

Efektivitas Ekstrak Daun Kelor Merah sebagai Usaha Preventif terhadap Perkembangan Sel B (SDF-1) dan Sel Granulosit (Gr-1) pada Mencit Balb/c yang diinjeksi *Salmonella typhi*

MM Riyaniarti Estri Wuryandari ^{✉1)}, Hartati Tuna²⁾

¹⁾ Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri, Indonesia

²⁾ Program Studi D4 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Teknologi Manajemen Kesehatan Bhakti Wiyata, Kediri

Info Artikel

Diterima: 08 September 2023

Disetujui: 21 November 2023

Dipublikasikan: 28 November 2023

Keywords

B cell, Flowcytometri, Granulosit, Moringa oleifera

Flowcytometri, Kelor, Sel B, Sel Granulosit

Abstract

An infection caused by *Salmonella typhi* can cause a reaction to DNA damage, causing a delay in the cell cycle, either temporarily or permanently, and can also cause cell death and a permanent delay in the cell cycle, causing a decrease in the self-renewal ability of haematopoietic stem cells, causing continued damage. in hematopoietic cells. Improving the immune system in the body can be done by administering synthetic drugs in the form of antibiotics or giving herbal supplements. Red Moringa has the ability as an immunostimulant and immunomodulator. The research aims to determine the effectiveness of Moringa leaf extract on the expression of B cell and granulocyte cell development due to exposure to *Salmonella Typhi*. The research design used experimental research using treatment groups and non-treatment groups in mice injected with salmonella typhi. Data from flow cytometry were analyzed using BD Cellquest Pro™ software (%) and first transformed using arc sin transformation. The arc sin transformation results were analyzed using one-way \rightarrow ANOVA at a confidence level of 95% ($\alpha=0.05$). Data are presented in the form of mean \pm standard error (SE). The results of the research on the relative number of SDF+Gr+ cells at doses of 42 and 84 mg/BW showed significantly different results from diseased controls, while the relative number of SDF+B220+ cells at doses of 14 and 42mg/BW of Moringa leaf extract showed significantly different results from diseased controls.

Abstrak

Adanya infeksi yang disebabkan *Salmonella typhi*, dapat menyebabkan reaksi terhadap kerusakan DNA dan menyebabkan penundaan siklus sel secara permanen yang dapat menyebabkan terjadinya penurunan kemampuan *self-renewal haematopoietic stem cell* sehingga menyebabkan kerusakan berlanjut pada sel hematopoietik. Peningkatan sistem imun dalam tubuh dapat dilakukan dengan terapi pemberian obat-obatan sintetik ataupun pemberian suplemen herbal. Kelor merah yang memiliki kemampuan sebagai imunostimulan dan immunomodulator. Penelitian bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun kelor terhadap ekspresi perkembangan sel B dan Sel Granulosit akibat paparan *Salmonella typhi*. Rancangan penelitian menggunakan penelitian eksperimen yang menggunakan kelompok treatment dan kelompok non treatment pada mencit yang diinjeksi salmonella typhi. Data hasil *flowcytometry* dianalisis menggunakan *software* BD Cellquest Pro™ (%) dan ditransformasi terlebih dahulu menggunakan transformasi *arc sin*. Hasil transformasi *arc sin* dianalisis dengan menggunakan ANOVA satu jalur pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$). Data disajikan dalam bentuk rerata \pm standar eror (SE). Hasil penelitian pada jumlah relatif sel SDF+Gr+ pada dosis 42 dan 84 mg/BB menunjukkan beda nyata dari kontrol sakit, sedangkan jumlah relatif sel SDF+B220+ dosis ekstrak daun kelor 14 dan 42mg/BB menunjukkan hasil beda nyata dari kontrol sakit.

© 2023 Universitas Negeri Semarang

[□] Alamat korespondensi:
Gedung Adipadma lantai 3 IIK Bhakta Kediri
E-mail: mm.riyaniarti@iik.ac.id

p-ISSN 2252-6277

e-ISSN 2528-5009

PENDAHULUAN

Secara fisiologis fungsi dari sistem imun yang paling penting adalah untuk mencegah dan menghilangkan infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme yang patogen. Mekanisme umum dari imunostimulan yaitu memperbaiki ketidakseimbangan system imun dengan cara meningkatkan imunitas baik yang spesifik ataupun yang non spesifik (Baratawidjaja & Rengganis, 2012). Secara umum, sel-sel yang terlibat dalam sistem imun adalah sel T dan sel B yang masing-masing dihasilkan oleh timus dan sumsum tulang. Pada proses perkembangan sel-sel tersebut dapat dilakukan stimulasi dengan suatu imunostimulan. Kelenjar limfa adalah organ limfoid sekunder yang mengandung sel limfosit B dan T yang berfungsi dalam proses imun spesifik. Selain itu, pada limfa terdapat sel dendritik dan makrofag yang berfungsi sebagai antigen presenting cell yang dapat memberikan antigen kepada sel limfoid (Handayani *et al.*, 2015), yang selanjutnya sel B akan memproduksi antibodi.

Salmonella typhi biasanya dapat menginfeksi manusia yang mengkonsumsi makanan atau air, yang terkontaminasi dengan kotoran manusia yang mengandung bakteri tersebut dan masih dapat bertahan hidup dari penghalang pH lambung di perut sebelum menempel di usus kecil (Rifa'i M, 2013). Penyebaran organisme dari bercak Peyer terjadi melalui sistem limfatik dan aliran darah (Fathir *et al.*, 2014; Rifa'i, 2013). Replikasi seluler dalam sistem retikuloendotelial merupakan ciri khas penyakit ini dan pada akhirnya menyebabkan gejala sistemik. Dengan adanya infeksi yang disebabkan *S. typhi*, dapat menyebabkan reaksi terhadap kerusakan DNA sehingga menyebabkan penundaan siklus sel, baik sementara maupun permanen, serta dapat pula menyebabkan kematian sel. Adanya kematian sel (apoptosis) dan penundaan siklus sel secara permanen menyebabkan terjadinya penurunan kemampuan *self-renewal haematopoietic stem cell* sehingga menyebabkan kerusakan berlanjut pada sel hematopoietik. *Hematopoietic stem cells* (HSC) berfungsi untuk mengembangkan semua efektor sel dari sistem hematopoiesis. HSC memiliki potensi perkembangan yang sangat besar yaitu *single stem cell* dapat menyusun keseluruhan system dalam darah (Gazit *et al.*, 2008).

Stromal Cell Derived Factor 1 (SDF-1) merupakan kemokin untuk homeostasis, fungsi untuk meregulasi proses *trafficking* sel-sel hematopoietik, serta berfungsi untuk mendukung proliferasi sel T, sel B dan untuk pembentukan jaringan limfoid sekunder. Leukosit granulosit dapat dibagi berdasarkan morfologinya menjadi neutrofil, eosinofil, dan basofil. Tiap sel tersebut bermula sebagai sel stem multipotensial pada sumsum tulang. Rifa'i (2013) menyatakan bahwa sel-sel granulosit terutama neutrophil mengekspresikan molekul Gr-1 (atau Ly-6G), sehingga sangat baik untuk dijadikan marker neutrofil. Gr-1 merupakan penanda diferensiasi sel progenitor myeloid. Peningkatan ekspresi Gr-1 terjadi ketika sel myeloid telah berdiferensiasi menjadi sel granulosit matang. Gr-1 juga diekspresikan oleh makrofag serta monosit pada tahap perkembangannya (Yuri *et al.*, 2019). Meskipun monosit-makrofag dan sel granulosit lain juga termasuk sel fagosit, PMN merupakan leukosit utama yang berhubungan dengan fagositosis dan inflamasi lokal. PMN dapat memperpanjang reaksi inflamasi melalui pelepasan substansi larut, seperti sitokin dan kemokin. Peran neutrofil dalam memengaruhi respon imun adaptif antara lain menghantarkan patogen ke organ nodus limfa, presentasi antigen, dan modulasi respon sel T helper tipe 1 dan 2. Granula pada neutrofil mengandung berbagai substansi antibakteri.

Selama proses fagosit, pelepasan enzim antimikroba yang kuat juga merusak integritas sel itu sendiri. Neutrofil juga dapat menghilang dari sistem pernapasan, pencernaan, dan urin, dimana mereka berperan dalam aktivitas fagosit.

Salah satu cara dalam mengantisipasi terjadinya infeksi *Salmonella typhi* adalah dengan meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Peningkatan sistem imun dalam tubuh dapat dilakukan dengan pemberian suplemen herbal. Namun beberapa dekade belakangan ini, banyak penelitian yang menyatakan bahwa pemberian obat sintetik dapat menimbulkan resistensi terhadap infeksi bakteri (Crump dkk, 2010; Kumar dkk, 2009). Oleh karena itu, pengembangan alternatif pilihan untuk pengobatan atau tujuan pencegahan untuk mengurangi kerusakan jaringan yang disebabkan oleh virulensi *Salmonella typhi* sangat dibutuhkan, karena *Salmonella typhi* sudah menjadi multiresisten terhadap antibiotik (Kumar&Kumar, 2021). Di Indonesia terdapat pohon kelor merah yang memiliki kemampuan sebagai imunostimulan dan immunomodulator (Fatmawati *et al.*, 2020). Pada sistem imun non spesifik daun kelor dapat meningkatkan fagositosis makrofag untuk mengeliminasi *Salmonella typhi* (Wuryandari *et al.*, 2019; Wuryandari *et al.*, 2020).

Pada sistem imun spesifik yaitu proliferasi sel B, sel T yang memproduksi antibodi dalam tubuh. Selain itu dapat juga memiliki kemampuan memproduksi sitokin yang digunakan sebagai adjuvant non imunogenik dalam penyakit infeksi (Thyagarajan, 2018). Daun kelor yang banyak mengandung senyawa aktif salah satunya adalah dapat meningkatkan antioksidan endogen SOD-2 dan HO-1 melalui pengaktifan jalur Nrf 2, yang dapat mencegah terbentuknya ROS yang berlebihan akibat infeksi dari *Salmonella typhi* sehingga dapat mencegah adanya kerusakan sel hematopoietik (Wuryandari *et al.*, 2020; Fatmawati *et al.*, 2020).

METODE

Deskripsi Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan untuk penelitian adalah mencit betina (*Mus musculus*) galur Balb/C sekitar 20 gram, umur \pm 6 minggu dengan kriteria kondisi sehat, bergerak aktif, rambut halus, mengkilap, tidak rontok, dan kaki tidak cacat. Penelitian ini terdiri dari variabel terikat yaitu perkembangan sel B (SDF-1) dan sel Granulosit (Gr-1), serta variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak daun kelor merah dan injeksi *Salmonella typhi*. Semua percobaan dilakukan berdasarkan persetujuan Etik dari Universitas Brawijaya dengan no. 829-KEP-UB.

Preparasi Kultur *Salmonella typhi* dan Uji Konfirmasi *Salmonella Typhi*

Bakteri yang digunakan sebagai agen infeksi yaitu berupa *Salmonella typhi* strain yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Jumlah bakteri yang diinfeksi sebanyak 10^7 CFU/ml dalam 0,5 ml per mencit (Hefni *et al.*, 2013). Setelah dilakukan infeksi selama 24 jam kemudian dilakukan uji konfirmasi *Salmonella typhi* untuk mengetahui apakah bakteri telah menginfeksi mencit atau belum. Uji konfirmasi dilakukan dengan cara mengambil darah mencit melalui pembuluh *vena caudalis* (ekor). Mencit dimasukkan kedalam penyungkup lalu bagian

ekornya diusap menggunakan alkohol 70% agar steril dan terhindar dari rasa nyeri. Ekor mencit kemudian dipotong \pm 2mm dari ujung. Tetesan darah pertama diusap dengan tisu, lalu ekor diurut dari pangkal ekor menuju ke ujung ekor hingga darah dari mencit keluar. Tetesan darah ditampung ke dalam *microtube* yang telah diisi dengan antikoagulan hingga mencapai volume 50 μ L, lalu ditambah larutan NaCL fisiologi steril sebanyak 450 μ L. Darah hasil isolasi kemudian ditanam pada media NB dan diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator dengan suhu 37°C, dengan kecepatan 120 rpm. Hasil isolasi pada media NB kemudian diinokulasikan pada media selektif *Salmonella typhi* yakni media Xylose-Lysine-Deoxycholate (XLD). Dengan menggunakan media ini, *Salmonella typhi* akan membentuk koloni yang ditandai dengan inti yang berwarna hitam, koloni berwarna putih bening. Konfirmasi selanjutnya adalah uji katalase. Uji katalase dilakukan dengan mengambil 1 ose dari biakan bakteri lalu diletakkan di kaca objek yang telah terdapat tetesan H₂O, hasil positif H₂O akan menunjukkan adanya gelembung, sedangkan negatif tidak akan menghasilkan gelembung. Uji selanjutnya adalah uji pengecatan gram yang dilakukan dengan cara mengambil 1 ose biakan bakteri murni kemudian diusapkan (O'Toole, 2016).

Pembuatan Ekstrak Daun Kelor Menggunakan Etanol 70%

Pembuatan ekstrak daun kelor dilakukan menggunakan metode maserasi. dengan cara menyiapkan daun kelor yang sudah kering, kemudian diblender untuk didapatkan simplisia. Diambil 100 g simplisia kemudian dicampur dengan etanol 70% sebanyak 1000 ml. Simplisia yang telah dicampur dengan etanol didiamkan pada suhu ruang selama 72 jam dan dihomogenkan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 125 rpm selama 60 menit. Setelah 72 jam, untuk mendapatkan filtratnya dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring Whatmann ukuran 1. Filtrat hasil penyaringan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan kecepatan 70 rpm dan suhu 50°C (Sikder *et al.*, 2013). Kemudian di *Freeze Drying* (Fuadah *et al.*, 2015).

Pengelompokan Hewan coba

Perlakuan yang diberikan yakni berupa pemberian ekstrak daun kelor merah. Jumlah hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebanyak 35 ekor, untuk 5 kelompok masing-masing 4 ekor mencit, dengan 3 ekor mencit per kelompok sebagai cadangan jika terjadi *drop out* atau kematian. Total hewan coba yang digunakan adalah sebanyak 35 ekor mencit. Pembagian kelompok perlakuan mencit dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pembagian Kelompok Perlakuan Mencit

Kelompok Mencit	Perlakuan
Kontrol Sehat (K-)	Mencit sehat, mencit yang tidak diinfeksi <i>Salmonella typhi</i> dan tidak diberi ekstrak daun kelor, diberi pakan dan aquadest saja.
Kontrol Positif (K+)	Mencit yang diinfeksi <i>Salmonella typhi</i> 10 ⁷ CFU/ sebanyak 0,5 ml mencit tetapi tidak diberikan ekstrak daun kelor, diberi pakan dan aquadest.
Ekstrak Daun Kelor Dosis 1 (14 mg/kgBB/hari)	Mencit diberikan ekstrak daun kelor dosis 14 mg/kgBB/hari, diberi pakan dan aquadest dan mencit diinfeksi 0,5 ml <i>Salmonella typhi</i> sebanyak 10 ⁷ CFU/mencit.
Ekstrak Daun Kelor Dosis 2 (42 mg/kgBB/hari)	Mencit diberikan ekstrak daun kelor dosis 42 mg/kgBB/hari, diberi pakan dan aquadest dan mencit diinfeksi 0,5 ml <i>Salmonella typhi</i> 10 ⁷ CFU/mencit
Ekstrak Daun Kelor Dosis 3 (84 mg/kgBB/hari)	Mencit diberikan ekstrak daun kelor dosis 84 mg/kgBB/hari, diberi pakan dan aquadest dan mencit diinfeksi 0,5 ml <i>Salmonella typhi</i> 10 ⁷ CFU/mencit.

Isolasi dan Pewarnaan Sel Menggunakan Antibodi Spesifik

Mencit jantan setelah dua puluh dua minggu dengan perlakuan/tanpa fermentasi daun kelor elisitasi dipuasakan semalam, kemudian dikorbkan dengan cara dislokasi leher. *Bone Marrow* diambil, dicuci sebanyak tiga kali menggunakan *phosphate buffer saline* (PBS). *Bone Marrow* diletakkan di cawan petri steril berisi PBS kemudian digerus hingga memperoleh homogenat. Homogenat yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam tabung propilen 15 mL dan ditambahkan PBS hingga volumenya mencapai 10 mL. Homogenat selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 5 menit pada suhu 100°C. Supernatan hasil sentrifugasi dibuang sedangkan pellet yang diperoleh ditambah 1 mL PBS, kemudian diresuspensi hingga homogen. Homogenat diambil 60 µL dan dimasukkan ke dalam tabung 1,5 mL yang telah berisi 500 µL PBS. Homogenat dibagi ke dalam tabung 1,5 mL sejumlah 70 tabung atau sebanyak pewarnaan antibodi yang akan dilakukan. Homogenat selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 5 menit pada suhu 100°C. Supernatan dibuang kemudian pellet diwarnai dengan antibodi FITC-*Conjugated anti-mouse* Gr-1 (Fuadah *et al.*, 2015).

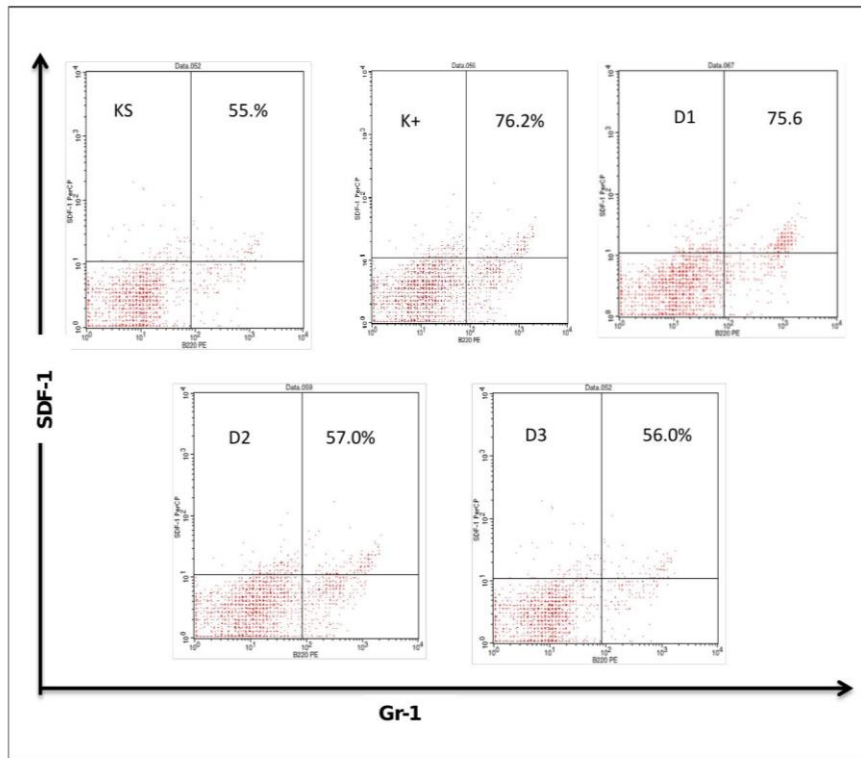
Analisis *Flowcytometry*

Analisis *flowcytometry* dilakukan dengan cara memasang kuvet yang berisi sampel pada nozzle BD Biosciences FACS Calibur™ *flowcytometry*. Pengaturan plot dilakukan pada *acquiring mode* dan *flowcytometry* dipastikan dalam keadaan *low-run*. Kuvet dipasang setelah *flowcytometry* siap digunakan. *Gated* atau seleksi populasi sel dilakukan sesuai dengan jenis sel yang akan dianalisis. Kuadran dan histogram dibuat berdasarkan pewarnaan antibodi spesifik yang digunakan dan ekspresi sel yang tampak (Athoilah MF *et al.*, 2021).

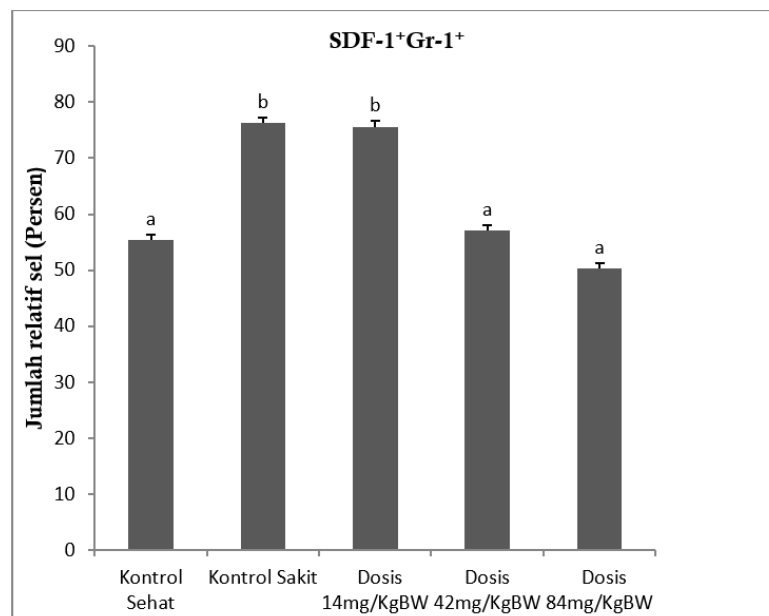
HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Jumlah Relatif Sel SDF-1⁺ Gr-1⁺

Hasil penelitian data *Flowcytometry* Jumlah relatif sel Gr-1⁺SDF⁺ disajikan dalam bentuk Gambar 1, dan hasil grafik perhitungan jumlah relatif sel Gr-1⁺ disajikan pada Gambar 2



Gambar 1. Jumlah relatif sel SDF-1⁺Gr-1⁺dianalisis dari *bone marrow* dengan metode *flowcytometry* KS (Kontrol sehat); K+ (Kontrol Sakit); D1 (Dosis 14mg/BB); D2 (Dosis 42mg/BB); D3 (Dosis 84mg/BB).



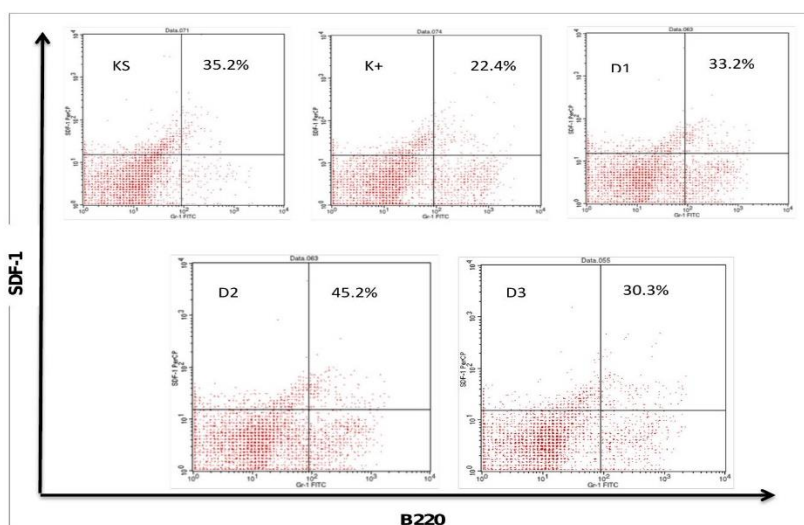
Gambar 2. Grafik perhitungan jumlah relatif sel SDF-1⁺Gr-1⁺ Data diperoleh dari rata-rata ± SD pada perlakuan dosis 42 dan 84mg/BB dengan *p-value* = 0.05. Berdasarkan Uji Tukey huruf yang berbeda menunjukkan beda nyata terhadap kontrol sakit.

Dari hasil gambar 1 dan 2 dapat dijelaskan bahwa hasil perhitungan jumlah relatif sel SDF-1⁺Gr-1⁺ diperoleh rata-rata pada kelompok perlakuan pada dosis 14mg/BB (75.6%), pada dosis 14mg/BB masih belum dapat mengembalikan level jumlah relative sel granulosit, sedangkan dosis 42mg/BB (57%) dan dosis 84mg/BB (56%) menunjukkan hasil yang mendekati kelompok kontrol sehat yaitu (35.2%), dan dosis 42 mg/BB memiliki kemampuan mengembalikan level jumlah relatif sel SDF-1⁺Gr-1⁺ yang efisien dalam mengembalikan jumlah relative sel granulosit.

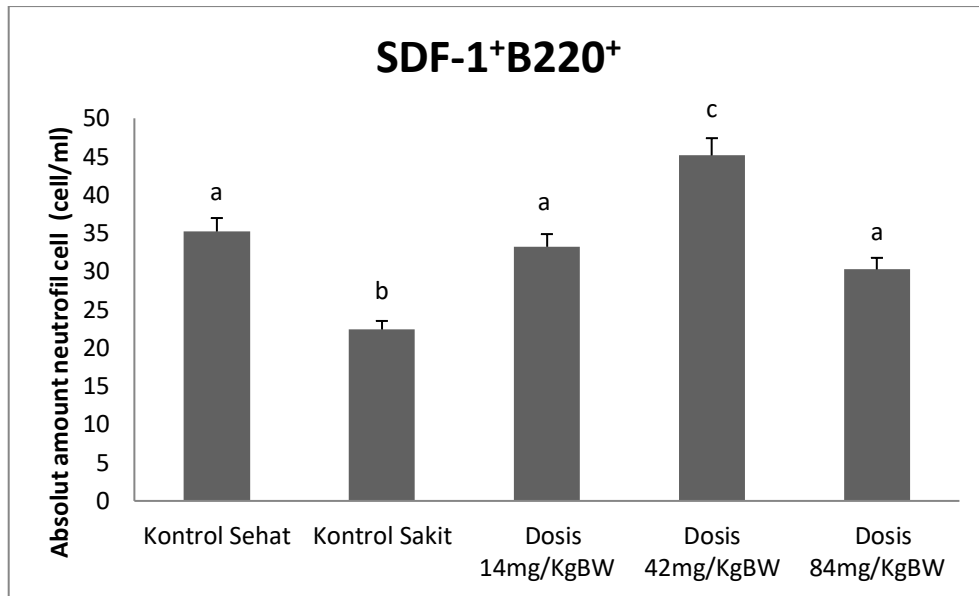
Sel granulosit terutama neutrophil mengekspresikan molekul Gr-1 (atau Ly-6G), sehingga sangat baik untuk dijadikan marker neutrofil. Gr-1⁺ merupakan penanda diferensiasi sel progenitor myeloid. Dari hasil pemberian ekstrak daun kelor pada 42 mg/kgBB dan dosis 84mg/BB memiliki level sel SDF-1⁺Gr-1⁺ yang mempunyai kemampuan dapat mengembalikan level sel progenitor hematopoietik. Menurut Wuryandari *et al.*, (2022) Adanya senyawa flavonoid dan saponin di dalam ekstrak daun kelor dapat mencegah terjadinya proinflamasi melalui penghambatan TLR3/TLR4 akibat paparan *Salmonella typhi* dan sekaligus dapat memulihkan sel T reg *naïve*. Dengan adanya bakteri *S. typhi* mengakibatkan sel granulosit mengalami penurunan produksi superoksida, yang digunakan untuk membunuh *Salmonella typhi*, sehingga dengan adanya pemberian ekstrak daun kelor dapat mengembalikan produksi superoksida pada dosis 42 mg/kgBB dan 84 mg/kgBB yang mendekati kontrol normal. Hal ini disebabkan adanya senyawa aktif dari ekstrak daun kelor yang dapat meningkatkan antioksidan SOD-2 dan HO-1 melalui jalur Nrf-2 (Wuryandari *et al.*, 2020). SOD atau Superoxide dismutase merupakan enzim antioksidan yang terlibat dalam menekan pembentukan radikal bebas akibat adanya bakteri *Salmonella typhi*. Adanya peningkatan antioksidan endogen secara tidak langsung dapat mengeliminasi *S. typhi* melalui system imun humoral yang baik, sehingga bakteri yang masuk ke dalam tubuh dapat berkurang.

Analisis Jumlah Relatif Sel SDF-1⁺ B220⁺

Hasil penelitian data *Flowcytometri* jumlah relatif sel SDF-1⁺ B220⁺ disajikan pada Gambar 3 dan hasil grafik perhitungan jumlah relatif sel B220⁺ disajikan pada Gambar 4.



Gambar 3. Jumlah relatif sel SDF-1⁺B220⁺ dianalisis dari *bone marrow* dengan metode *flowcytometry* KS (Kontrol sehat); K+(Kontrol Sakit); D1 (Dosis 14mg/BB); D2 (Dosis 42mg/BB); D3 (Dosis 84mg/BB).



Gambar 4. Grafik perhitungan jumlah relatif sel SDF-1⁺B220⁺ Data diperoleh dari rata-rata ± SD pada perlakuan dosis 41mg/BB, dosis 42 dan 84mg/BB dengan p -value = 0.05. Berdasarkan Uji Tukey huruf yang berbeda menunjukkan beda nyata terhadap kontrol sakit

Dari hasil yang disajikan pada gambar 3 & 4 dapat dijelaskan bahwa hasil perhitungan jumlah relatif sel SDF-1⁺B220⁺ diperoleh rata-rata pada kelompok perlakuan semua dosis 14mg/BB (33.2%), dosis 42mg/BB (45.2%) dan dosis 84mg/BB (56%) menunjukkan hasil yang mendekati kelompok kontrol sehat yaitu (35.2%), dan dosis 42 mg/BB memiliki kemampuan mengembalikan level jumlah relatif sel SDF-1⁺B220⁺ yang sangat efisien dalam mengembalikan jumlah relatif sel B220 karena melebihi jumlah sel pada kelompok kontrol sehat.

Pemberian ekstrak daun kelor merupakan tindakan yang efektif sebagai bentuk usaha preventif, semua dosis mampu menormalkan rasio sel SDF-1⁺ B220⁺, yang mana dosis 42 mg/kgBB adalah dosis yang paling efisien karena memiliki level sel SDF-1⁺ B220⁺ melebihi jumlah mencit yang normal. Adanya kandungan bahan aktif daun kelor berupa senyawa flavonoid yang dapat bertindak sebagai Mitogen Activated Protein Kinase (MAPK), sehingga dapat memicu proliferasi sel B (B220). migrasi limfosit-B pada jaringan limfoid perifer sebagai upaya adaptasi dan aktivasi sel B dalam merespons adanya antigen dengan cara memproduksi molekul antibodi melalui mekanisme diferensiasi menjadi sel plasma atau membentuk sel memori. Flavonoid yang terkandung di dalam ekstrak daun kelor juga dapat meningkatkan sekresi sitokin Inter Leukin-2 (IL-2) yang dapat bertindak sebagai faktor proliferasi dan diferensiasi. Senyawa flavonoid dapat memicu aktivitas MAPK. Mitogen Activated Protein Kinase memicu terjadinya fosforilasi berbagai protein termasuk protein transkripsi faktor yang dibutuhkan dalam proses sintesis protein yang akan digunakan dalam proses siklus sel (Wei *et al.*, 2011). Dengan demikian adanya treatment ekstrak daun kelor pada mencit dapat menstimulasi pembentukan sistem imun humoral dengan baik, sehingga dapat dengan cepat mengeliminasi *Salmonella typhi* (Hefni *et al.*, 2013).

Penurunan jumlah populasi sel B220 pada kelompok yang diinfeksi bakteri ini diduga disebabkan adanya agen infeksi *Salmonella typhi* dengan melalui berbagai mekanisme. Penurunan ini akibat adanya proses migrasi sel B yang ada pada sumsum tulang menuju organ limfoid perifer sebagai proses homeostatis dalam mengatasi bakteri patogen *Salmonella typhi*. Mekanisme penurunan sel pada sumsum tulang serta menyebabkan tidak adanya myelopoiesis sumsum tulang, juga diduga dapat terjadi karena bakteri patogen *Salmonella typhi* mampu menyebabkan piroptosis sel yang terinfeksi. Adanya migrasi sel B menuju organ limfoid perifer dijelaskan oleh Paun *et al.*, (2021) bahwa, progenitor sel B pada sumsum tulang berkembang menjadi sel B matang akibat adanya rangsangan antigen. Seiring dengan puncak kematangannya, sel B mengekspresikan molekul imunoglobulin M (IgM) atau *B Cell Receptor* (BCR) pada permukaan membrannya untuk kemudian meninggalkan sumsum tulang menuju organ limfoid perifer. Khan *et al.*, (2010) menambahkan, migrasi limfosit-B ini terjadi secara normal sebagai upaya dari proses homeostatis dalam merespons adanya sinyal eksogen dalam hal ini *Salmonella typhi*.

SIMPULAN

Ekstrak daun kelor efektif untuk usaha preventif terhadap infeksi *Salmonella typhi*. Berdasarkan hasil penelitian, Ekstrak daun kelor dengan dosis 42mg/BB sangat efektif dalam mengembalikan jumlah rerata sel B dan sel Granulosit dalam keadaan normal akibat infeksi *Salmonella typhi*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami ucapkan terima kasih kepada Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia atas dukungan dana penelitian tahun 2023.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrea Paun, Estefania Claudio, Ulrich K Siebenlist (2021). Constitutive activation of NF- κ B during early bone marrow development results in loss of B cells at the pro-B-cell stage. *Blood Adv.* (3):745-755
- Anita Thyagarajan and Ravi P.Sahu. (2018). Potential Contributions of Antioxidants to Cancer Therapy Immunomodulation and Radiosensitization. *Integr Cancer Ther.* 17(2): 210–216.
- Athoilah MF, Safitri YD, Nur'aini FD, Widayati S, Tsuboi H, Rifa'i M. (2021). Elicited Soybean extract attenuates proinflammatory cytokines expression by modulating TLR3/TLR4 activation in high-fructose diet mice. *J. Ayuverda Integr. Med.* 12, 43-51
- Awanish Kumar, Anil Kumar. (2021). Antibiotic resistance of *Salmonella typhi*: molecular determinants for the emergence of drug resistance. *Front Med.* 15(5):693-703
- Baratawidjaya, K.G & Rengganis.I. (2014). *Imunologi Dasar*. Edisi ke sebelas Jakarta: *Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia*
- Cariappa A, Chase C, Liu H, Russell P, Pillai S. (2007). Naive recirculating B cells mature simultaneously in the spleen and bone marrow. *Journal Blood* 109(6), 2339-2345.
- Crump JA, Mintz ED. (2010). Global trends in typhoid and paratyphoid fever. *Clin Infect Dis*, 50, 241-246
- Doughari JH, Elmahmood AM, Manzara S. (2007). Studies on the antibacterial activity of root extracts of *Carica papaya* L. *African Journal of Microbiology Research*, 1(3).
- Fathir, Akhmad. Rifa'i, Muhaimin. dan Widodo. (2014). Aktivitas Ekstrak Daun Kelor Terhadap Sel-T Helper dan Sel-T Sitotoksik pada Mencit yang Diinfeksi *Salmonella typhi*. *Jurnal Veteriner* 15, 114-122.

- Fatmawati S, Laili RD, Wuryandari MM.Riyaniarti Estri, Martati E, Widyaningsih TD, Muhaimin RI.(2020). Fermented ethanolic extract of Moringa oleifera leaves with Lactobacillus plantarum FNCC 0137 as immunomodulators on Salmonella typhi-Infected mice. *Research Journal of Pharmacy and Technology (RJPT)*, 13(12), 5777-82
- Gazit R, Weissman IL, Rossi DJ. (2008). Hematopoietic stem cells and the aging hematopoietic system. *Seminar Hematology*; 45, 218-224.
- Handayani, D., Aldi, Y., Novellin. (2015). Aktivitas Beberapa Subfraksi Herba Meniran (Phyllanthus niruri Linn.) Terhadap Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Makrofag. *Scienta*, 5(2), 62–127.
- Khan WN, Shinnars NP, Castro I, Hoek KL. (2010). Contemporary Immunology. Miami USA. *Humana Pres*, Pp 88-95.
- Kumar G, Pratap CB, Mishra OP, Kumar K, Nath G. (2012). Use of urine with nested PCR targeting the flagellin gene (fliC) for diagnosis of typhoid fever. *J Clin Microbiol.* 50, 1964–1967.
- O'Toole G. (2016). Classic Spotlight: How the Gram Stain Works. *J Bacteriol.* 198(23):3128
- Sikder, Kunal. Sinha, Mahuya. Das, Nilanjan. Das, Dipesh Kr. Datta, Sanjukta dan Dey, Sanjit. (2013). Moringa oleifera Leaf Extract Prevents In Vitro Oxidative Dna Damage. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 6 (2), 159-163.
- Rifa'i, M. (2013). Sel T Regulator CD4+CD25+ Meningkatkan Toleransi Donor dan Resipien Pada Transplantasi Allogenik. *Jurnal Natural B.*
- Rifa'i, M. (2013). Imunologi dan Alergi-Hipersensitif. Imunologi untuk Biologi dan Kedokteran. *UB Press*. Malang
- Anhua Wei, Daonian Zhou, Chaomei Xiong, Yaling Cai, Jinlan Ruan. (2011). A novel non-aromatic Bring flavonoid: isolation, structure elucidation and its induction of apoptosis in human colon HT-29 tumor cell via the reactive oxygen species-mitochondrial dysfunction and MAPK activation. *Food Chem Toxicol.* 149(9):2445-52
- Wuryandari MMRE, Widodo1, E Widjajanto, M Rifa'i. (2019). The effect of Moringa oleifera Lam leaf extract fermented by Lactobacillus plantarum on the expression of B220+ and CD11b+ cells in mice infected with Salmonella typhi. IOP Conf. Series: *Earth and Environmental Science* 39.
- Wuryandari MM Riyaniarti Estri, Widodo N, Widjajanto E, Jatmiko YD, Muhaimin RI. (2020). Red Moringa oleifera leaf fermentation extract protecting Hepatotoxicity in Balb/C mice injected with Salmonella typhi through Nrf-2, HO-1, and SOD-2 signaling pathways. *Research Journal of Pharmacy and Technology.*13(12), 5947-52.
- Wuryandari MMRE, Athoilah MF, Laili RD, Fatmawati S, Nashi Widodo1, Muhaimin Rifa'I (2022). Lactobacillus plantarum FNCC 0137 fermented red Moringa oleifera exhibits protective effects in mice challenged with Salmonella typhi via TLR3/TLR4 inhibition and down-regulation of proinflammatory cytokines. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine.* 13
- Yurie Kinoshita, Jian Xu Akitsu Masuda, Kosuke Minamihata Noriho Kamiya, Rosuke Fujita, Takahiro Kusakabe, Jae Man Lee. (2019). Expression and purification of biologically active human granulocyte-macrophage colony stimulating factor (hGM-CSF) using silkworm-baculovirus expression vector system. *Protein Expr Purif.* 159: 69-74