

**PENGARUH PEMBERIAN SERBUK LOBAK (*Raphanus sativus*) TERHADAP JUMLAH LIMFOSIT DAN MORFOLOGI LIMPA AYAM BURAS YANG DIINFEKSIKAN DENGAN *Pasteurella multocida***

*The Influence of Radish Powder (*Raphanus sativus*) to the Spleen Morphology and Lymphocyte to the Chicken Infected by *Pasteurella multocida**

**Mahdi Abrar<sup>1</sup> dan Fakrurrazi<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

**ABSTRAK**

Pengamatan pengaruh serbuk lobak terhadap jumlah limfosit dan morfologi limpa pada ayam buras yang diinfeksi dengan *Pasteurella multocida* telah dilakukan. Sebanyak 12 ekor ayam berumur 3 minggu digunakan dalam penelitian ini yaitu 10 ekor ayam diinfeksi dengan *P. multocida* konsentrasi  $10^6$  sel/ml dan 2 ekor ayam lain diinfeksi dengan *P. multocida* konsentrasi  $10^6$ /ml dan tidak diberikan lobak sebagai kontrol positif. Setelah 48 jam terhadap 10 ekor ayam perlakuan dilakukan pengobatan dengan serbuk lobak masing-masing dengan dosis 1 gram/ekor. Semua ayam dipelihara sampai 7 hari dan diamati perubahan klinis. Pada hari ke 8 semua ayam dibunuh, dihitung jumlah limfosit dan diamati perubahan morfologi limpa. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semua ayam perlakuan ditemukan penurunan jumlah sel limfosit rata-rata  $1,25 \times 10^5$  sel/ml (26,20%), sedang morfologi limpa mengalami pengecilan dengan diameter rata-rata 0,6 mm. Menurunnya jumlah sel limfosit dan mengecilnya limpa disebabkan oleh adanya bahan aktif serbuk lobak (*Raphanus sativus*) yaitu raphanin yang berfungsi sebagai respon imun yang baik terhadap kuman *Pasteurella multocida* penyebab fowl cholera pada ayam.

Kata kunci : *Pasteurella multocida*, lobak, limfosit, limpa dan fowl cholera.

**ABSTRACT**

*The research to conduct the influence of radish powder to the spleen morphology and lymphocyte had been done. 12-three week year old pasteurilla infected chickens were used in this research. 10 chickens was infeted with Pasteurella multocida with the numbe of bacteria  $10^6$  cpu/ml and 2 chickes were infected with P. multocida without applying radish powder as a positive control. After 48 hrs, 10 treated chickens were given the radish powder with the dose of 1 grm/chicken. In the day of eighth, all chickens were killed then observed the morfology of spleen and the number of lymphocytes. The result shows that all treated chikens showed the decreasing number of lymphocytes with the average  $1,25 \times 10^5$  cell/ml and the spleen morfology was rudimentered with the average diameter 0.6 mm. This result indicates that the radish powder that has aktive material called raphanin has a role to stimulate the immun response to P. multocida as a agent causing fowl cholerae in chicken.*

*Key words : Pasteurella multocida, lobak, limfosit, limpa dan fowl cholera.*

**PENDAHULUAN**

Pengendalian dan pengobatan infeksi kuman *Pasteurella multocida* sebagai penyebab penyakit Fowl cholera pada ayam masih mengandalkan pada pemakaian antibiotika. Penanganan penyakit ini dengan antibiotika hasilnya belum efektif, hal ini terbukti kasus penyakit tetap saja muncul setiap tahun dengan angka kerugian ekonomi yang cukup besar.

Penggunaan antibiotika secara terus menerus selain dapat meningkatkan resistensi kuman juga akan menimbulkan masalah residu pada produk ternak atau daging. Disamping itu antibiotika masih diimport harganya cukup mahal sehingga tidak terjangkau oleh peternak (Solfain *et al.*, 2001). Untuk mencari alternatif lain untuk pemecahan masalah ini, penelitian

tentang obat-obatan komersial seperti obat tradisional minyak atsiri kunyit (*Curcuma domestica*) sebagai anti radang dan ekstrak lobak (*Raphanus sativus*) sebagai anti infeksi kuman perlu dilakukan.

Lobak (*Raphanus sativus*) telah diakui sebagai salah satu obat tradisional yang mempunyai berbagai khasiat, karena kandungannya terdapat raphanin. Adanya raphanin dalam bentuk protease murni, merupakan kandungan utama lobak diketahui mempunyai efek sebagai antibakteri dan antioksidan (Glasby, 1992; Fahey dan Talalay, 1999). Selain itu, umbi lobak mengandung 0,82% asam askorbik, 1-18,6% abu, 0,86% kalsium, 3,6-75,7% karbohidrat, 18,7% lemak, 0,5-17,6% serat, 25,6% asam glutamat, 0,56% asam linolenik, 3,9% nitrogen, 0,009% asam

osalik, 0,6% posfor, 0,14% fitosterol, 8,6% potasium, 18,2% protein, 0,6% sulfur dan 92,6-94,5% air (Dalimunte, 1999; Nakamura *et al*, 2001).

Raphanin merupakan kandungan utama lobak diketahui mempunyai efek antibakteri dan dapat pula digunakan untuk mengobati kanker dan sebagai zat anti peradangan serta sebagai inhibitor kuat terhadap aktivitas bakteri Gram positif dan Gram negatif (Glasby, 1992). Raphanin yang terkandung dalam lobak selama ini belum banyak mendapat perhatian. Oleh karena itu Syukur dan Hernaini (2000) mengupas manfaat lobak dan dari hasil penelitian diketahui ekstrak lobak dapat menghambat pertumbuhan (bakteriostatik) terhadap bakteri Gram negatif.

Uji bakteriostatik pada beberapa bakteri Gram negatif seperti *Escherichia coli*, *Salmonella schottmueler*, *Salmonella thypi*, *Shigella dysentiae* dan *Pasteurella sp.* telah dilakukan dan demikian juga uji bakteriostatik pada bakteri Gram positif seperti *Bacillus anthracis*, *Bacillus prodigiosus* dan *Staphylococcus aureus*. Uji bakteriostatik menunjukkan bahwa ekstrak lobak mampu menghambat kuman patogen seperti *P.multocida* bersama-sama dengan antibodi yang terbentuk selama infeksi. Kerja raphanin selain menghambat fungsi ribosom kuman juga sebagai anti metabolit yang mampu menekan fungsi dari p-aminobenzoat yang dibutuhkan bakteri untuk sintesis p-aminobenzoic acid (PABA) dalam rangka pertumbuhan atau perkembangan biakan bakteri (Anonymous, 2003).

Penelitian ini dilakukan untuk mengupas manfaat Lobak (*Raphanus sativus*) sebagai antibakterial yang bertujuan untuk mengetahui respon antibodi ayam melalui penghitungan jumlah limfosit dan perubahan anatomi morfologi limpa.

## MATERI DAN METODE

### Preparasi Isolat *Pasteurella multocida*

Penelitian ini menggunakan kuman *P. multocida*, diinokulasikan dalam 5 ml

Luria Bertani (LB) dan diinkubasikan pada temperatur 37°C selama 24 jam. Konsentrasi kultur diukur berdasarkan standar Mac Farland nomor 3 (konsentrasi suspensi 10<sup>6</sup>sel/ml)

### Preparasi Serbuk Lobak (*Raphanus sativus*)

Serbuk lobak diperoleh dengan cara buah lobak sebanyak 20 kilogram, dicuci dan diiris tipis diletakkan pada papan datar lalu dijemur. Untuk menghindari cahaya matahari langsung, irisan lobak ditutup dengan kain putih. Irisan buah lobak yang sudah kering diblender sehingga diperoleh serbuk kering yang halus.

### Infeksi Ayam Buras dengan *Pasteurella multocida* dan Pemberian Serbuk lobak (*Raphanus sativus*)

Hewan percobaan yang digunakan adalah ayam Buras sebanyak 12 ekor berumur 3 minggu dengan berat badan rata-rata 600 gram. Ayam dikelompokkan menjadi 2 kelompok, masing-masing terdiri dari 10 ekor kelompok perlakuan dan 2 ekor digunakan sebagai kontrol positif. Sebanyak 10 ekor ayam (kelompok perlakuan) dan 2 ekor (kelompok kontrol positif) masing-masing diinfeksi dengan *P.multocida* konsentrasi 10<sup>6</sup> sel/ml dosis 0,1 cc secara injeksi peritonial (IP). Semua ayam dipelihara selama 3 hari dan pada hari ke 4 ayam kelompok perlakuan diberikan serbuk lobak secara dicekokin dengan dosis 1 gram/ekor sampai pada hari ke 7. Selanjutnya pada hari ke 8 semua ayam (kelompok perlakuan dan kelompok kontrol positif) dibunuh dan diambil cairan peritonium serta diamati perubahan anatomi morfologi limpa.

### Preparasi Cairan Peritonium dan Organ Limpa Ayam Buras

Semua ayam (kelompok perlakuan dan kelompok kontrol positif) yaitu pada hari ke 8 dibunuh dan diambil cairan peritonium serta diamati perubahan anatomi morfologi limpa. Ayam diletakkan dalam posisi terlentang. Kulit bagian perut

dibersihkan dengan alkohol 70% sehingga bagian peritonium terlihat jelas. Dengan menggunakan spet, sebanyak 5 ml NaCl fisiologis diinjeksikan kedalam rongga peritonium ayam dan dibiarkan selama 3 menit sambil diguling-guling dengan perlahan-lahan.

Selanjutnya cairan peritonium dikeluarkan dengan cara menekan organ dalam, lalu cairan diaspirasi dengan jarum suntik, pilih pada bagian yang tidak berlemak dan jauh dari usus. Kemudian jarum yang berisi cairan aspirasi diletakkan ke dalam beker gelas berisi es dan cairan ditransfer kedalam tabung.

Pada saat digunakan cairan aspirasi diambil 1ml dicampur dengan bagian 0,2% tripan blue dengan satu bagian suspensi sel (pengenceran 1:2). Sel dihitung dengan Hemositometer dalam waktu 3 menit. Sel yang hidup (sel viabel) dihitung dari jumlah sel yang tidak tercatat pada 4 kotak besar x 5 x 10<sup>5</sup>/ml. Persentase sel viabel adalah jumlah

sel viabel/jumlah seluruh sel x 100% (Supargiono, 1996).

Untuk melihat morfologi limpa, ayam kampung (Buras) yang telah diambil cairan peritonium, lalu bagian dada ayam dibuka secara perlahan-lahan, sehingga terlihat bagian atau letak dari limpa tersebut. Limpa diambil dan diukur diameternya.

### Analisis Data

Data dari hasil uji khasiat serbuk lobak (*Raphanus sativus*) terhadap jumlah sel limfosit dan perubahan morfologi limpa setelah diinfeksi dengan kuman *P.multocida* dianalisis secara deskriptif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Jumlah Sel Limfosit Dalam Cairan Peritonium Ayam Kampung (Buras)

Hasil pemeriksaan sel limfosit dalam cairan peritonium terhadap 10 ekor ayam ditemukan jumlah sel limfosit yang menurun (Tabel 1.).

Tabel 1. Jumlah sel limfosit dalam cairan peritonium ayam yang diinfeksi *Pasteurella multocida* dengan konsentrasi 10<sup>6</sup> sel/ml setelah pemberian serbuk lobak (*Raphanus sativus*) dengan dosis masing-masing 1 gram /ekor.

Kelompok	Hewan Coba (Ayam)	Jumlah Sel Limfosit yang Hidup (Viabel)	Jumlah seluruh Sel Limfosit	Total Sel Limfosit/ml	Persentase Sel Limfosit (%)
<b>I</b>	Kontrol	7	20	2.0 x 10 <sup>5</sup>	35,00
<b>II</b>	AY1	2	13	1.0 x 10 <sup>5</sup>	24,00
	AY2	3	10	1,5 x 10 <sup>5</sup>	30,00
	AY3	3	14	1,5 x 10 <sup>5</sup>	21,00
	AY4	2	11	1,0 x 10 <sup>5</sup>	18,00
	AY5	3	11	1,5 x 10 <sup>5</sup>	27,00
	AY6	2	14	1.0 x 10 <sup>5</sup>	14,00
	AY7	2	12	1.0 x 10 <sup>5</sup>	16,00
	AY8	3	10	1,5 x 10 <sup>5</sup>	30,00
	AY9	2	10	1.0 x 10 <sup>5</sup>	20,00
	AY10	3	11	1,5 x 10 <sup>5</sup>	27,00
		<b>Rata-rata</b>	<b>2,5</b>	<b>11,6</b>	<b>1,25 x 10<sup>5</sup></b>

Keterangan: AY=Ayam Kampung

Data Tabel 1 menunjukkan bahwa jumlah sel limfosit dalam cairan peritonium ayam kampung yang diinfeksi dengan kuman *P. multocida* dengan konsentrasi 10<sup>6</sup>

sel/ml dan diberikan tepung lobak (*Raphanus sativus*) dengan takaran 1 gram/ekor rata-rata 1,25 x 10<sup>5</sup> sel/ml atau 26,20%. Hal ini terdapat penurunan level sel

limfosit dibanding dengan rata-rata jumlah limfosit ayam kontrol positif yang berkisar  $2,0 \times 10^5$  sel/ml atau 35%.

Penuruna jumlah limfosit yang diukur pada hari ke 7 memberikan indikasi bahwa adanya efektifitas bahan aktif lobak (*Raphanus sativus*) yaitu raphanin sebagai antibiotika. Penurunan jumlah limfosit disebabkan oleh hilangnya antigen yaitu kuman *P. multocida*, yang telah dihancurkan oleh bahan aktif lobak raphanin sehingga kemampuan tubuh untuk memproduksi sel limfosit tidak meningkat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Tizzard (2004) dan Glasby (1992) bahwa limfosit merupakan unsur utama sistem pertahanan tubuh yang akan meningkat mobilisasinya ketempat terjadinya peradangan jika suatu mikroorganisme atau bahan asing lainnya memasuki jaringan. Namun disisi lain, peranan antibiotika dapat memunculkan reaksi imunologis untuk bekerja sama dengan sel limfosit serta sel-sel aksenoni non limfatiknya seperti makrofag.

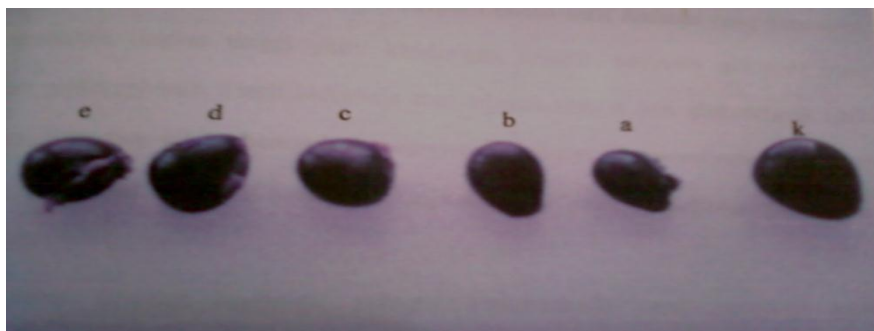
Munculnya respon imunologis ada kaitan dengan peranan raphanin dalam mekanisme faktor virulensi kuman *P. multocida* untuk melekat (adhesi) pada sel-sel epitel. Respon imunologis ini merupakan respon imun spesifik (acquiredimmunity), dimana tubuh ayam tersebut telah mempunyai sel B memori yang telah terbentuk pada saat ayam diinfeksi. Sehingga proses penghancuran antigen oleh raphanin menjadi lebih cepat dan lebih efisien (Roitt, 2008).

Penurunan jumlah sel limfosit ada hubungannya dengan reaksi timbal balik

antara antibodi yang terbentuk dengan respon antigen yang tidak hilang/hancur, maka sel limfosit ayam yang terinfeksi tersebut tidak dapat mencapai titik terendah. Tinggi rendahnya jumlah sel limfosit sangat ditentukan oleh differensial sel limfosit B dan pembentukan antibodi. Pembentukan antibodi diperlukan sel limfosit T-penolong (T-helper) dan sel limfosit T penekan (T-supresor). Sel limfosit T-penolong membantu produksi antibodi, sedang sel limfosit T-penekan akan mengatur produksi antibodi sehingga mencapai nilai yang seimbang dan sesuai dengan yang dibutuhkan oleh tubuh (Nossal, 1987). Oleh sebab itu penurunan jumlah sel limfosit pada ayam yang diinfeksi *P. multocida* dan diberikan serbuk lobak sering tidak mencapai titik terendah dan tetap berfluktuasi.

## B. Perubahan Morfologi Limpa Ayam Buras

Hasil pemeriksaan makroskopis menunjukkan bahwa limpa ayam yang diinfeksi dengan *P. multocida* dengan konsentrasi  $10^6$  sel/ml dan diberikan serbuk lobak (*Raphanus sativus*) dengan takaran masing-masing 1 gram/ekor mengalami pengecilan dengan diameter rata-rata 0,6 cm dibandingkan dengan ayam kontrol positif rata-rata 1,2 cm (Gambar 1.). Hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa limpa mengecil dan mengeras. Perubahan limpa pada hari ke 7 semuanya ditemukan perubahan morfologi yang mengecil.



Gambar 1. Morfologi limpa ayam buras secara makroskopis berturut-turut a (0,3 cm), b (0,5 cm), c (0,6cm), dan e (0,7 cm). Limpa k (kontrol positif, 1,2 cm) warna pucat dan mengeras.

Perubahan morfologi limpa yang mengecil menunjukkan adanya kemampuan tubuh untuk memproduksi sel limfosit. Kemampuan tubuh untuk memproduksi sel limfosit terhadap adanya reaksi peradangan yang disebabkan oleh bakteri *P. multocida* rendah. Hal ini ada pengaruh dengan fungsi lobak (*Raphanus sativus*) sebagai antibakterial. Bentuk ini telah dibuktikan secara *in vitro* bahwa ekstrak lobak dengan konsentrasi 2,5%, 5% dan 10% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella pulloru* (Anonimous, 2001).

Bahan aktif antimikrobal lobak ditemukan dalam bentuk raphanin (C<sub>17</sub>H<sub>26</sub>O<sub>3</sub>S<sub>3</sub>) yang memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan kuman-kuman Gram positif dan Gram negatif (Gasby, 1992). Seperti bahan aktif yang ditemukan dalam tumbuhan tingkat tinggi yaitu kandungan senyawa organik glikosida yang dinamakan glukorefanin. Hasil hidrolisis atau minyak mustar dari glukorefanin adalah sulforefana. Senyawa ini berbentuk 4-methylsufinylbutyl glucosinolsate yang sudah diidentifikasi berasal dari 16 tumbuhan tingkat tinggi yaitu Cruciferae (Fahey dan Talalay, 1999). Senyawa tersebut berfungsi sebagai antimetabolit yang mengusir secara kompetitif asam p-aminobenzoat (PABA) yang dibutuhkan bakteri *P. multocida* untuk pembentukan asam folat. Secara *in vivo* PABA dipecah menjadi p-aminobensulfonamida yang merupakan bagian molekul yang bersifat kemoterapeutik (Mutschler, 1991).

### KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa serbuk lobak (*Raphanus sativus*) berpengaruh terhadap peningkatan sistem pertahanan tubuh ayam yang diinfeksi dengan *P. multocida*. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan bahan aktif lobak dapat menghambat atau membunuh antigen *P. multocida*.

Perlu adanya pengembangan penelitian lebih lanjut, sehingga menjadikan tanaman lobak sebagai obat antibiotika

alternatif untuk pengobatan berbagai penyakit ternak baik yang disebabkan oleh bakteri, virus maupun mikroorganisme lainnya

### DAFTAR PUSTAKA

- Anonimous, 2001. **Lobak datang Salmonella Hilang, Infovet**, edisi 097 Februari 2001. PT Penebar Swadaya. Jakarta.
- Anonimous, 2003. *Raphanus sativus*. Linn, [http://www.modern\\_natural.com](http://www.modern_natural.com)
- Fahey, J.W dan Talalay, P. 1999. **Purification and Characterization of Raphanin**. A neutral Protease from *Raphanus sativus* leaves, food and Chemical Toxicology. India
- Glasby, J.S. 1992. **Encyclopedia of Antibiotic**, 3 rd.Ed. The John Willey & Son Ltd. New York, USA
- Mutschler, E. 1991. **Dinamika obat**, Penerbit ITB, Bandung
- Nossal, S. 1987. Current concept Immunology: The basic component of the Immune System. N. Engl. **J. Med.** 316: 1320-1325
- Roitt, I.M. 2008. **The acquired immune response II. Production of effector**, In: *Essensila Immunology*. 6 th.Ed. Oxford. Blackwell Scientific Publication
- Sofain, R, Munarwan, Hayati, N, Agustina dan Salasia, SIO. 2001. Khasiat Minyak Atsiri Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) sebagai anti radang. **J. Sain** 19 (1) : 8-13
- Syukur, C dan Hernaini. 2000. **Budaya Tanaman Obat Komersial**. PT Penebar Swadaya, Jakarta
- Tizzard, I.R. 2004. **Immunology An Introduction**. 4th. Ed. Sauder College Publishing, Orlando, Florida, USA
- Dalimunte, S. 1999. **Ramuan Tradisional untuk Pengobatan Kanker**, PT Penebar Swadaya, Jakarta
- Nakamura, Y; Iwahashi, T.A; Tanak, J; Kautani, T; Matsuo, OS; Sato, K and Ohstuki. 2001. A Principle Antimutagen in Daikon (*Raphanus sativus*), Japanese White Radish. **J. Agric. Food Chem** 49 (12) 5755-5760.