 : 789-805.
- Kumbhare M, Thangavel S. 2011. Anti inflammatory and analgesic activity of stem bark of *Moringa oleifera*. *Journal Pharmacology online* 3 : 641-650.
- Koebnick H, Leander G, John R D, Wolfgang R, Michael S R, Hans W M C, Stefan H E K. 2002. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) plays a pivotal role in immunity against *Salmonella typhimurium*. *PNAS* 99 : 13681-13686.
- Kasolo J N, Bimenya G S, Ojok L, J Wogwal O. 2011. Phytochemicals and acute toxicity of *Moringa oleifera* roots in mice. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy* 3 : 38-42.
- Kresno S B. 2010. *Imonologi Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Jakarta: UI Press.120-202.
- Komamoto Y, Lisa M M, Stephenie S, Geoffrey W P, Akiko I. 2011. CD4⁺ T cell support cytotoxic T lymphocyte priming by controlling lymph node input. *PNAS* 21 : 8749-8754.
- Lakshminarayana M, Shivkumar H, Rimaben P, Bhargava V K. 2011. Antidiarrhoeal activity of leaf extract of *Moringa oleifera* in experimentally induced diarrhoea in rats. *International Journal of Phytomedicine* 3 : 68-74.
- Lyu S Y, Park W B. 2005. Production of cytokine and NO by RAW 264.7 macrophages and PBMC in vitro incubation with flavonoids. *Arch Pharm Res* 28 : 573-581.
- Lapaquea N, James L H, Des C J, Ste P M R, David W H, John T, Adrian P K. 2009. Salmonella regulates polyubiquitination and surface expression of MHC class II antigens. *PNAS* 106 : 14052-14057.
- Makkar H P, Francis G, Becker K. 2007. Bioactivity of phytochemicals in some lesser known plants and their effects and potential applications in livestock and aquaculture production systems. *Journal Animal* 1 : 1371-1391.
- Mc Nally A, Geffery R H, Tim S, Ranjeny T, Raymond J S. 2011. CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells control CD8⁺ T cell effector differentiation by modulating IL-2 homeostasis. *PNAS* 8 : 7529-7534.
- Mosser D M. 2003. The many faces of macrophage activation. *Journal of Leukocyte Biology* 73 : 209-212.
- Qureshi A A, Xiu Q G, Julia C R, Christopher J P, Sandra J, David C M, Nilofer Q. 2012. Inhibition of nitric oxide and inflammatory cytokines in LPS-stimulated murine macrophages by resveratrol, a potent proteasome inhibitor. *BioMed Central* 11 : 1-17.
- Rifa'i M. 2011. *Autoimun dan Bioregulator*. Malang: UB Press. Hal : 26-153.
- Rausch W L S, Gille G, Radad K. 2006. Neuroprotective effects of ginsenosides. *Journal Acta Neurobiol Exp (Wars)* 66 : 369-375.
- Ravindran R Stephen J M S, 2005. Tracking the dynamics of T-cell activation in response to Salmonella infection. *Review article Journal Immunology* 114 : 450-458.
- Sudha P, Mohammed S, Basheeruddin A, Sunil S D, Gowda K C. 2010. Immunomodulatory activity of methanolic leaf extract of *Moringa oleifera* in animals. *Indian J Physiol Pharmacol* 54 : 133-140.
- Sachan D, Jain S K, Nandlal S. 2011. N-vitro dan in-vivo efficacy of *Moringa oleifera* plant constituents in urolithiasis as antilithiatic drug. *Internasional Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 2 : 1638-1644.
- Susan M K, E John W, Rafi A. 2005. Effector and memory T-cell differentiation: implications for vaccine development. *Immunologi Nature Review* 2 : 251-262.
- Srinivasan A, Rosa M S G, Michael J, Michelle M S, Leo L, Stephen J M. 2007. Innate

- immune activation of CD4 T cells in salmonella infected mice is dependent on IL-18. *J Immunol* 178 : 6342-6349.
- Ugrinovic S, Menager N, Goh N, Mastroeni P. 2003. Characterization and development of T-cell immune responses in B cell Deficient (Igh^{-6/-}) mice with *Salmonella enterica* serovar typhimurium infection. *Infect Immun* 71 : 6808-6819.
- Warrington R, Watson W, Harold L K, Francesca R A. 2011. Review an introduction to immunology and immunopathology. *Allergy, Asthma and Clinical Immunology* 7 : 1-8.
- Watford W T, Masato M, Akio M, John J O S. 2003. The biology of IL-12: coordinating innate and adaptive immune responses. *Elsevier Cytokine & Growth Factor Reviews* 14 : 361-368.