

Pengaruh Ekstrak Daun *Centella asiatica* (L.) Urban terhadap Jumlah Leukosit dan Prosentase Limfosit Mencit *Balb/c* Diinfeksi *Salmonella typhimurium*

Effect of Centella asiatica (L.) Urban Leaves Extract toward Leukocyte Count and Lymphocyte Percentage in Balb/c Mice Infected with Salmonella typhimurium

Nida Puspita Ayu,¹ Lilis Suryani^{2*}

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

²Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

*Email: lilis_fkumy@yahoo.co.id

Abstrak

Demam tifoid adalah infeksi akut saluran pencernaan disebabkan oleh *Salmonella typhimurium*. *Centella asiatica* mengandung *triterpenoid* yang memiliki daya anti bakteri dan dapat meningkatkan fagositosis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun *C. asiatica* terhadap jumlah leukosit dan persentase limfosit pada mencit *Balb/c* yang diinfeksi *S. typhimurium*. Desain penelitian ini adalah eksperimental murni dengan *posttest-only control group design*. Subjek penelitian adalah 21 ekor mencit *Balb/c*, dibagi 7 kelompok ($n=3$), kelompok K1 (tidak diinfeksi), kelompok K2 (diinfeksi *S. typhimurium* tanpa diberi ekstrak), kelompok perlakuan (P1: ekstrak daun *C. asiatica* 125 mg/kgBB, P2: 250 mg/kgBB, P3: 500 mg/kgBB, P4: kloramfenikol 1.3 mg, P5: kloramfenikol 0,975 mg dan ekstrak daun *C. asiatica* 125 mg/kgBB). Rata-rata jumlah leukosit tertinggi sebesar $2,14 \cdot 10^4 \pm 5,196 \cdot 10^3$ (kelompok K2) dan terendah sebesar $9,067 \cdot 10^3 \pm 1,554 \cdot 10^3$ (kelompok K1). Rata-rata persentase limfosit tertinggi sebesar 79 ± 3.46 (kelompok K2) dan terendah sebesar 59.33 ± 6.03 (kelompok P3). Uji *Kruskal Wallis* terhadap leukosit dan limfosit didapatkan hasil $p > 0.05$. Uji *Mann Whitney* didapatkan hasil adanya perbedaan yang signifikan antara persentase limfosit kelompok P3 dengan kelompok K2 ($p < 0.05$). Disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun *C. asiatica* tidak berpengaruh terhadap jumlah leukosit dan persentase limfosit pada mencit *Balb/c* yang diinfeksi *S. typhimurium*.

Kata kunci: *Centella asiatica* (L.) Urban, *Salmonella typhimurium*, jumlah leukosit, limfosit

Abstract

Typhoid fever is acute infection in gastrointestinal track caused by Salmonella typhimurium. Centella asiatica contains triterpenoid which has antibacterial effect and can increase phagocytosis. This study aimed to determine the effect of C. asiatica leaves extract toward leukocyte count and lymphocyte percentage in Balb/c mice infected with S. typhimurium. This study was experimental with posttest-only group design. The subjects of this study were 21 Balb/c mice which divided into 7 groups (n=3). They were K1: negative control (were not infected), K2: positive control (infected without extract), P1: given 125, P2: 250 and P3: 500 mg/kgBW of C. asiatica leaves extract, P4: given 1.3 mg of chloramphenicol, and P5: given combination of 125 mg/kgBW C. asiatica leaves extract and 0.975 mg of chloramphenicol. The leukocyte count in blood was obtained using hemocytometer. This result show that the highest average leukocyte count was $2,14 \cdot 10^4 \pm 5,196 \cdot 10^3$ (K2 group) and the lowest of it was $9,067 \cdot 10^3 \pm 1,554 \cdot 10^3$ (K1 group). The highest average lymphocyte percentage was 79.00 ± 3.46 (K2 group) and the lowest was 59.33 ± 6.03 (P3 group). Kruskal Wallis test for leukocyte count and lymphocyte percentage gave result $p > 0.05$. Mann Whitney test the finding was significant difference between lymphocyte percentage of P3 group and K2 group ($p < 0.05$). It was concluded that there was no significant effect of oral administration of C. asiatica leaves extract toward leukocyte count and lymphocyte percentage in Balb/c mice infected with S. typhimurium.

Key words: *Centella asiatica* (L.) Urban, *Salmonella typhimurium*, leukocyte count, lymphocyte

PENDAHULUAN

Demam tifoid adalah infeksi akut pada saluran pencernaan yang disebabkan oleh *Salmonella typhi*.¹ Masa inkubasi *S. typhi* antara 3-21 hari, tergantung dari status kesehatan dan kekebalan tubuh penderita.² Pasien yang menderita demam tifoid biasanya mengalami demam tinggi 39°-40°C. Selain itu penderita merasa lemah, mengalami nyeri perut, pusing dan selera makan menurun.³ Pada fase awal penyakit, penderita demam tifoid selalu menderita demam yang naik bertahap tiap hari dan mencapai titik tertinggi pada akhir minggu pertama. Demam, biasanya terasa lebih tinggi saat sore atau malam hari dibandingkan pagi harinya.^{2,4}

S. typhi merupakan salah satu agen penyebab infeksi tersering di daerah tropis, terutama di tempat-tempat yang memiliki sanitasi yang buruk.⁵ Penularan *S. typhi* dapat terjadi melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi dan juga dapat melalui transmisi secara transplasental dari ibu hamil ke bayinya.⁶ Pada penelitian mengenai demam tifoid yang menggunakan mencit sebagai subjek penelitian, biasanya menggunakan bakteri *S. typhimurium* untuk menginfeksi mencit tersebut karena bakteri tersebut analogi penyebab demam tifoid pada manusia.⁷

Menurut WHO tahun 2003 diperkirakan terdapat sekitar 17 juta kasus demam tifoid di seluruh dunia dengan kejadian 600.000 kasus kematian tiap tahun. Insidensi kejadian demam tifoid diketahui lebih tinggi pada negara berkembang khususnya di daerah tropis, sehingga tak heran Indonesia pun menjadi salah satu negara yang memiliki angka kejadian demam tifoid cukup tinggi.⁸

Antibiotik lini pertama untuk demam tifoid adalah *kloramfenikol*, *ampisilin* atau *amoksisilin* dan

trimetoprim-sulfametoksazol, sedangkan antibiotik lini kedua untuk demam tifoid adalah *seftriakson*, *sefiksime* dan antibiotik golongan *quinolon*.⁹

Pengobatan menggunakan antibiotik tidak begitu aman karena ada beberapa antibiotik yang memiliki efek samping berbahaya dan memiliki tingkat resistensi tinggi yang dapat meningkatkan frekuensi kegagalan pengobatan dan keparahan infeksi.⁸

Tanaman herbal telah banyak digunakan sebagai obat alternatif dalam mengobati berbagai penyakit, salah satunya adalah pegagan (*Centella asiatica*) yang mengandung *alkaloid*, *saponin*, *tannin*, *flavonoid*, *triterpenoid*, *steroid* dan *glikosida*.¹⁰ Pegagan banyak mengandung *pentasiklik triterpenoid saponin* yang dikenal sebagai *centelloids*. Kandungan triterpenoid diantaranya *asiaticoside*, *centelloside*, *madecassoside*, *brahmoside*, *brahminoside*, *thankuniside*, *sceffoleoside*, *centellose*, *asiatic-*, *brahmica-*, *centellic-* dan *madecassic acid* dengan *asiaticoside* sebagai senyawa utamanya.^{11,12}

Beberapa penelitian *in vitro* terhadap pegagan, ditemukan bahwa pegagan memiliki kemampuan untuk menghancurkan berbagai bakteri penyebab infeksi, seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. typhi* dan sejenisnya, sementara dalam bentuk infus atau ekstrak etanol dipercaya dapat menghambat pertumbuhan bakteri.¹³ Menurut Jayathirta dan Mishra (2004),¹⁴ pemberian ekstrak pegagan 100 sampai 500 mg/kg BB pada mencit mampu meningkatkan total sel darah putih secara signifikan dan meningkatkan kemampuan fagositosis makrofag terhadap pembersihan karbon.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun *C. asiatica* terhadap jumlah

leukosit dan persentase limfosit pada mencit *Balb/c* yang diinfeksi *S. typhimurium*.

BAHAN DAN CARA

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laborator dengan *posttest-only control group design*. Subyek penelitian ini adalah mencit *Balb/C* sebab strain ini dapat menimbulkan imunitas seluler apabila diinokulasi dengan *S. typhimurium* hidup juga *susceptible* terhadap infeksi *S. typhimurium*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi FKIK UMY pada bulan Mei- Juli 2012.

Dua puluh satu ekor mencit *Balb/c* dibagi menjadi 7 kelompok yaitu kelompok K1 yaitu kelompok kontrol negatif (tidak diinfeksi *S. typhimurium*), kelompok K2 yaitu kelompok kontrol positif (diinfeksi *S. typhimurium*), kelompok P1-P5 yang diinfeksi *S. typhimurium* dengan berbagai perlakuan (diberi ekstrak daun *C. asiatica* 125 mg/kgBB; 250 mg/kgBB; 500 mg/kgBB, kloramfenikol 1,3 mg, kombinasi kloramfenikol 0,975 mg + *C. asiatica* 125 mg/kgBB). Ekstrak diberikan 3 kali sehari selama 7 hari sedangkan kloramfenikol diberikan 4 kali sehari selama 7 hari.

Kriteria inklusi meliputi galur murni *Balb/C*, jenis kelamin jantan, umur 8-10 minggu, berat badan 20-30 gram, aktif, sebelum diinfeksi *S. typhimurium*, sedangkan kriteria eksklusi adalah mencit mati sebelum tiba waktu observasi.

Status imunologi dalam penelitian ini diukur dengan parameter jumlah leukosit diperiksa dengan hemositometer dan persentase limfosit dari sediaan apus darah tepi diperiksa dengan sediaan apus darah tepi yang dilihat di bawah mikroskop cahaya dan dihitung persentasenya dalam 100 leukosit. *S. typhimurium* yang digunakan adalah strain *Salmo-*

nela virulen (*Phage type* 510) dengan LD50 10^6 CFU, sehingga dosis yang digunakan untuk pemeriksaan imunitas seluler adalah 10^5 CFU, yang diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi FK UGM. Sampel berupa darah yang diambil dari pembuluh darah retroorbital mencit dengan menggunakan kapiler hematokrit.

Pelaksanaan penelitian yaitu kelompok P1-P5 diberi pakan standar dan larutan ekstrak *C. asiatica* dengan dosis (P1) 3x125 mg/hr, (P2) 3x250 mg/hr, (P3) 3x500 mg/hr, (P4) larutan kloramfenikol 1.3 mg dan (P5) kombinasi larutan kloramfenikol 0.975 mg dan 125 mg/kgBB larutan ekstrak *C. asiatica* setelah 12 jam injeksi *S. typhimurium* secara intraperitoneal pada hari ke-1, dengan dosis yang sudah ditetapkan selama 7 hari. Pada hari ke-7 semua mencit *Balb/C* diambil darahnya untuk pemeriksaan jumlah leukosit dan persentase limfositnya.

Skala pengukuran data penelitian tentang angka kuman darah adalah rasio. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji *Kruskal Wallis* dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk membandingkan perbedaan *mean* antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

HASIL

Perhitungan jumlah leukosit dan persentase limfosit mencit *Balb/c* yang diinfeksi *S. typhimurium* diperoleh hasil seperti terlihat pada Tabel 1.

Pada Tabel 1. didapatkan rata-rata jumlah leukosit tertinggi pada kelompok K2 (kontrol positif) sebesar 21.400/mm³. Jumlah leukosit terendah terdapat pada kelompok K1 mencit *Balb/c* yang tidak diberi perlakuan apapun (kontrol negatif) dengan rata-rata jumlah leukosit 9.067 mm³.

Pada Tabel 1. tampak adanya peningkatan

Tabel 1. Rata-rata Leukosit dan Limfosit Mencit Balb/c yang Diinfeksi *S. typhimurium* dengan Berbagai Perlakuan

Nama Kelompok Leukosit	n	Rata-rata ± SD ribu per mm ³
K1	3	9,067.10 ³ ±1,554.10 ³
K2	3	21,4.10 ³ ±5,196.10 ³
P125	3	16,6.10 ³ ±9,362.10 ³
P250	3	15,8.10 ³ ±7,846.10 ³
P500	3	14,533.10 ³ ±4,244.10 ³
P4	3	17,067.10 ³ ±8,769.10 ³
P5	3	13,933.10 ³ ±5,077.10 ³
Limfosit		%
K1	3	68.67±2.101
K2	3	79.00±3.464
P1	3	69.33±1.457
P2	3	68.67±1.097
P3	3	59.33±6.028
P4	3	62.67±2.223
P5	3	64.67±1.457

Keterangan: K1: tanpa perlakuan; K2: diinfeksi *S. typhimurium*; P1: *S. typhimurium* + ekstrak *C. asiatica* 125 mg/kgBB; P2: *S. typhimurium* + ekstrak *C. asiatica* 250 mg/kgBB; P3: *S. typhimurium* + ekstrak *C. asiatica* 500 mg/kgBB; P4: *S. typhimurium*+ 1.3 mg kloramfenikol; P5: *S. typhimurium* + ekstrak *C. asiatica* 125 mg/kgBB + 0.975 mg kloramfenikol.

jumlah leukosit pada semua kelompok perlakuan dibanding kelompok K1 (kontrol negatif), kelompok perlakuan yang memiliki leukosit terendah adalah kelompok P5, yaitu kelompok yang diinfeksi *S. typhimurium* dan diberi ekstrak *C. asiatica* 125 mg/kgBB ditambah dengan 0.975 mg kloramfenikol. Kelompok perlakuan yang memiliki nilai leukosit tertinggi adalah P4, yaitu kelompok yang diinfeksi *S. typhimurium* dan diberi kloramfenikol 1.3 mg. Hasil uji statistik menggunakan *Kruskal Wallis* menunjukkan nilai $p=0.727$ ($p>0.05$), artinya perbedaan dosis pemberian ekstrak *C. asiatica* tidak mempengaruhi jumlah leukosit.

Tabel 1. menunjukkan rata-rata jumlah limfosit tertinggi pada kelompok K2 yaitu mencit Balb/c diinfeksi *S. typhimurium* (kontrol positif) dengan rata-rata jumlah limfosit sebesar 79%. Jumlah limfosit terendah terdapat pada kelompok P3 yaitu mencit Balb/c diberi 500 mg/kgBB ekstrak *C. asiatica* dengan rata-rata jumlah limfosit 59.33%.

Pada Tabel 1. Tampak terjadi penurunan persentase limfosit pada semua kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol positif (K2), persentase limfosit yang paling menurun terdapat pada kelompok P3, yaitu kelompok yang diinfeksi *S. typhimurium* dan diberi ekstrak *C. asiatica* 500 mg/kgBB, sedangkan kelompok perlakuan yang memiliki persentase limfosit paling tinggi adalah P1 yaitu kelompok yang diinfeksi *S. typhimurium* dan diberi ekstrak *C. asiatica* 125 mg/kgBB. Hasil uji statistik menggunakan *Kruskal Wallis* menunjukkan nilai $p=0.488$ ($p>0.05$), artinya perbedaan dosis pemberian ekstrak *C. asiatica* tidak mempengaruhi persentase limfosit.

Apabila setiap kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, maka hasil statistiknya sebagai berikut (Tabel 2.).

Pada Tabel 2. menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna jumlah leukosit antara semua kelompok perlakuan. Limfosit kelompok P3 (*S. typhimurium* + ekstrak *C. asiatica* 500 mg/kgBB) berbeda bermakna dengan kontrol positif namun nilai bermakna tersebut dikarenakan terjadi penurunan persentase limfosit yang signifikan bukan dikarenakan peningkatan persentase limfosit sesuai teori.

Tabel 2. Nilai p Leukosit dan Limfosit Kelompok Perlakuan terhadap Kelompok Kontrol Positif dengan Menggunakan Analisis Statistik *Mann-Whitney*

Kelompok Leukosit	n	Nilai p terhadap kelompok K2
P1	3	0.268
P2	3	0.507
P3	3	0.121
P4	3	0.507
P5	3	0.121
Limfosit		
P1	3	0.507
P2	3	0.246
P3	3	0.046
P4	3	0.121
P5	3	0.277

DISKUSI

Berdasarkan hasil uji *Kruskal Wallis* terhadap perbandingan dosis pemberian ekstrak *C. asiatica* dengan jumlah leukosit menunjukkan hasil dengan nilai $p=0,344$ ($p>0,05$), artinya perbedaan dosis pemberian ekstrak *C. asiatica* tidak mempengaruhi jumlah leukosit. Hasil serupa didapatkan pada uji *Man Whitney* terhadap perbandingan kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan yang menunjukkan hasil tidak terdapat kelompok perlakuan yang menunjukkan peningkatan leukosit yang bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol positif karena semua nilai $p > 0.05$.

Selanjutnya dilakukan uji *Kruskal Wallis* terhadap perbandingan dosis pemberian ekstrak *C. asiatica* dengan persentasi limfosit, hasil uji tersebut menunjukkan hasil dengan nilai $p=0,668$ ($p>0,05$), artinya perbedaan dosis pemberian ekstrak *C. asiatica* tidak mempengaruhi persentasi limfosit. Namun berdasarkan uji *Man Whitney* terhadap perbandingan kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan, didapatkan hasil terdapat satu kelompok perlakuan yang menunjukkan pengaruh limfosit bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, yaitu kelompok P3. Kelompok P3 yaitu kelompok yang diberi ekstrak *C. asiatica* 500 mg/kgBB dengan nilai $p=0,046$ ($p<0,05$). Namun nilai bermakna tersebut dikarenakan terjadi penurunan persentase limfosit yang signifikan bukan dikarenakan peningkatan persentase limfosit sesuai teori.

Penelitian Oyedeji dan Afolayan (2005),¹⁵ memberikan hasil minyak esensial ekstrak *C. asiatica* menunjukkan aktivitas antibakteri spektrum luas terhadap bakteri gram positif yaitu *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negatif *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shi-*

gella sonnei. Jagtap *et al.* (2009),¹⁶ mengemukakan penelitiannya bahwa ekstrak *C. asiatica* dengan pelarut air dalam konsentrasi yang rendah tidak menunjukkan efek anti bakterial namun ekstrak dengan petroleum eter menunjukkan akitivitas sedang dalam melawan bakteri. Selanjutnya, Durgadevi *et al.* (2012),¹⁷ menyebutkan bahwa penelitiannya menunjukkan hasil ekstrak methanolik dari *C. asiatica* efektif dalam melawan bakteri *E. coli*, *S.typhi* dan *B. subtilis* dengan konsentrasi di bawah 1 mg/mL. Penelitian selanjutnya yang dilakukan oleh Lee dan Vairappan (2011),¹⁸ mengenai efek antibakteri pada *C. asiatica* dengan menggunakan *disc* dan dilihat zona hambatnya didapatkan hasil bahwa ekstrak etanol pegagan ternyata mampu melawan bakteri gram positif seperti, *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, serta bakteri gram negatif seperti *Proteus mirabilis*, *P. aurelis*, *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *Vibrio cholera*.

Pada penelitian Jayathirta dan Mishra (2004),¹⁴ pemberian ekstrak *C. asiatica* 100 sampai 500 mg/kg BB pada mencit mampu meningkatkan total sel darah putih (*White Blood Cells/ WBC*) secara signifikan dan meningkatkan kemampuan fagositosis makrofag terhadap pembersihan karbon. Penelitian selanjutnya dilakukan Oktriana dan Nurlaela (2011),¹⁹ mengenai toksisitas dosis infusa *C. asiatica* yang di uji dengan tikus jantan galur *Sprague-Dawley* dengan salah satu parameternya sel darah putih ternyata infusa pegagan selama 14 hari tidak mempengaruhi kadar leukosit dalam darah, namun secara umum terjadi peningkatan jumlah leukosit walaupun tidak signifikan secara statistik karena didapatkan hasil $p=0.818$. Padayachee (2012),²⁰ mengemukakan bahwa ekstrak methanol dari *Amaranthus hybridus* dan *C. asiatica* menunjukkan

peningkatan sekresi IFN- γ dan CD8+ sel T sitotoksik dan sel B.

Berdasarkan penelitian Musnelina dkk (2004),²¹ kloramfenikol masih menjadi pilihan utama untuk demam tifoid pada manusia dan seftriakson dapat digunakan sebagai pilihan kedua dalam pengobatan demam tifoid, namun pada penelitian yang dilakukan Boxtael *et al.* (2012),²² mendapatkan hasil bahwa *S. typhimurium* yang diisolasi dari manusia ternyata resisten terhadap *ampicillin*, *kloramfenikol*, *streptomycine*, *sulfonamides* dan *tetracycline*.

Pada saat *Salmonella* masuk ke dalam tubuh, maka pertama kali akan berhadapan dengan barier alamiah tubuh, seperti asam lambung dan mukosa lalu yang bekerja selanjutnya adalah sel-sel fagosit polimorfonuklear. Peran leukosit terutama neutrofil untuk melawan infeksi *S. typhimurium* terutama diperlukan pada fase ke-2, tahap pertumbuhan eksponensial yaitu mulai hari I sampai III, dimana LPS dari *S. typhimurium* akan mengaktifasi neutrofil, baik secara langsung maupun melalui aktifitas komplemen.^{23,24,25} Respon imun dari sel-sel ini kurang efektif karena *Salmonella* merupakan bakteri intraseluler yang resisten terhadap enzim-enzim lisosom fagosit. Pada fase selanjutnya, yang berperan adalah respon imunitas spesifik yang teraktivasi oleh antigen *Salmonella*. Pada tahap ini, limfosit T akan mengaktifasi makrofag untuk memproduksi interleukin-2 (IL-2) yang akan mengaktifasi sel NK. Sel NK kemudian memproduksi IFN- γ yang akan mengaktifasi makrofag dan meningkatkan pembunuhan bakteri yang difagosit. Limfosit T yang teraktivasi oleh antigen dari *Salmonella* kemudian akan mengadakan proliferasi dan diferensiasi membentuk

klon-klon limfosit baru yang akan melisis sel terinfeksi *Salmonella*.²⁶

Pada saat infeksi *S. typhimurium* primer dapat terjadi reduksi sel T limpa yang disebabkan oleh kematian sel atau rekrutmen ke sirkulasi dan perifer. Induksi pelepasan sel T limpa ke perifer sebagai hasil inflamasi di tempat lain juga berkontribusi pada hilangnya sel T selama infeksi primer. Akan tetapi, sel-sel T limpa diaktivasi pada akhir infeksi *S. typhimurium* dan sel T yang memproduksi IFN- γ meningkat 5 hari setelah infeksi primer. Respon sel T CD4 yang spesifik *S. typhimurium* mulai terdeteksi 7 hari setelah infeksi, meskipun genetik dari respon adaptif mungkin bervariasi pada strain *S. typhimurium* yang dijumpai. Antibodi dan sel-sel T keduanya dibutuhkan untuk memanggil imunitas terhadap *S. typhimurium* virulen dan diyakini bahwa kemampuan untuk menimbulkan opsonisasi antibodi dalam respon imun seluler (*Cell-Mediated Immunity*) adalah penting untuk proteksi yang optimal terhadap bakteri tersebut.²⁷

Kloramfenikol bekerja dengan menghambat sintesis kuman. Kloramfenikol melekat pada sub unit 50S ribosom dan menghambat enzim menghambat peptidil transferase sehingga ikatan peptida tidak terbentuk pada proses sintesis protein kuman. Kloramfenikol terutama bersifat bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri) dan pertumbuhan mikroorganisme dapat dimulai lagi bila pemberian obat dihentikan (karena kerja obatnya bersifat *reversible*).²⁸

Mikroorganisme yang resisten terhadap kloramfenikol membentuk enzim kloramfenikol asetiltransferase, yang merusak aktivitas obat. Produksi enzim ini biasanya dikontrol oleh suatu plasmid.

Kloramfenikol adalah suatu penghambat kuat sintesis protein mikroba dan mempunyai efek yang kecil pada fungsi metabolisme mikroba lainnya. Kebanyakan bakteri gram positif dihambat oleh kloramfenikol pada konsentrasi 1-10¼g/ml, dan banyak bakteri gram negatif dihambat oleh konsentrasi 2-5 ¼g/ml.²⁹

C. asiatica diketahui memiliki aktivitas imunomodulator.³⁰ Agen imunomodulator baik dari substansi yang alami maupun sintetik, keduanya mempengaruhi sistem imun dan memberikan keuntungan untuk pengobatan. Keduanya masuk ke dalam tubuh kemudian mengaktifkan makrofag dan granulosit sehingga dapat meningkatkan fagositosis. Aktivasi makrofag tidak hanya menunjukkan peningkatan fagositosis tapi juga merubah sel sekretori sebagai sel efektor sitotoksik. Hasilnya, hal tersebut sering dapat menstimulasi atau bahkan menekan sistem imun humoral dan selular.³¹ Imunomodulator dapat membantu untuk regulasi atau menormalkan kembali sistem imun. Imunomodulator memperbaiki kembali sistem imun yang tidak seimbang, memperbaiki sistem imun yang lemah, dan sistem imun yang terlalu aktif tetapi tidak meningkatkan sistem imun seperti yang dilakukan oleh imunostimulant. Imunomodulator direkomendasikan untuk orang yang menderita penyakit autoimun dan digunakan secara luas untuk penyakit kronis dalam memulihkan sistem imun pada orang yang mendapat terapi antibiotik dan anti-viral jangka panjang.³¹

Tujuh golongan senyawa kimia yang terdeteksi pada *C. asiatica* diantaranya *alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, triterpenoid, steroid* dan *glikosida*.¹⁰ *C. asiatica* banyak mengandung *pentasiklik triterpenoid saponin* yang dikenal sebagai *centelloids*.

Kandungan *triterpenoid* diantaranya *asiaticoside, centelloside, madecassoside, brahmoside, brahminoside, thankuniside, sceffoleoside, centellose, asiatic-, brahmic-, centellic- dan madecassic acid* dengan *asiaticoside* sebagai senyawa utamanya.^{11,12}

Senyawa-senyawa yang terkandung dalam *C. asiatica* memiliki manfaat masing-masing yaitu senyawa *triterpenoid* pada *C. asiatica* bersifat antimikroba dan berperan dalam melindungi tanaman dari infeksi patogen.¹² Senyawa *asiaticoside* yang terkandung dalam *triterpenoid* merupakan salah satu jenis antibiotik alami dan juga berpotensi sebagai imunomodulator. Senyawa *asiaticoside* banyak terkumpul dibagian daun *C. asiatica*.³²

Flavonoid bersifat lipofilik yang dapat merusak membran mikroba. *Flavonoid* yang terdapat pada suatu tanaman bisa meningkatkan IL-2 dan proliferasi limfosit. Proliferasi limfosit akan mempengaruhi sel CD4, kemudian menyebabkan sel Th1 teraktivasi. Sel Th1 yang teraktivasi akan mempengaruhi molekul-molekul termasuk IFN³ yang dapat mengaktifkan makrofag, sehingga makrofag mengalami peningkatan metabolik, motilitas dan aktivitas fagositosis secara cepat dan lebih efisien dalam membunuh, bakteri atau mikroorganisme patogen.³³

Pada penelitian ini, dilakukan dua kali pemberian *S. typhimurium* secara intraperitoneal dikarenakan mencit Balb/C yang tidak menunjukkan gejala infeksi seperti gerakan yang melemah, nafsu makan menurun dan bulu yang kasar. Mendiagnosis mencit Balb/C menderita demam tifoid tidaklah mudah karena mencit yang sakit ternyata tidak selalu menunjukkan tanda-tanda gejala infeksi yang telah

disebutkan di atas. Oleh karena itu, peneliti memutuskan untuk menginfeksi ulang seluruh mencit yang diberi perlakuan. Selain itu, tidak munculnya gejala kemungkinan bisa dikarenakan dosis infeksi *S. typhimurium* yang tidak adekuat.

SIMPULAN

Pemberian ekstrak daun *C. asiatica* tidak berpengaruh terhadap jumlah leukosit dan persentase limfosit mencit Balb/C yang diinfeksi *S. typhimurium*. Dosis ekstrak daun *C. asiatica* yang mampu menurunkan persentase limfosit pada mencit Balb/C yang diinfeksi *S. typhimurium* secara signifikan adalah ekstrak daun *C. asiatica* 500 mg/kgBB.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih peneliti sampaikan kepada LP3M, selaku pemberi dana penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Widoyono. *Penyakit Tropis Epidemiologi, Penularan, Pencegahan & Pemberantasannya*. Jakarta: Erlangga. 2008.
2. Hendarta, DS. *Demam Tifoid*. Yogyakarta: FK UII. 2011.
3. Center for Disease Control and Prevention (CDC). *Typhoid Fever*. 2010. Diakses pada tanggal 13 April 2012 dari: http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/typhoid_fever/.
4. Bruschi JL. *Typhoid Fever. Differential Diagnoses and Work Up*. 2011. Diakses pada tanggal 13 April 2012 dari: <http://emedicine.medscape.com/article/231135-diagnosis>
5. Brooks G.F., Butel J.S. & Morse S.A. *Medical Microbiology* (22nd ed.). USA: Appleton & Lange. 2001. p. 219, 225 – 227.
6. Soedarmo, SPS., Herry, G., Sri Rezeki, SH., Hindra, IS. *Buku Ajar Infeksi & Pediatri Tropis* (edisi kedua). Jakarta: IDAI. 2008.
7. European Bioinformatics Institute (EBI). *Salmonella paratyphi*. 2012. Diakses dari http://www.ebi.ac.uk/2can/genomes/bacteria/Salmonella_paratyphi.html. pada tanggal 10 April 2012
8. World Health Organization (WHO). *Drug Resistant Salmonella*. 2005. Diakses dari: <http://www.who.int/mediacenter/factsheets/fs139/en/print.html> pada tanggal 10 April 2012.
9. Musnelina, L., Afdhal A.F., Gani, A., Andayani, P. Pola Pemberian Antibiotika Pengobatan Demam Tifoid Anak di Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Tahun 2001–2002. *MAKARA of Health Series*, 2004; 8 (1): 27-31.
10. Bermawie, N., Purwiyanti S. dan Mardiana. *Keragaman Sifat Morfologi, Hasil dan Mutu Plasma Nutfah Pegagan (Centella asiatica (L.) Urban.)*. 2008. Diakses dari: <http://balitro.litbang.deptan.go.id/ind/images/stories/Buletin/20081/1-pegagan.pdf> pada tanggal 12 April 2012.
11. Bermawie, N. dan Purwiyanti, S. *Karakterisasi dan Evaluasi Plasma Nutfah Pegagan pada Berbagai Kondisi Agroekologi*. Laporan Teknis Hasil Penelitian Tahun 2007. 2007.
12. James, J.T. and I.A. Dubery. Pentacyclic triterpenoids from the medicinal herb, *Centella asiatica* (L.) Urban. *Molecules*, 2009; 14 (10): 3922-3941.
13. Agoes, A. *Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Salemba Medika. 2010.
14. Jayathirtha, MG and Mishra SH. Preliminary Immunomodulatory Activities of Methanol Ex-

- tracts of *Eclipta alba* and *Centella asiatica*. *Phytomedicine*, 2004; 11 (4): 361-5.
15. Oyedeeji, O.A. & Afolayan, A.J. Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Centella asiatica*. Growing in South Africa. *Pharmaceutical Biology*, 2005; 43 (3): 249.
 16. Jagtap, N.S., S.S. Khadabadi, D.S. Ghorpade, N.B. Banarase & S.S. Naphade. Antimicrobial and Antifungal Activity of *Centella asiatica* (L.) Urban, Umbeliferae. *Res J Pharm and Tech*, 2009; 2 (2): 328-330.
 17. Durgadevi, M., Prabu, M., Tamilvendan, M., Kalaichelvan, P.T and Kaviyarasan. Synergistic Antibacterial Effect of Methanolic Extract of Certain Indian Medicinal Plants. *J Modern Biotechnology*, 2012; 1 (1): 15–18.
 18. Lee and Vairappan. *Antioxidant, Antibacterial and Cytotoxic Activities of Essential Oils and Ethanol Extracts of Selected South East Asian Herbs*. Laboratory of Natural Products Chemistry, Institute for Tropical Biology and Conservation, Universiti Malaysia Sabah. 2011.
 19. Oktriana, NH dan Nurlaela. *Toksistas Pemberian Berulang Infusa Pegagan (Centella Asiatica (L.) Urb.) pada Tikus Jantan Galur Sprague-Dawley Tinjauan terhadap Parameter Hematologis*. Prosiding Seminar Nasional Sains Dan Teknologi Fakultas Teknik. 2011.
 20. Padayachee, B. Immunomodulatory Activities of Non-commercialized Leafy Vegetables in KwaZulu-Natal, South Africa. 2012. Di akses dari: <http://hdl.handle.net/10321/722> pada tanggal 2 Desember 2012.
 21. Musnelina, L., Afdhal A.F., Gani, A., Andayani, P. Pola Pemberian Antibiotika Pengobatan Demam Tifoid Anak di Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Tahun 2001 – 2002. *MAKARA of Health Series*, 2004. Vol 8, No 1.
 22. Zhang S, Adams LG, Nunes J, Khare S, Tsolis RM and Bäumlner AJ. Secreted Effector Proteins of *Salmonella enterica* Serotype *Typhimurium* elicit Host-Specific Chemokine Profiles in Animal Models of Typhoid Fever and Enterocolitis. *Infect Immun*, 2003; 71 (8): 4795-4803.
 23. Purwoko Y. *Pengaruh Ekstrak Bawang Putih (Allium sativum) terhadap Respon Imun Seluler Mencit Balb/C yang Diinfeksi Salmonella typhimurium*. Masters thesis, Program Pendidikan Pasca sarjana Universitas Diponegoro. Semarang. 2003.
 24. Monack DM, Bouley DM, Falkow S. *Salmonella typhimurium* Persists within Macrophages in the Mesenteric Lymph Nodes of Chronically Infected Nramp1+/+ Mice and can be Reactivated by IFN γ Neutralization. *JEM*, 2004; 199 (2): 231-41.
 25. Giannella RA. *Salmonella*. In: Baron S, ed. online version of the Medical Microbiology textbook. 2004.
 26. Arnas, Y. *Pengaruh Pemberian Seduhan Teh Hitam (Camellia sinensis) dengan Dosis Ber tingkat terhadap Proliferasi Limfosit Mencit BALB/c yang Diinokulasi Salmonella typhimurium*. Semarang: Universitas Diponegoro. 2009.
 27. Institut for International Cooperation Animal Biologics (IICAB). *Characters Salmonella*. 2005. Diakses pada 2 Desember 2012 dari <http://www.geocities.com>.
 28. Gunawan, g. *Farmakologi dan Terapi*. UI; Salemba. 2007.

29. Katzung, BG. *Farmakologi Dasar & Klinik Edisi VI*. Jakarta: EGC. 1998.
30. Punturee K, Wild CP, Kasinrerck W, Vinitketkumnun U. Immunomodulatory Activities of *Centella asiatica* and *Rhinacanthus nasutus* Extracts. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 2005; 6 (3): 396-400.
31. Saxena, R., Sharma, A., Bharti, M., Rathore, M. Immunomodulator A New Horizon: An overview. *J Pharm Res*, 2012; 5 (4): 2306-2310.
32. Zainol, N.A., S.C. Voo, M.R. Sarmidi & R.A. Aziz. Profiling of *Centella asiatica* (L.) Urban Extract. *The Malaysian J Analytical Sciences*, 2008; 12 (2): 322-327.
33. Ukhrowi, U. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Bidara Upas (Merremia mammosa) terhadap Fagositosis Makrofag dan Produksi Nitrit Oksida (NO) Makrofag Studi pada Mencit Balb/c yang Diinfeksi Salmonella typhimurium*. Tesis. Semarang: Universitas Diponegoro. 2011.