

## Jumlah Makrofag di Rongga Peritoneal Tikus Putih (*Rattus novvergicus wistar*) Diingestikan Bakteri *Salmonella typhi*

Renowati Renowati \*, Tofrizal Tofrizal, Fitra Wahyuni, Irma Yanti

Progam Studi D-IV TLM Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis Indonesia

\*Corresponding Author: renowati01@yahoo.co.id

### ABSTRAK

Demam tifoid merupakan salah satu penyakit infeksi akut sistemik yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi*, di Indonesia masih menjadi masalah kesehatan yang serius. Bakteri ini menginfeksi tubuh melalui oral menuju usus halus dan saluran cerna bagian atas, menembus sel epitel dengan sistem imunitas humoral mukosa usus dalam keadaan kurang baik maka akan terjadi infiltrasi oleh makrofag. Aktivasi makrofag diawali adanya kontak langsung dengan reseptor antigen atau partikel bakteri, makrofag berperan memfagositosis mikroba, hidup di berbagai jaringan diantaranya usus dan berada bebas didalam cairan peritoneum guna eliminasi bakteri serta berada di sepanjang kapiler. Penelitian ini bertujuan untuk melihat perbedaan jumlah makrofag dirongga peritoneal tikus putih (*Rattus novvergicus wistar*) pada kelompok negatif dan positif terinfeksi bakteri *Salmonella typhi*, Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorik dengan design penelitian *posttest-only control design*, dilakukan terhadap hewan coba tikus putih jantan sebanyak 16 ekor yang dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok negatif hanya diberi pakan standar 8 ekor dan kelompok positif diberikan bakteri *salmonella typhi*  $10^8$  CFU/ml 8 ekor. Sampel yang diambil adalah darah dan cairan peritoneal hewan coba digunakan untuk pemeriksaan identifikasi (kultur), uji Widal (Agglutinasi), dan hitung jumlah makrofag (Imunohistokimia), data diolah menggunakan uji Independen T test. Hasil penelitian membuktikan bahwa rata-rata jumlah makrofag kelompok negatif 8,0% dan positif 19,6%. Dari uji statistik adanya perbedaan yang bermakna secara signifikan antara kelompok negatif dan positif dengan p value 0,0002. Dapat disimpulkan bahwa terjadinya peningkatan jumlah makrofag cairan peritoneal tikus yang diingestikan bakteri *Salmonella typhi*, sehingga menimbulkan respon imun seluler pada tikus.

Kata Kunci: Makrofag, bakteri *Salmonella typhi*, Widal, *Rattus novvergicus* Wistar dan Imunositokimia

### ABSTRACT

*Typhoid fever is an acute systemic infectious disease caused by the bacterium Salmonella typhi, in Indonesia, it is still a serious health problem. This bacterium infects the body through the oral route to the small intestine and upper digestive tract, penetrates epithelial cells with a humoral immune system of the intestinal mucosa in a condition that is not good, then infiltration by macrophages will occur. Macrophage activation begins with direct contact with antigen receptors or bacterial particles, macrophages play a role in phagocytizing microbes, live in various tissues including the intestine, are free in the peritoneal fluid for bacterial elimination, and are located along the capillaries. This study aims to look at the differences in the number of macrophages in the peritoneal cavity of white rats (Rattus novvergicus wistar) in the negative and positive groups infected with Salmonella typhi bacteria. This type of research was an experimental laboratory with a posttest-only control design study, this study carried out on 16 male white rats animals were divided into two groups: the negative group was only given standard packs with consist 8 members white male rats and the positive group was given 108 CFU/ml Salmonella typhi bacteria consist 8 white rats . Samples taken were blood and peritoneal fluid of experimental animals used for identification (culture), Widal test (Agglutination), and counting the number of macrophages (Imunohistochemistry). Data were processed using the Independent T test. The results of the study proved that the average number of macrophages in the negative group was 8.0% and 19.6% positive. From the statistical test, there was a significant difference between the*

*negative and positive groups with a p value of 0.0002. It can be concluded that there was an increase in the number of mouse peritoneal fluid macrophages that were ingested by Salmonella typhi bacteria, causing a cellular immune response in mice.*

*Keywords: Macrophages, Salmonella typhi bacteria, Widal, Rattus novergicus wistar and Immunocytochemistry*

## PENDAHULUAN

Demam tifoid merupakan salah satu penyakit infeksi akut sistemik yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi*. Di Indonesia penyakit ini masih menjadi masalah kesehatan yang serius (Susanti et al., 2012). Diperkirakan angka kejadian kasus demam tifoid diseluruh dunia berkisar antara 11-21 juta kasus dengan 128.000 sampai dengan 161.000 angka kematian setiap tahunnya, negara terbanyak terjadi kasus demam tifoid yaitu negara Asia Selatan dan Asia Tenggara (World Health Organisation, 2018)

Berdasarkan profil kesehatan Indonesia tahun 2011, prevalensi kejadian kasus demam tifoid yaitu sebesar 900.000 dengan 20.000 angka kematian setiap tahunnya (Sarwono p, 2010). Pada tahun 2011 di Indonesia demam tifoid menempati urutan ke-3 dari 10 penyakit rawat inap di rumah sakit yaitu dari 80.850 kasus dengan angka kematian sebesar 1.747 orang. Sedangkan pada profil kesehatan Indonesia tahun 2012, dari 41.080 kasus demam tifoid dengan angka kematian sebesar 274 orang (Kemenkes 2013). Penderita dengan demam tifoid di Indonesia tercatat sebanyak 81,7 per 100.000 penduduk (Depkes RI, 2013).

*Salmonella typhi* merupakan bakteri basil gram negatif, bersifat anaerob, berflagel, motil, dan tidak memiliki spora. Bakteri ini termasuk kedalam famili Enterobacteriace (Masriadi, 2017). Bakteri *Salmonella* masuk kedalam tubuh melalui air dan makanan yang terkontaminasi dengan bakteri *Salmonella typhi*, bakteri ini masuk melalui oral menuju usus halus dan saluran cerna bagian atas. Bakteri akan menembus sel epitel apabila sistem imunitas humoral mukosa immunoglobulin A (IgA) usus dalam keadaan kurang baik maka akan terjadi infiltrasi oleh makrofag yang mengandung bakteri dan mengalami kemunduran pada sel limfosit dan eritrosit. Agregasi makrofag ini disebut dengan typhoid nodules (Lee TP et al., 2000).

Typhoid nodules sering dijumpai di usus, kelenjar getah bening mesenterica, hati, limfa dan sumsum tulang (Lee TP et al., 2000). Setelah

itu bakteri ini masuk kedalam peredaran darah disebut dengan bakterimia lalu menyebar keberbagai organ tubuh (Widjaja, 2000). Pada sel yang berbeda bakteri ini dapat menginfeksi makrofag (Nasrodin, 2007).

Makrofag merupakan bagian dari leukosit yang berukuran sangat besar berfungsi sebagai fagositosis mikroba, antigen dan zat-zat lainnya (Widyanto, 2008), serta memiliki bentuk khusus yang beragam sesuai dengan alat atau jaringan yang ditempati diantaranya di usus disebut dengan makrofag intestinal. Awal aktivasi makrofag terjadi akibat kontak langsung dengan reseptor atau partikel antigen atau fagositosis. Makrofag juga terdapat pada peritoneal, dan berada bebas didalam cairan peritoneum berfungsi untuk menangkap antigen atau patogen yang mudah masuk dan berada disepanjang kapiler (Baratawidjaja, 2014).

Peritoneum merupakan membran serosa rangkap yang terbesar didalam tubuh. Peritoneum terbagi atas dua bagian yaitu peritoneum viseral, semua organ yang ada didalam rongga itu dan peritoneum parietal, berfungsi untuk melapisi dinding rongga abdominal. Ruang yang berada diantara dua lapis ini disebut dengan ruang peritoneal atau kantong peritoneum (Pearce, 2009).

Renowati et al., (2019) menggunakan hewan coba dalam penelitiannya yaitu tikus *rattus novergicus* sebagai subyek yang diingestikan bakteri *Salmonella typhi*  $10^8$ CFU/ml dari hasil ditemukan antibodi *Salmonella typhi* pada serum tikus *rattus novergicus*. Hal ini membuktikan keberhasilan dengan hasil positif. Berdasarkan uraian diatas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui perbedaan jumlah makrofag dirongga peritoneal tikus putih (*Rattus novergicus wistar*) sebelum dan sesudah diingestikan bakteri *Salmonella typhi*  $10^8$ CFU/ml

## METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dan desain penelitian post test

group design only yaitu rancangan yang digunakan dalam mengukur pengaruh dari perlakuan kelompok eksperimen dengan membandingkan kelompok tersebut dengan kelompok kontrol. Penelitian ini dilakukan di laboratorium STIKes Perintis Padang, laboratorium STIFI Perintis dan laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Populasi dari penelitian ini adalah tikus jantan putih (*Rattus norvegicus wistar*) yang didapat dari laboratorium Farmakologi Farmasi Universitas Andalas.

Sampel dari penelitian ini yaitu tikus putih jantan (*Rattus norvegicus wistar*) sebanyak 16 ekor. Sampel pada penelitian diperoleh dengan cara simple random sampling. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca ohaus skala terkecil 0,1 berkapasitas 2610 gram, mikroskop, papan bedah, alat bedah, jarum pentul, objek glass, deglass, syringe 3 cc, satu set haemositometer, cup sampel, microwave, humid chamber overnight, sentrifuge, tabung reaksi, rak tabung, autoclave, spritus, ose dan kandang tikus (bak plastik) lengkap dengan tempat makan dan minum. Bahan yang digunakan pada penelitian ini berupa pakan standar (pellet) sebanyak 50 gr/ekor/hari dicampur dengan nasi putih untuk makanan tikus, anestesi, koloni bakteri *Salmonella typhi*, media SS agar, NaCl fisiologis, media HIB, kapas alcohol 70%, larutan turk, alcohol (70%, 96% dan 100%), Citrat buffer pH 6, PBS pH 7,4, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%, normal goat serum (NGS) 2%, antibodi CD68, kompleks avidin biotin, tris HCL buffer pH 7,6, distilled water, hematoksin, lithium carbonate, Xilene dan entellan.

### **Persiapan Hewan Coba**

Semua hewan coba diperlakukan sebelumnya diadaptasikan pada lingkungan selama 7 hari, selama masa adaptasi hewan coba ditimbang berat badan diawal dan diakhir adaptasi. Kandang, makanan dan minuman diperhatikan, pemberian makanan per hari rata-rata 50 gr/200 grBB, kebutuhan air sekitar 8-11 ml /100 grBB. Hewan coba di bagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok 1 kontrol negatif dan kelompok 2 kontrol positif.

### **Identifikasi Koloni *Salmonella*.Sp**

Koloni murni yang didapat masukkan kedalam media *erichment* (pengkaya) *Selenith*, lalu dikultur pada media SS agar untuk

menumbuhkan bakteri *Salmonella typhi*, inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C, ambil koloni terpisah dan lakukan pewarnaan gram untuk memastikan bahwa koloni yg tumbuh adalah *Salmonella*, kemudian lakukan uji biokimia dan gula-gula yaitu : glukosa, laktosa, manitol, maltose, sukrosa, MRVP, SCA, TSIA, dan SIM. Uji biokimia diamati setelah 24 jam.

### **Perlakuan Pada Hewan Coba**

Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus Wistar*) berjumlah 16 ekor. 8 ekor hanya diberikan pakan standar dan 8 ekor lainnya dipaparkan dengan suspensi bakteri *Salmonella typhi* 10<sup>8</sup> CFU/ml (Susanti et al., 2012) dibiarkan selama 14 hari, kemudian lakukan pemeriksaan uji Widal dan pemeriksaan jumlah makrofag di rongga peritoneal tikus dengan metode immunositokimia. Tikus dibagi menjadi 2 kelompok yaitu : 1. Kelompok perlakuan Kelompok kontrol negatif : pada kelompok ini tikus hanya di beri pakan (pellet) standar. 2. Kelompok kontrol positif : pada kelompok ini tikus dipaparkan dengan suspensi bakteri *Salmonella typhi* 10<sup>8</sup> CFU/ml.

### **Pengambilan Spesimen**

Sebelum pengambilan cairan peritoneal, tikus di anestesian terlebih dahulu dengan inhalasi dietil eter. Sampel diambil dari rongga peritoneum. Tikus dimasukkan kedalam tabung yang berisi kapas yang sebelumnya sudah dibasahi dengan larutan dietil eter sebanyak 4-5 ml, ditutup rapat tunggu sampai tikus pingsan. Tikus dikeluarkan letak diatas papan bedah dengan kedua kaki dan tangan dibuka dan ditusuk jarum, ambil larutan PBS sebanyak 10 ml suntikkan kerongga peritoneal tikus, masukkan tikus kembali kedalam tabung yang berisi etil tunggu 7 menit.

Lalu keluarkan tikus kembali letakkan diatas papan bedah dalam keadaan tikus telentang kedua kaki dan tangan tikus di tusuk jarum. Lakukan fiksasi tikus dan pembedahan di linea mediana sepanjang 5 cm, buka peritoneum. Sebelum pembedahan sebaiknya lakukan pemijatan disekitar abdomen selama 90 detik, lalu tikus dimiring dengan sudut 45° dengan kepala diatas selama 5 menit agar cairan peritoneum terkumpul di kavum pelvis. Cairan peritoneum diambil sebanyak-banyaknya masukkan kedalam tabung reaksi lalu

disentrifugase dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit.

Setelah disentrifuge buang supernatan sisakan endapan tambahkan larutan PBS 10 ml dihomogenkan ambil 1 cc masukkan kedalam cup sampel untuk pemeriksaan jumlah leukosit dan diberi label sesuai perlakuan. Sentrifugase kembali cairan peritoneal didalam tabung reaksi tadi dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit. Buang supernatan ambil endapan dengan menggunakan spet 1cc teteskan pada objek glass lalu buat sediaan, biarkan kering dan fiksasi dengan alkohol 96 % selama 30 menit, dan sediaan siap untuk diwarnai. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan Jumlah Sel Makrofag

### **Imunohistokimia**

Immunositokimia adalah suatu cabang ilmu histokimia yang mana metode digunakan sangat peka untuk menentukan letak dari polisakarida dan protein spesifik. Dasar teknik yaitu tubuh bereaksi dengan substansi protein asing yaitu, antigen dan menghasilkan antibodi yang memiliki fungsi untuk mengeliminasi antigen tersebut. Metode ini juga dapat menetapkan secara tepat letak antigen-antibodi, mengidentifikasi sel pembuat hormon protein, menentukan letak protein seperti musk, dan menetapkan letak berbagai enzim didalam sel (Leeson *et al.*, 1996).

### **Hitung Jumlah Makrofag dengan Teknik Imunohistokimia**

Sediaan apus cairan peritoneal di fiksasi dengan alkohol 96%, kemudian dilakukan rehidrasi dengan alkohol bertingkat mulai dari 100 %, 96 % dan 79 %. Washing dalam PBS pH 7,4 3x5 menit, Endogen peroksidase blocking dengan 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dalam PBS pH 7,4 selama 3 menit, dilanjutkan dengan 0,3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dalam PBS pH 7,4 selama 30 menit, Washing dalam PBS pH 7,4 3x5 menit, Non specific protein block dengan 2% Normal Goat serum (NGS) dalam PBS pH 7,4 selama 20 menit pada suhu ruang. Aplikasi antibodi primer Cd68 dan inkubasi didalam humid chamber overnight 4 °C. Washing dalam PBS pH 7,4 3x5 menit. Inkubasi dengan secondary antibody pada suhu ruang selama 30 menit. Washing dalam PBS pH 7,4 3x5 menit, Inkubasi dengan kompleks avidin biotin pada suhu ruang selama 30 menit, Aplikasi chromogen DAB dalam Tris HCl buffer pH 7,6

Pencucian dengan distilled water selama 3x5 menit. Counterstaining dengan hematoxilin Pencucian dengan distilled water selama 10 menit. Counterstaining dengan hematoxilin. Pencucian dengan distilled water selama 10 menit. Bluing dalam larutan jenuh lithium carbonate. Pencucian dengan distilled water selama 10 menit. Dehidrasi dalam alkohol bertingkat; dimulai dengan ethanol 70%, 96%, 100%, masing-masing 5 menit. Clearing dalam Xilene 2 x 5 menit. Mounting deck glass dengan entellan. Amati jumlah Makrofag dibawah mikroskop.

### **Analisis Data**

Analisis statistik yang digunakan pada penelitian bertujuan untuk mengamati perbandingan rata-rata jumlah sel makrofag pada masing-masing kelompok. Uji tersebut menggunakan uji t-independen jika data terdistribusi normal dan uji mann-whitney jika data tidak terdistribusi normal.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Telah dilakukan penelitian tentang perbedaan jumlah makrofag di rongga peritoneal tikus putih (*Rattus novergicus* Wistar) sebelum dan sesudah diingestikan bakteri *Salmonella typhi*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium STIKes Perintis Padang untuk pemeriksaan uji widal, kultur bakteri, pemeriksaan leukosit dan pembedahan tikus serta pembuatan sediaan apus cairan peritoneal tikus, perlakuan hewan coba dan karantina hewan coba dilakukan di Laboratorium STIFI Perintis Padang dan pemeriksaan jumlah makrofag pada cairan peritoneal tikus ini dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.

Sampel yang digunakan dalam penelitian sebanyak 16 ekor tikus putih jantan (*Rattus novergicus* Wistar) yang telah memenuhi kriteria inklusi. Sampel dibagi secara acak kedalam dua kelompok yaitu kelompok negatif dimana pada kelompok ini hanya diberikan pakan standar dan kelompok positif dimana tikus dipaparkan atau diingestikan bakteri *Salmonella typhi*.

### **Pemeriksaan Widal**

Untuk mengetahui apakah tikus terpapar atau terinfeksi bakteri *Salmonella typhi* dilakukan uji widal pada darah tikus. Data hasil

titer widal pada kelompok Positif disajikan dalam bentuk tabel 1

**Tabel 1. Titer Widal Tikus Putih Jantan Rattus Novergicus Wistar Pada Kelompok Tikus Yang Dipaparkan Bakteri Salmonella typhi**

	Sampel	Titer Widal	
		H	O
<b>Kelompok Positif</b>	1	1/320	1/320
	2	1/80	1/80
	3	1/80	1/320
	4	1/320	1/320
	5	1/160	1/320
	6	1/160	1/320
	7	1/320	1/320
	8	1/320	1/320

Dari tabel 1 dapat diketahui bahwa tingginya titer widal pada tikus yang telah dipaparkan atau diingestikan bakteri *Salmonella typhi*.

Sebelum dipaparkan bakteri *Salmonella typhi* tikus diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari dengan lingkungan bertujuan agar tikus terbiasa dengan lingkungan baru dan tidak stres. Pemberian makan pakan standar dua kali sehari yaitu pagi dan sore dan minum diganti sebanyak tiga kali dalam seminggu serta kebersihan kandang tikus juga diperhatikan.

Sebelum tikus diingestikan bakteri tiga hari sebelumnya dilakukan kultur bakteri koloni murni yang didapat dari BPOM dimasukkan kedalam media selenith broth untuk memperkaya bakteri kemudian dikultur pada media selektif yaitu SS agar (*Salmonella-Shigela Agar*). Setelah dikultur, diinkubasi selama 24 jam didalam inkubator pada suhu 37 ° C dan dilihat pertumbuhan bakteri.

Bakteri Salmonella berwarna hitam pada media SS agar kemudian dilakukan pengenceran 10<sup>8</sup> CFU/ml dengan metode macfarland. Bakteri diingestikan kepada tikus kelompok positif, lalu amati perbedaan kedua perlakuan selama 14 hari, terjadi perbedaan aktivitas kelompok negatif dengan kelompok positif, dimana pada kelompok

positif dapat dilihat aktivitas tikus semakin berkurang, sering minum, feses menjadi lembek dan bulu menjadi rontok.

Setelah itu dilakukan uji widal dengan sampel yaitu serum tikus dan juga dilakukan kultur darah tikus. Darah tikus dimasukkan kedalam media *selenith* untuk memperkaya bakteri, dikultur pada media SS Agar untuk memastikan bahwa tikus terinfeksi bakteri *Salmonella typhi*. Hasil uji Widal dapat dilihat pada tabel 1 dimana titer Widal pada Anti-O dan Anti-H sangat tinggi mencapai 1/320. Pada Anti-O didapat titer Widal 1/80 seanyak satu ekor dan titer Widal 1/320 sebanyak tujuh ekor. Pada Anti-H didapat titer Widal 1/80 sebanyak dua ekor, titer 1/160 sebanyak dua ekor dan titer Widal 1/320 sebanyak empat ekor. Menurut penelitian Renowati et al., 2019 menemukan bahwa terjadinya peningkatan titer widal pada tikus yang diingestikan bakteri *Salmonella typhi*. Hasil ini terbukti pada penelitian yang dilakukan dimana adanya peningkatan yang signifikan pada titer uji Widal kelompok positif. Hal Ini menunjukkan bahwa terjadinya respon imun terhadap infeksi bakteri *Salmonella typhi*.

#### Pemeriksaan Leukosit

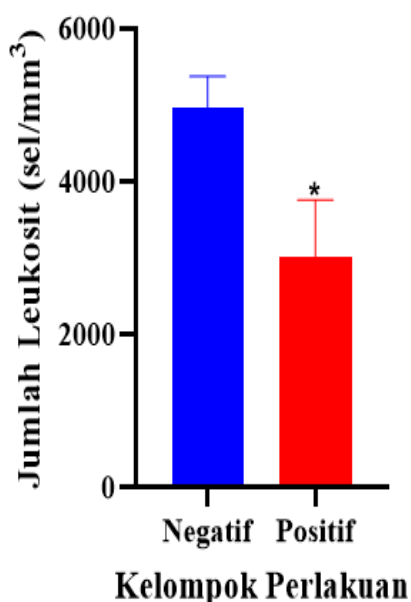
Berikut disajikan data pemeriksaan leukosit cairan peritoneal tikus putih (*Rattus novergicus Wistar*) pada kelompok negatif dan kelompok positif (table 2).

Dari tabel 2 dapat disimpulkan bahwa terjadinya penurunan jumlah rerata leukosit pada kelompok positif. Selanjutnya dilakukan analisa perbandingan jumlah leukosit dengan *independen-t test* pada kedua kelompok tersebut dengan hasil terdapat perbedaan signifikan secara statistik antara kelompok negatif dan kelompok positif dengan nilai  $p < 0,0001$ , dan hasil tersebut dapat diamati pada tabel 2 dan gambar 1.

Ketika tikus diingestikan bakteri *Salmonella typhi* maka bakteri akan masuk ke saluran cerna bagian atas dan usus halus. Bakteri akan menembus sel epitel apabila sitem imunitas *t humoral mukosa immunoglobulin A (IgA)* usus dalam keadaan kurang baik maka akan terjadi

**Tabel 2. Jumlah Leukosit Cairan Peritoneal Tikus Putih Pada Kelompok Negatif Dan Kelompok Positif**

Kelompok Perlakuan	n	Jumlah Leukosit (sel/mm <sup>3</sup> ) Mean ± SD	t Hitung	Nilai p
Negatif	8	4.950 ± 421,7	6,38	<0,0001
Positif	8	3.006 ± 751,4		



**Gambar 1 Perbedaan Jumlah leukosit Cairan Peritoneal Tikus Pada Semua Kelompok**

infiltrasi oleh makrofag yang mengandung bakteri dan mengalami kemunduran pada sel limfosit dan eritrosit (Lee TP et al., 2000), selanjutnya dibawa ke plaque payeri ileum distal menuju ke kelenjar getah bening. Melalui duktus torasikus bakteri ini menyebar ke sirkulasi darah menyebabkan bakterimia pertama asimtomatik dan menyebar keseluruh organ tubuh terutama hati dan limfa. Didalam organ ini bakteri meninggalkan sel makrofag dan berkembang biak diluar sel atau sinusoid lalu masuk kembali ke sirkulasi darah menyebabkan bakterimia kedua (Masriadi, 2017).

Setelah itu dilakukan pengambilan spesimen cairan peritoneal tikus dan buat sediaan apus serta dihitung jumlah leukosit. Hitung jumlah leukosit dengan kamar hitung didapat hasil seperti pada tabel 4.2 dimana didapat hasil jumlah leukosit pada kelompok negatif yaitu 4.950 sel/mm<sup>3</sup> dan kelompok positif yaitu 3.006 sel/mm<sup>3</sup>, bisa dilihat terjadi penurunan jumlah leukosit pada kelompok positif. Menurut penelitian Rosa (2017) terajadinya penurunan jumlah leukosit pada kelompok positif dan

menurut Keush (1999) bahwa bakteri *Salmonella typhi* memiliki endotoksin lipopolisakarida yang dapat menyebabkan terjadinya leukopenia.

### Pemeriksaan Jumlah Makrofag

Pemeriksaan jumlah makrofag pada cairan peritoneal tikus dilakukan dengan metode immunositokimia dan dihitung secara manual melalui mikroskop. Hasil pemeriksaan disajikan dalam bentuk tabel 3.

Dari tabel 3 dapat diketahui bahwa hasil dari setiap perlakuan berbeda. Pada kelompok negatif dimana didapat nilai rerata makrofag sebesar 8,0 % dan pada kelompok positif setelah diingestikan bakteri *Salmonella typhi* 10<sup>8</sup> CFU/ml selama 14 hari yaitu sebesar 19,6 %.

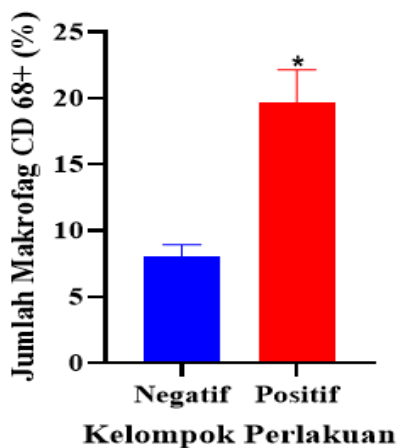
Berdasarkan uraian diatas terlihat jelas adanya perbedaan jumlah rerata makrofag, dimana jumlah rerata makrofag kelompok negatif bakteri *Salmonella typhi* lebih rendah dibandingkan dengan jumlah makrofag kelompok positif bakteri *Salmonella typhi*. Untuk melihat lebih jelasnya perbedaan kedua kelompok dilakukan uji statistik *Mann-Whitney test* dikarenakan jumlah makrofag pada kedua kelompok tersebut tidak terdistribusi normal. Hasil uji *Mann-Whitney test* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan secara statistik pada kelompok negatif dan kelompok positif dengan nilai p 0,0002 yang dapat diamati pada tabel 3 dan gambar 2.

Pada hasil penelitian perbedaan jumlah makrofag dirongga peritoneal tikus putih (*Rattus novvergicus* Wistar) kelompok negatif dan kelompok positif bakteri *Salmonella typhi* didapat hasil yang

bermakna yaitu adanya perbedaan yang signifikan dari kedua kelompok tersebut. Hal ini menunjukkan adanya respon imun adaptif seperti makrofag yang berperan sebagai fagositosis dan APC (*Antigen Presenting Cell*). Seperti yang diketahui bahwa makrofag berasal dari sel prekursor sum-sum tulang. Makrofag merupakan bagian dari leukosit yang berukuran sangat besar berfungsi sebagai fagositosis mikroba dan antigen, serta zat-zat lainnya (Widyanto, 2008). Makrofag juga terdapat rongga peritoneal yang

**Tabel 3. Pemeriksaan Jumlah Makrofag Pada Cairan Peritoneal Tikus Pada Semua Kelompok**

Kelompok Perlakuan	n	Jumlah Makrofag (%)	Nilai p
		Mean ± SD	
Negatif	8	8 ± 0,92	0,0002
Positif	8	19,6 ± 2,50	



**Gambar 2 Perbedaan Jumlah Makrofag Cairan Peritoneal Tikus Pada Semua Kelompok**

yang mempunyai fungsi sama yaitu sebagai fagositosis zat lain atau antigen yang masuk kedalam tubuh, sehingga pada saat terjadi infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi* akan memicu aktifitas makrofag melakukan fagositosis sehingga jumlah makrofag akan meningkat (Baratawidjaja, 2014).

#### KESIMPULAN

Adanya peningkatan titer widal pada tikus putih *Rattus norvegicus* Wistar yang diingestikan bakteri *Salmonella typhi*. Adanya perbedaan signifikan jumlah leukosit pada kelompok positif dan negatif bakteri *Salmonella typhi*. Terjadinya peningkatan jumlah makrofag yang signifikan pada tikus kelompok negatif dan positif bakteri *Salmonella typhi*.

#### REFERENSI

Afifah, N. R., & Pawenang, E. T. (2019). Kejadian Demam Tifoid pada Usia 15-44 Tahun. *Higeia Journal Of Public Health Aedes Aegypti*, 3(2), 263-273. <https://doi.org/10.15294/higeia/v3i2/24387>

Andila Rosa (2017). "Pengaruh Gel Lidah Buaya (*Aloe vera*) Terhadap Jumlah Leukosit Pada Tikus Diingestikan Kuman *Salmonella typhi*. Skripsi D.IV Teknologi Laboratorim, STIKes Perintis, Padang.

Batt, C.A & Tortorello, M.-L. 2014. *Encyclopedia food microbiology II*. USA: Elsvier

Brooks, G.F., Janet, S.B., Stephen A.M. 2005. Jawetz, Melnick and Adelbergs,

Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology) Buku I, Alih Bahasa oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E.B., Mertaniasih, N.M., Harsono, S., dan Alimsardjono, L. Jakarta : Salemba Medika. pp. 317-25, 358-60

Crump, J. A., Sjölund-Karlsson, M., Gordon, M. A., & Parry, C. M. (2015). Epidemiology, clinical presentation, laboratory diagnosis, antimicrobial resistance, and antimicrobial management of invasive *Salmonella* infections. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(4), 901-937. <https://doi.org/10.1128/CMR.00002-15>

Davis, B. R. H., & Ph, D. (n.d.). *Polysaccharide - The Magic Bullet*.

Depkes RI. 2013. *Sistematika Pedoman Pengendalian Penyakit Demam Tifoid*. Jakarta : Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit & Penyehatan Lingkungan.

Ilham, I., Nugraha, J., & Purwanta, M. (2017). Deteksi IgM Anti *Salmonella* Enterica Serovar Typhi dengan Pemeriksaan Tubex TF dan Typhidot-M. *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 19(2). <https://doi.org/10.20473/BSN.V19I2.5703>

John, J., Van Aart, C. J. C., & Grassly, N. C. (2016). The Burden of Typhoid and Paratyphoid in India: Systematic Review and Meta-analysis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(4), 1-14. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004616>

Kemendes RI, 2013. Profil Kesehatan Indonesia, Jakarta

\_\_\_\_\_, 2012. Pedoman Pengendalian Demam Tifoid, Jakarta: Direktorat Jendral PP dan PL

Keusch, G. T. Salmonellosis. In K. J. Isselbacher, E. Braunwald, J. D. Wilson, J. B. Martin, A. S. Fauci, et al. (Eds.). *Harrison Prinsip-Prinsip Ilmu Penyakit Dalam*, Ed. 13, Vol. 2, editor edisi bahasa Indonesia Ahmad H. Asdie. Jakarta: EGC. 1999. pp 755-758

Kusumawati, D ., 2016. *Bersahabat Dengan Hewan Coba*. Gajah Mada University press : Yogyakarta

Leeson C. R., Leeson T. S., Paparo Anthony A. 1996. Kulit dan Turunannya. Dalam: Yan Tambayong, Sugito Wonodirekso: *Buku Ajar Histologi*. Edisi 5. Jakarta: EGC.

Lee TP, Stephen L, and Hoffman. Typhoid

- Fever. In: Stricland GT. *Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases*. 8th Ed., Philadelphia, W.B Saunders Company, 2000; 471–483.
- Masriadi, 2017. *Epidemiologi penyakit menular Ed 1*. Depok : PT Raja Grafindo Persada
- Mulyanto. 2012. *Mikrobiologi untuk mahasiswa keperawatan*. Transinfo Media Jakarta
- Pearch, Evelyn C. 2009. *Anatomi dan Fisiologi Untuk Paramedis*. Jakarta : Pt Gramedia Pustaka utama.hlm.237-239
- Priyoto, Tri Widiyastuti. 2014. *Pengobatan Herbal Untuk Penyakit Ringan*. Yogyakarta : Graha Ilmu
- Radji Maksum. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: EGC
- Renowati, R., Enlita, E., & Wahyuni, F. (2019). *The Effect of Aloe vera Gel on Widal Titer of Rats Ingested Salmonella typhi Bacteria*. <https://doi.org/10.4108/eai.13-11-2018.2283658>
- Soedarmo SSP., Garna H., & Hadinegoro SR. 2015. *Buku ajara ilmu kesehatan anak : infeksi dan penyakit tropis* . Jakarta : IDAL
- St. Geme, J. W., & Rempe, K. A. (2018). Classification of Bacteria. In *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-40181-4.00114-6>
- Susanti, R., Yuniastuti, A., & Iswari, R. S. (2012). Aktivitas Reactive Oxygen Species Makrofag Akibat Stimulasi Gel Lidah Buaya Pada Infeksi Salmonella typhimurium. *Jurnal MIPA*, 35(1).
- World Health Organisation. (2018). Typhoid vaccine: WHO position paper - March 2018. *Weekly Epidemiological Record*, 13(93), 153–172. [www.who.int/immunization/position\\_papers/](http://www.who.int/immunization/position_papers/)
- Zulkoni A. 2010. *Parasitologi*. Yogyakarta : Medika