

**PENGARUH EKSTRAK BAWANG PUTIH (*ALLIUM SATIVUM*) DALAM MENURUNKAN  
JUMLAH LEUKOSIT PADA MENCIT MODEL SEPSIS PAPARAN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

**SKRIPSI**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**Danar dwi anandika**

**G 0006062**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
SURAKARTA**

**2009**

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang Masalah

*Staphylococcus aureus* adalah mikroba patogen yang mampu menyebabkan bermacam – macam penyakit pada manusia. Sekali *Staphylococcus aureus* melekat pada jaringan tubuh manusia, dia akan mampu berkembang dan bertahan hidup dengan berbagai macam cara. Secara in vitro *Staphylococcus aureus* dapat menyerang dan bertahan hidup di dalam sel epitel termasuk sel endotelial, secara teoritikal hal tersebut menyebabkan mikroba ini sulit dikenali oleh sistem pertahanan tubuh. *Staphylococcus aureus* juga mampu membentuk koloni kecil yang berbeda-beda / small-colony variants (SCVs) yang menyebabkan infeksi stafilokokkus sulit disembuhkan dan sering berulang (Gordon and Lowy, 2008).

*Staphylococcus* memiliki peran penting dalam timbulnya infeksi nosokomial dan penyakit – penyakit infeksi lain. Infeksi bakteri gram positif lebih sulit untuk diatasi daripada yang disebabkan oleh bakteri gram negatif (Fournier and Philpott, 2005).

Selama infeksi, *Staphylococcus aureus* menghasilkan bermacam – macam enzim seperti protease, elastase, lipase yang digunakan untuk menginvasi dan merusak jaringan tubuh manusia bahkan untuk berpindah ke lokasi lain. *Staphylococcus aureus* juga dapat menyebabkan shock septik. Hal tersebut terjadi karena adanya interaksi antara *Staphylococcus aureus* dengan mediator – mediator inflamasi. Beberapa strain *Staphylococcus aureus* menghasilkan superantigen seperti racun makanan dan toxic shock syndrome. Superantigen tersebut dapat menyebabkan timbulnya sepsis akibat aktifnya sitokin seperti selektin, integrin, PECAM, ICAM, dsb.

Secara normal, jumlah leukosit pada pasien sepsis meningkat (leukositosis). Peningkatan ini diperlukan sebagai respon pertahanan tubuh terhadap infeksi. Tapi peningkatan yang berlebihan dan berlarut – larut dari leukosit dapat merusak tubuh. Pelepasan sitokin berlebihan yang berasal dari monosit di dalam sirkulasi serta *reactive oxygen spesies* (ROS) yang berasal dari neutrofil dapat memicu terjadinya sepsis (Aird, 2003).

Manfaat dari bawang putih telah diakui lebih dari 5000 tahun. Pada masa lampau, orang – orang Babilonia, Mesir, Viking, Cina, Yunani, Romawi menggunakan bawang putih untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti gangguan pencernaan, *flatulansi* (perut penuh terisi udara), cacangan, infeksi pernapasan, penyakit kulit, luka, gejala – gejala penuaan dan macam – macam penyakit lainnya. Pada saat PD II bawang putih digunakan untuk mengobati luka – luka para prajurit untuk mencegah infeksi (Amagase *et al.*, 2001).

Bawang putih memiliki berbagai macam efek terapeutik yaitu : pada sistem kardiovaskular, antibiotik, antikanker, antioksidan, immunomodulator, anti-inflamasi, efek hipoglikemik. Dilaporkan bahwa bawang putih dapat menghambat pertumbuhan dari *Aerobacter*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Citrella*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Proteus*, *Providencia*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* dan *Vibrio*. Bawang putih menunjukkan efek antibiotik berspektrum luas melawan bakteri gram positif dan gram negatif. Bawang putih juga efektif melawan organisme yang sudah resistan terhadap antibiotika. Selain itu kombinasi antara bawang putih dan antibiotika menunjukkan parsial maupun total sinergisme. Sampai saat ini belum dilaporkan terjadinya resistensi mikroba terhadap bawang putih oleh karena itu bawang putih memiliki potensi untuk dijadikan terapi suportif terhadap infeksi mikroba (Sivam, 2001).

Penulis mencoba melakukan penelitian mengenai efek ekstrak bawang putih terhadap mencit yang dipapar *Staphylococcus aureus* untuk mengetahui keefektivitasan bawang putih dalam menurunkan jumlah leukosit. Sesuai data

empirik infeksi bakteri gram positif lebih sulit untuk diatasi daripada yang disebabkan oleh bakteri gram negatif, di lain pihak telah diketemukan bahwa bawang putih memiliki efek antimikroba dengan spektrum luas dan belum ditemukan adanya resistensi terhadap bawang putih. Oleh karena itu diharapkan bawang putih dapat digunakan sebagai terapi suportif terhadap infeksi atau sepsis pada manusia.

## **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang masalah di atas, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

”Apakah ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) dapat menurunkan jumlah leukosit pada mencit yang mengalami sepsis akibat paparan *Staphylococcus aureus* ?”

## **C. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) dapat menurunkan jumlah leukosit pada mencit yang mengalami sepsis akibat paparan *Staphylococcus aureus*.

## **D. Manfaat Penelitian**

### 1. Manfaat Teoritis :

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai efek bawang putih terhadap peningkatan leukosit pada sepsis.

### 2. Manfaat Praktis :

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan pertimbangan dalam pemanfaatan bawang putih (*Allium sativum*) sebagai terapi adjuvan pada penelitian-penelitian yang akan datang.

## BAB II

### LANDASAN TEORI

#### A. Tinjauan Pustaka

##### 1. Bawang Putih (*Allium sativum*)

###### a. Klasifikasi Ilmiah

Dalam taksonomi tumbuhan, bawang putih diklasifikasikan sebagai berikut :

Kerajaan : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Liliopsida

Ordo : Asparagales

Famili : Alliaceae

Upafamili : Allioideae

Bangsa : Allieae

Genus : *Allium*

Spesies : *A. sativum*

(Wikipedia, 2009)



Gambar 1. Bawang putih

Bawang putih telah menarik minat dunia kedokteran modern karena bawang putih digunakan oleh hampir seluruh penduduk dunia dan dipercaya dapat meningkatkan ketahanan tubuh dan memelihara kesehatan tubuh (Banerjee and Maulik, 2002). Bawang putih sudah dikenal sejak dulu oleh bangsa mesir kuno khususnya digunakan oleh para buruh. Hal ini tertulis pada teks *Codex Eber* 1550 SM. Pada olimpiade yunani kuno, bawang putih digunakan oleh para atlet untuk meningkatkan stamina mereka. Bawang putih juga digunakan oleh para tabib cina kuno untuk mengobati penyakit pernafasan dan pencernaan (Rivlin, 2006; Amagase, 2006; Banerjee and Maulik, 2002).

#### b. Kandungan Bawang Putih

Sebagian besar (65%) bawang putih tersusun oleh air, komponen berat kering tersusun oleh fruktosa, sulfur, protein, serat, dan asam amino bebas. Selain itu bawang putih mengandung kadar tinggi saponin, fosfor, potassium, sulfur, zinc. Dalam kadar sedang mengandung selenium, vitamin A dan C. Dalam kadar rendah mengandung kalsium, magnesium, sodium, besi, mangan, dan vitamin B kompleks. Komponen utama dari bawang putih adalah komponen yang larut dalam air (97%) (Rahaman *et al.*, 2006). Kandungan nutrisi bawang putih dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 1. Kandungan Nutrisi Bawang Putih

Nilai gizi tiap 100 gram (energi 150 kcal)	
Kandungan gizi	Jumlah
Karbohidrat	33,06 gram
Serat makanan	2,10 gram
Gula	1,00 gram
Lemak	0,50 gram
Protein	6,39 gram
Vitamin B1	0,20 miligram

Vitamin B2	0,11	miligram
Niacin	0,70	miligram
Asam pantotenat	0,59	miligram
Vitamin B6	1,24	miligram
Vitamin C	31,20	miligram
Kalsium	181,00	miligram
Besi	1,70	miligram
Magnesium	25,00	miligram
Fosfor	153,00	miligram
Kalium	401,00	miligram
Natrium	17,00	miligram
Seng	1,16	miligram
Mangan	1,67	miligram
Beta karoten	5,00	mikrogram
Folat	3,00	mikrogram
Selenium	14,20	mikrogram

(Govan, 2009)

Tabel 2. Kandungan Asam Amino pada Bawang Putih

<b>Asam Amino</b>	<b>Kandungan (mg/mL)</b>	<b>Nilai relative (%)</b>
Lysin	0,95	4,4
Histidin	0,32	1,5
Arginin	6,55	30,3
Asam aspartat	2,10	9,7
Threonin	0,58	2,7
Serin	0,63	2,9
Glutamin	4,50	20,8
Prolin	0,80	3,7
Glisin	0,69	3,2
Alanin	0,70	3,2

Sistein	0,36	1,7
Valin	0,82	3,8
Metionin	0,12	0,6
Isoleusin	0,43	2,0
Leusin	0,81	3,7
Triptopan	0,60	2,8
Fenilalanin	0,66	3,0

(Abdullah *et al.*, 1988)

Terdapat dua prekursor utama yang mengandung sulfur pada bawang putih yaitu  $\gamma$ -glutamyl-S-allyl-L-cystein dan S-allyl-L-cystein sulfoxida. SACS merupakan prekursor utama pembentuk allicin, methiin, (+)-S-(trans-1-propenyl)-L-cystein sulfoxida, dan cycloalliin. Sedangkan  $\gamma$ -glutamyl-S-allyl-L-cystein merupakan prekursor dari S-allyl-L-cystein (SAC). Pembentukan alliin menjadi thiosulfinat (seperti allicin) memerlukan bantuan enzyme allinase yang terjadi saat bawang putih dipotong atau dihancurkan. Pembentukan SAC dari  $\gamma$ -glutamyl-S-allyl-L-cystein memerlukan  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase saat bawang putih diekstrak menggunakan larutan cair. SAC merupakan produk utama dari  $\gamma$ -glutamyl-S-allyl-L-cystein yang dapat dideteksi pada darah. Thiosulfinat yang merupakan produk dari alliin bersifat tidak stabil (allicin, allylmethyl-, methylallyl-, trans-1-propenyl-thiosulfinat) dan bersifat toksik seperti allicin (Amagase, 2006).

Komponen organosulfur yang terkandung pada bawang putih adalah sebagai berikut :

Tabel 3. Komponen Organosulfur Bawang Putih

<b>Komponen Organosulfur Bawang Putih</b>	
<b>Larut dalam air</b>	<b>Larut dalam minyak</b>
S-allylcystein (SAC)	Diallyl Sulfide (DAS)
S-ethylcystein (SEC)	Diallyl Disulfide (DADS)
S-propylcystein (SPC)	Diallyl Trisulfide (DATS)



S-methylcysteine (SMC)	Dipropyl Sulfide (DPS)
$\gamma$ -glutamyl-S-allylcysteine (GSAC)	Dipropyl Disulfide (DPDS)
$\gamma$ -glutamyl-S-methylcysteine (GSPC)	Methyl Allylsulfide (MAS)
S-allyl Acetylcysteine (SAAC)	
S-allyl Sulfonylalanine (SASA)	
S-allyl Mercaptocysteine (SAMC)	
Alliin	

(Yeh dan Liu, 2001).

Komponen utama yang terdapat pada bawang putih adalah  $\gamma$ -*glutamylcysteine*. Komponen ini dapat dihidroksilasi dan dioksidasi menjadi alliin. Alliin merupakan suatu prekursor stabil yang akan berubah menjadi allicin dengan bantuan enzim allinase bila dilakukan pemrosesan seperti pemotongan dan penggerusan. Kemudian allicin dengan segera akan terdekomposisi menjadi komponen – komponen sulfur lain seperti *diallyl sulfide* (DAS), *diallyl disulfide* (DADS), *diallyl trisulfide* (DATS), dithiins dan ajoene. Pada saat yang sama,  $\gamma$ -*glutamylcysteine* juga akan dirubah menjadi *S-allylcysteine* (SAC) yang memiliki peranan besar terhadap efek menguntungkan bawang putih (Amagase *et al.*, 2001).

Cavallito dkk (1944) menemukan komponen bawang putih yang berperan dalam aktivitasnya sebagai antimikrobia. Komponen tersebut adalah allicin, suatu molekul tidak stabil yang berasal dari prekursor alliin. Allicin memiliki waktu paruh yang sangat singkat, sehingga tidak akan terdeteksi dalam tubuh setelah penambahan allicin ke dalam darah ataupun setelah mengkonsumsi bawang putih mentah. (Amagase *et al.*, 2001).

Komponen lain yang merupakan turunan dari allicin yaitu ajoene memiliki efek kuat dalam menghambat agregasi platelet serta memiliki efek antifungal dan antimikroba secara *in vitro*. Turunan dari allicin yang mempunyai efek antimikroba hanyalah *diallyl disulfide*

(DADS) dan ajoene. Ikatan disulfida memegang peranan penting sebagai faktor antimikroba (Naganawa *et al.*, 1996). Ikatan disulfida ini reaktif berikatan dengan sistein yang akan mengurangi efek antimikrobia ajoene dan DADS. Allicin beserta turunan – turunannya seperti sulfida, ajoene, dithiins tidak ditemukan dalam darah dan urin meskipun setelah mengkonsumsi bawang putih dalam jumlah besar (Amagase *et al.*, 2001).

Sementara itu, S-allylcysteine (SAC) memiliki bioavailabilitas yang tinggi. Bioavailabilitas SAC pada mencit 103,0 %, tikus 98,2 %, dan anjing 87,2% (Amagase *et al.*, 2001). Komponen ini tidak toksik, bahkan dilaporkan sifat toksik komponen ini hanya 4% dari allicin. Sehingga komponen ini sangat menjanjikan dan diyakini berperan dalam berbagai efek yang menguntungkan dari bawang putih (Amagase, 2006; Allison *et al.*, 2006).

### c. Manfaat Bawang Putih

Ekstrak bawang putih menghambat peroksidasi lipid, mengurangi kerusakan iskemik, dan menghambat oksidasi LDL, sehingga mampu melindungi sel endotel dari kerusakan akibat molekul – molekul radikal bebas atau oksidan yang bisa menyebabkan timbulnya aterosklerosis. Selain itu ekstrak bawang putih juga menghambat faktor transkripsi oksidatif, *nuclear factor (NF)-κB*, yang memiliki peran penting dalam ekspresi virus HIV dan pembentukan atheroma. Ekstrak bawang putih dapat melindungi DNA dari mutasi genetik, menghambat perkembangan karsinogenesis, dan melindungi tubuh dari kerusakan akibat sinar UV dan radiasi ionik. Ekstrak bawang putih diperkirakan dapat mencegah penurunan fungsi otak dan efek – efek lain yang menyertai proses penuaan. Bawang putih memiliki efek kardioprotektif terhadap doxorubicin, agen antikanker yang digunakan untuk terapi kanker dan kerusakan hepar karena karbon tetraklorida (Borek, 2001).

Bawang putih memiliki kandungan antioksidan yang melimpah. Bawang putih mampu meningkatkan sistem imunitas dan meningkatkan enzim – enzim antioksidan dalam tubuh. Bawang putih mengurangi pembentukan kolesterol dengan menghambat 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reduktase. Penghambatan kolesterol, ox-LDL, dan agregasi platelet dapat menghambat pembentukan plak pada dinding pembuluh darah. Bawang putih mengurangi homosistein, menurunkan tekanan darah, dan meningkatkan mikrosirkulasi yang penting bagi penderita diabetes. Bawang putih juga mampu melindungi saraf dari Abeta neurotoxicity dan apoptosis sehingga mencegah penurunan daya pikir (Borek, 2006). Selain hal – hal tersebut bawang putih juga dapat digunakan untuk mengatasi hipoglikemia, spasmolitik pada gastrointestinal, hepatoprotective, antiviral, antifungal, antiparasitik, antimikrobia, kemopreventif (Kemper, 2000).

Bawang putih dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan *Aerobacter*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Citrella*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Proteus*, *Providencia*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, dan *Vibrio*. Thiosulfinat memainkan peran penting dalam efek antibiotik bawang putih. Allicin adalah thiosulfinat terbanyak yang dihasilkan pada bawang putih. Thiosulfinat menunjukkan aktivitas antimikrobanya dengan menghambat segera secara total sintesis RNA. Selain itu, DNA dan protein juga dihambat secara parsial (Sivam, 2001).

**d. Manfaat Bawang Putih sebagai *Inhibitor Staphylococcus aureus***

Berdasarkan penelitian Tsao, bawang putih memiliki efek antimikroba secara in vitro. Ikatan sulfida memiliki peran penting dalam menentukan kemampuan antimikroba bawang putih. Tsao

secara in-vitro menguji efek bawang putih, bawang perai Cina, dan 4 macam *diallyl sulphides* terhadap *Staphylococcus aureus*, *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), 3 spesies *Candida spp.*, dan 3 spesies *Aspergillus spp.* Dari hasil penelitian tersebut bawang putih memiliki efek antimikroba yang lebih baik dibandingkan bawang perai Cina dan 4 macam *diallyl sulphides* lainnya (Tsao and Yin, 2001).

Barak, dkk. melakukan penelitian efek antimikroba bawang putih terhadap beberapa bakteri gram positif dan gram negatif secara in-vitro. Bakteri diisolasi dari anak yang mengalami septikemia dan dirawat di rumah sakit. Dari hasil penelitian tersebut, bawang putih memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme 5 bakteri gram negatif, 3 bakteri gram positif termasuk *Staphylococcus aureus*, dan 2 spesies jamur lainnya (Barak *et al.*, 2007).

Ajoene yang merupakan turunan dari Allicin, komponen organosulfur bawang putih yang larut dalam air, menunjukkan efek antimikroba berspektrum luas. Dengan kadar 20 µg per ml, ajoene dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (Naganawa *et al.*, 1996). Sedangkan untuk ekstrak bawang putih tanpa purifikasi komponen – komponennya pada konsentrasi 40 µg per ml, tidak menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (Sivam, 2001). Ekstrak bawang putih dengan kadar 4 mg memiliki diameter zona hambat *Staphylococcus aureus* pada disk antimikroba 8 mm. Sementara dengan kadar 1 mg, 0,5 mg, 0,1 mg berturut – turut memiliki diameter zona hambat 4 mm, 0 mm, dan 0 mm. Kadar hambat minimum ekstrak bawang putih terhadap *Staphylococcus aureus* adalah 6,2 mg per ml (Shokrzadeh and Ebadi, 2006).

## 2. *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* merupakan jenis kuman terbanyak yang mampu menimbulkan penyakit pada manusia. Dia dapat menginfeksi

jaringan manapun pada tubuh manusia. Penyakit yang ditimbulkannya memiliki tanda – tanda yang khas yaitu peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses. Kuman ini merupakan kuman gram positif yang tidak bergerak dan tidak berspora. Di antara semua jenis kuman yang tidak membentuk spora, *Staphylococcus aureus* merupakan kuman gram positif yang paling kuat daya tahannya. Dalam agar miring dapat hidup sampai berbulan – bulan baik dalam lemari es maupun dalam suhu kamar. Sedangkan dalam keadaan kering pada kertas, benang, kain dan nanah dapat hidup selama 6 – 14 minggu (Warsa, 1994).

Kuman ini memiliki permukaan yang mampu mengenali molekul – molekul dalam tubuh untuk kemudian berikatan dengannya. Permukaan ini disebut *microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules* (MSCRAMMs). MSCRAMMs akan berikatan dengan molekul – molekul seperti kolagen, fibronectin, fibrinogen serta komponen – komponen jaringan tubuh lain. MSCRAMMs ini memiliki peran penting dalam menimbulkan infeksi endovaskular serta infeksi tulang dan persendian. *Staphylococcus aureus* dapat memproduksi  $\beta$ -laktamase yang dapat menginaktivasi penisilin dengan cara menghidrolisis cincin  $\beta$ -laktam pada antibiotik tersebut. MRSA selalu menghasilkan  $\beta$ -laktamase, menyebabkan bakteri gram positif ini resisten terhadap antibiotika turunan penisilin dan sefalosporin (Tsao and Yin, 2001 ).

Infeksi bakteri gram positif seperti infeksi *Staphylococcus aureus* dapat menimbulkan respon sitokin sistemik. Respon puncak terjadi 50-75 jam post infeksi bakteri gram positif. Sementara respon puncak akibat infeksi bakteri gram negatif terjadi setelah 1-5 jam. Meskipun bakteri gram positif dan gram negatif memiliki profile patogenitas yang berbeda, gejala penyakit yang ditimbulkannya relatif sama (Fournier and Philpott, 2005). Sepsis yang disebabkan oleh bakteri gram positif terutama *Staphylococcus aureus* memiliki angka kejadian 52% pada tahun 2000 (Haden *et al.*, 2007).

### 3. Sepsis

Sepsis adalah suatu sindroma klinik sebagai manifestasi proses inflamasi imunologik yang terjadi karena adanya respon tubuh (imunitas) yang berlebihan terhadap rangsangan produk mikroorganisme, ditandai dengan takipnea (frekuensi respirasi lebih dari 20 kali/menit), takikardia (frekuensi jantung lebih dari 100 kali/menit), hipertermia atau hipotermia (temperatur axilar tubuh lebih dari  $101^{\circ}\text{F}/38.3^{\circ}\text{C}$  atau  $96.1^{\circ}\text{F}/35.6^{\circ}\text{C}$ ), leukositosis ( $> 12.000/\text{mm}^3$ ), leukopenia ( $< 4000/\text{mm}^3$ ) (Edwin *et al.*, 2003).

Sepsis disebabkan oleh bakteri gram negatif, bakteri gram positif, jamur, virus, dan parasit (Edwin *et al.*, 2003; James *et al.*, 2005). Proporsi infeksi yang disebabkan bakteri gram negatif antara 30-80% dan bakteri gram positif antara 6-24% dari jumlah kasus sepsis (Edwin *et al.*, 2003). Produk yang berperan penting terhadap sepsis adalah Lipopolisakarida (LPS) (Oscar *et al.*, 2006; Edwin *et al.*, 2003), terutama kandungan lipidA yang merupakan endotoksin glikoprotein kompleks, komponen utama membran terluar dari bakteri gram negatif dan dapat menginduksi terjadinya sepsis gram negatif (Kristine *et al.*, 2007; Oscar *et al.*, 2006; Pierre and Thierry, 2003; Edwin *et al.*, 2003). Sedangkan bakteri gram positif akan menghasilkan asam lipoteat, peptidoglikan, dan *N-formyl-L-methionyl-L-leucyl-phenylalanine* (fMLP) yang juga merupakan komponen penting yang dapat menginduksi terjadinya sepsis (Bellingan, 1999).

Patofisiologi sepsis sangat kompleks akibat dari interaksi antara proses infeksi kuman patogen, inflamasi dan jalur koagulasi (Kristine *et al.*, 2007) yang dikarakteristikan sebagai ketidakseimbangan antara sitokin proinflamasi seperti *tumor necrosis faktor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ), *interleukin-1 $\beta$*  (IL-1 $\beta$ ), *interleukin-6* (IL-6) dan *Interferon- $\gamma$*  (IFN $\gamma$ ) dengan anti-inflamasi (*interleukin-1* reseptor antagonis (IL-1ra), *interleukin-4* (IL-4) dan *interleukin-10* (IL-10)) endogen (Elena *et al.*, 2006). Overproduksi sitokin inflamasi menyebabkan aktivasi respon sistemik berupa *Systemic*

*Inflammatory Response Syndrome* (SIRS) terutama pada paru-paru, hati, ginjal, usus dan organ lainnya (Arul, 2001) yang mempengaruhi permeabilitas vaskuler, fungsi jantung dan menginduksi perubahan metabolik yang dapat menyebabkan nekrosis jaringan, *multiple organ failure* (MOF) serta kematian (Elena *et al.*, 2006; Javier *et al.*, 2005; Arul, 2001).

Pada hewan percobaan model sepsis, kegagalan mikrosirkulasi merupakan awal mula terjadinya shock. Sistem pertahanan tubuh merespon sepsis dengan meningkatkan pengambilan dan akumulasi leukosit pada jaringan, dimana akumulasi ini akan menyebabkan kerusakan pada endotel, kebocoran kapiler, kegagalan organ. Pengambilan dan akumulasi leukosit melibatkan serangkaian proses interaksi leukosit-endotel pada venula post-kapiler yang diperantarai oleh ekspresi dari molekul adhesi pada endotel vaskular dan leukosit. Tahap pertama pengambilan leukosit ke dalam jaringan adalah rolling yang diperantarai oleh E-, P-, dan L-selektin. Tahap ini diperlukan untuk terjadinya adhesi leukosit pada endotel yang diperantarai oleh integrin  $\beta_2$  (CD11/CD18) yang terdapat pada leukosit dan molekul adhesi (ICAM-1) pada sel endotel. Dan akhirnya leukosit akan mengadakan transmigrasi ke bagian interstitial dan ke lokasi terjadinya cedera (Nakagawa *et al.*, 2007).

Dari beberapa penelitian yang telah dilakukan, IL-6 dapat digunakan sebagai marker terjadinya bakterimia. Pada bayi baru lahir, kandungan IL-6  $> 160$  pg/ml dapat digunakan sebagai penegak diagnosis sepsis. Menghambat aktivitas biologi dari IL-6 dapat meningkatkan daya tahan hidup dari pasien (Remick *et al.*, 2005).

Mencit yang hampir mati karena sepsis memiliki *makrofag* dan leukosit lebih tinggi dibandingkan dengan mencit yang sehat. Pada mencit yang mengalami sepsis akut, terdapat kadar IL-6 yang tinggi dalam darah, peningkatan berat badan, penurunan jumlah leukosit. Sedangkan pada mencit yang mengalami sepsis kronis, terdapat kadar IL-6 yang rendah,

penurunan berat badan, peningkatan jumlah leukosit. Terdapat mekanisme yang berbeda antara sepsis akut dan sepsis kronik (Xiao *et al.*, 2006).

Sepsis menyebabkan hipoperfusi intestinal berupa gangguan mikrosirkulasi mukosa usus, disfungsi *barrier* intestinal dengan peningkatan permeabilitas usus, invasi bakteri patogen dan toksinnya kedalam sirkulasi sistemik serta pelepasan sitokin inflamasi menyebabkan reaksi inflamasi (Jürgen *et al.*, 2006).

Pada anak – anak, sepsis dapat menyebabkan kerusakan otak, hipoksemia, dan syok septik yang akan berakhir pada kematian. Sedangkan pada mencit tandanya antara lain letargi, piloereksi, diare, demam dan lemah (Elena *et al.*, 2006).

#### **4. Ekstraksi**

Ekstrak merupakan sediaan sari pekat tumbuh-tumbuhan atau hewan yang diperoleh dengan cara melepaskan zat aktif dari masing-masing bahan obat, menggunakan menstruum yang cocok, uapkan semua atau hampir semua dari pelarutnya dan sisa endapan atau serbuk diatur untuk ditetapkan standarnya (Ansel, 1989).

Tumbuhan segar yang telah dihaluskan atau material tumbuhan yang dikeringkan diproses dengan suatu cairan pengekstraksi. Jenis ekstraksi mana dan bahan ekstraksi mana yang digunakan, terutama tergantung dari kelarutan bahan kandungan serta dari stabilitasnya. Jumlah dan jenis senyawa yang berpindah masuk ke dalam ekstraksi bergantung dari jenis dan komposisi cairan pengekstraksi. Untuk memperoleh sediaan obat yang cocok umumnya berlaku campuran etanol-air sebagai cairan pengekstraksi (Voigt, 1994a).

Ada 3 prinsip ekstraksi tumbuhan meliputi fase ekstraksi, maserasi, dan perkolasi. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat dan daya penyesuaian dengan tiap



macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna dari obat. Sifat dari bahan mentah merupakan faktor utama yang harus dipertimbangkan dalam memilih metode ekstraksi. Pada kenyataannya sering digunakan kombinasi dari proses maserasi dan perkolasi dalam mengekstraksi bahan mentah obat (Ansel, 1989).

Pada fase ekstraksi, komponen sel diambil dengan melarutkan pada cairan ekstraksi. Sebagian bahan aktif tiba-tiba berpindah ke dalam bahan pelarut melalui suatu mekanisme perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan cairan ekstraksi yang mula-mula masih tanpa bahan aktif yang mengelilinginya (Voigt, 1994b).

Perkolasi merupakan proses dimana obat yang sudah halus, zat yang larutnya diekstraksi dalam pelarut yang cocok dengan cara melewati perlahan-lahan melalui obat dalam suatu kolom. Obat dimampatkan dalam alat ekstraksi khusus disebut percolator, dengan ekstrak yang telah dikumpulkan disebut perkolat (Ansel, 1989).

Maserasi merupakan proses paling tepat dimana obat yang sudah halus memungkinkan untuk direndam dalam menstruum sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut. Maserasi biasanya dilakukan pada temperature 150-200C dalam waktu selama 3 hari sampai bahan-bahan yang larut melarut (Ansel, 1989). Bahan yang akan diekstrak dihaluskan sesuai dengan persyaratan farmakope, biasanya dipotong – potong atau diserbukkasarkan. Serbuk dimasukkan ke dalam gelas piala atau tempat seperti botol terbalik, kemudian ditambahi pelarut etanol sampai serbuk terendam. Diaduk sekali – sekali. Pelarut diganti tiap waktu tertentu. Terakhir akan didapatkan hasil berupa ekstrak (Anonim, 2008).

## 5. Leukosit

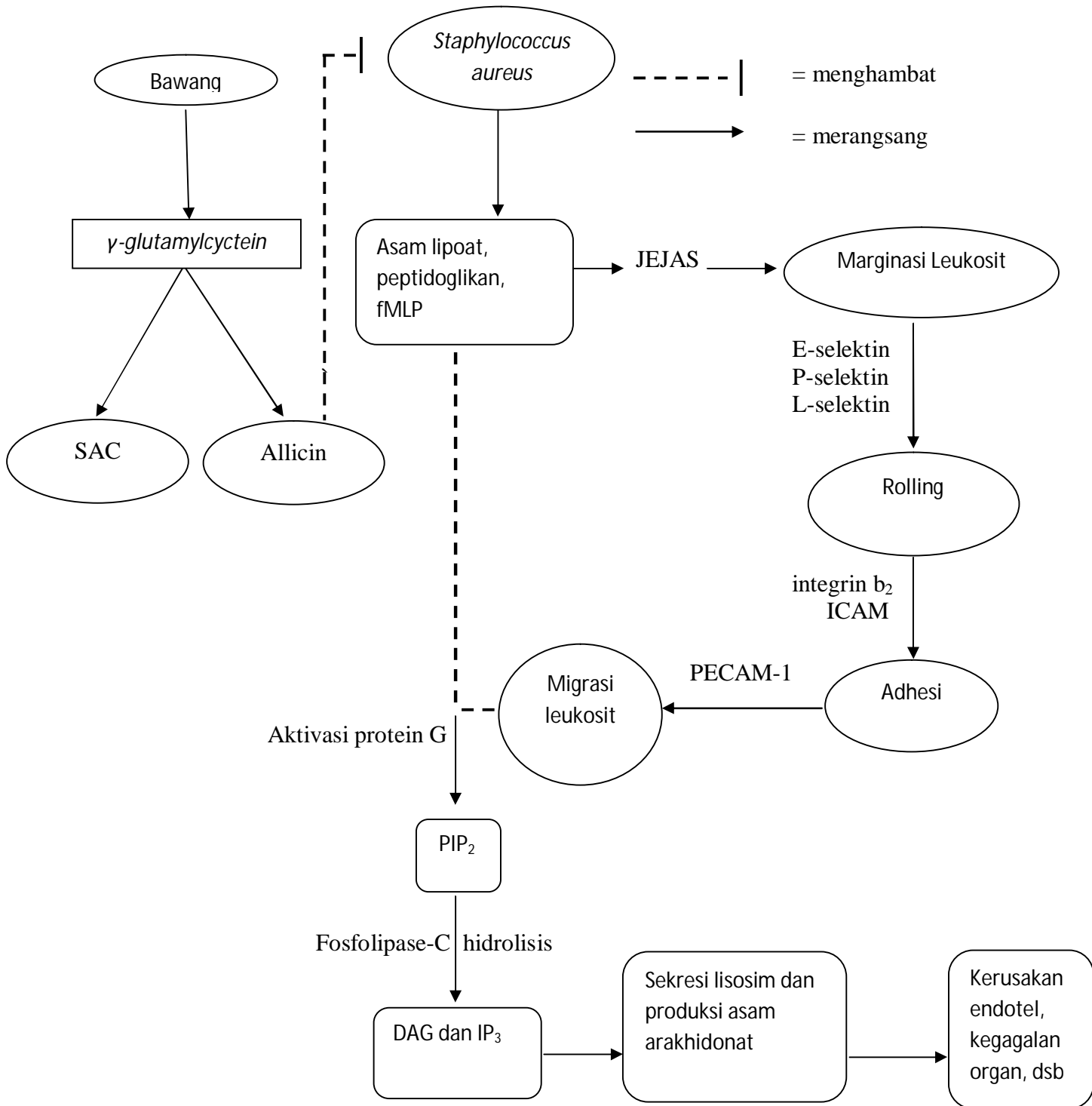
Jumlah leukosit normal pada bayi baru lahir sekitar 10000-30000/ $\mu$ l. Setelah itu jumlah leukosit turun secara bertahap dan pada orang dewasa jumlah leukosit berkisar antara 5000-10000/ $\mu$ l. Jumlah ini bervariasi tergantung pada usia.

Penghitungan leukosit memiliki arti penting bagi seorang dokter. Penghitungan leukosit dapat digunakan untuk mengetahui adanya infeksi dan digunakan untuk melakukan *follow up* perkembangan penyakit – penyakit tertentu. Leukosit dapat meningkat pada infeksi bakteri, apendisitis, leukimia, kehamilan, penyakit anemia hemolitik, uremia, ulcer, dan normal pada bayi yang baru lahir. Leukosit dapat menurun pada infeksi virus, brucellosis, penyakit tipoid, hepatitis, reumatoid arthritis, sirosis hepatis, dan lupus eritematosus.

Ada dua metode yang digunakan saat ini untuk menghitung jumlah leukosit. Yang pertama adalah metode penghitungan manual atau mikroskopik yang memiliki tingkat kesalahan sampai  $\pm 10\%$ . Metode yang kedua adalah metode penghitungan leukosit dengan cara semiautomatik dengan memakai alat elektronik. Tingkat kesalahan dari cara kedua ini adalah  $\pm 2\%$  (Brown, 1973).

**B. Kerangka Pemikiran**

**1. Kerangka Berpikir Konseptual**



Gambar 2. Skema Kerangka Berpikir Konseptual

Sumber : *Diagram kerja leukosit disari dari Buku Ajar Patologi Robbins*

Keterangan :

fMLP	= N-formyl-L-methionyl-L-leucyl-phenilalanin
SAC	= S-allyl cystein
ICAM-1	= <i>intercellular adhesion molecule-1</i>
PECAM-1	= <i>platelet endothelial cell adhesion molecule-1</i>
PIP <sub>2</sub>	= fosfatidilinositol bisfosfat
DAG	= diasilgliserol
IP <sub>3</sub>	= inositol trifosfat

## 2. Kerangka Berpikir Teoritis

*Staphylococcus aureus* akan mengeluarkan antigen seperti asam lipoat, peptidoglikan, fMLP yang kemudian akan mengaktifkan sistem pertahanan tubuh pejamu. Cedera yang ditimbulkan oleh antigen ini menyebabkan terjadinya akumulasi leukosit. Tahap pertama yang terjadi adalah marginasi dari leukosit yang kemudian dengan perantaraan E-,P-, dan L-selektin akan terjadi rolling leukosit di sepanjang pembuluh darah. Sel darah merah yang lebih kecil cenderung bergerak lebih cepat dibandingkan leukosit yang berukuran lebih besar, akibat pengaruh ini leukosit terdorong dari sumbu sentral pembuluh darah sehingga leukosit memiliki kesempatan lebih baik untuk berinteraksi dengan sel endotel yang melapisinya. Interaksi ini dibantu dengan meningkatnya permeabilitas vaskular yang terjadi pada inflamasi dini yang menyebabkan cairan keluar dari pembuluh darah dan aliran darah melambat. Proses akumulasi leukosit di tepi pembuluh darah ini disebut marginasi. Selanjutnya leukosit akan berguling – guling pada permukaan endotel dengan melekat secara sementara. Leukosit akhirnya melekat kuat pada permukaan endotel sebelum merayap di antara sel endotel dan melewati membran basalis masuk ke ruang ekstrasvaskular. Adhesi ini

diperantarai oleh ICAM-1 yang terdapat pada endotel dan integrin  $\beta_2$  yang terdapat pada leukosit. Setelah adhesi kuat terjadi pada permukaan endotel, leukosit bertransmigrasi dengan merembes pada *intercellular junction* diperantarai oleh PECAM-1. Setelah terjadi ekstravasasi dari darah, leukosit bermigrasi menuju tempat jejas mendekati gradien kimiawi pada suatu proses yang disebut kemotaksis. Perbedaan gradien kimiawi dapat disebabkan oleh antigen yang berasal dari bakteri. Antigen yang ditangkap oleh leukosit ini kemudian akan mengaktifkan fosfolipase-C yang diperantarai oleh protein G. Fosfolipase-C menghidrolisis fosfatidilinositol bifosfat ( $PIP_2$ ) membran plasma leukosit menjadi diasilgliserol (DAG) dan inositol trifosfat ( $IP_3$ ). Senyawa – senyawa ini pada akhirnya akan menghasilkan lisosim dan asam arakhidonat yang bila diproduksi secara terus – menerus dan berlebihan justru akan mengakibatkan kerusakan sel – sel di sekitarnya (Robbins, 2007).

Bawang putih melalui serangkaian penelitian dipercaya memiliki efek antimikroba melalui komponennya berupa allicin. Allicin menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan menghambat sintesis dari RNA bakteri. Sehingga proses metabolisme dari bakteri tersebut akan berhenti dan akan mengalami kematian. Ketiadaan bakteri dalam sirkulasi akan mengurangi jumlah leukosit yang bermigrasi dan teraktivasi sehingga kerusakan sel – sel normal di dalam tubuh dapat dihindari.

### **C. Hipotesis**

Pemberian ekstrak bawang putih dapat menurunkan jumlah leukosit pada mencit model sepsis paparan *Staphylococcus aureus*.

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### A. Jenis Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium dengan *post test design with control group only*.

#### B. Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu, Jln. Agro Malang Kampus UGM, Yogyakarta.

#### C. Subjek Penelitian

Subjek penelitian berupa 27 ekor mencit Balb/C jantan dengan berat badan  $\pm 40 - 45$  gram, dan berumur sekitar 8 – 10 minggu. Dua pertiga dari subjek penelitian diberi inokulum *Staphylococcus aureus* untuk menginduksi terjadinya sepsis.

#### D. Teknik Sampling

Pengambilan sample dilakukan secara *random sampling*.

#### E. Variable Penelitian

1. Variable Bebas : Ekstrak bawang putih
2. Variable Terikat : Jumlah leukosit
3. Variable Pengganggu :
  - a. Dapat dikendalikan = genetik, berat badan, makanan, umur
  - b. Tidak dapat dikendalikan = variasi kepekaan mencit terhadap suatu zat

#### F. Skala Variable

1. Pemberian ekstrak bawang putih : skala nominal

2. Pemberian inokulum *Staphylococcus aureus* : skala nominal
3. Penghitungan deviasi jumlah leukosit : skala rasional

## G. Definisi Operasional

### 1. Ekstrak Bawang Putih

Ekstrak bawang putih didapatkan dari Balai Penelitian Tanaman Obat (BPTO) Tawangmangu dengan teknik maserasi.

Berat bahan = 50 gram

Berat ekstrak = 6,5 gram

Rendemen = 13%

Pelarut yang digunakan dalam mengekstraksi adalah etanol 70%.

### 2. Dosis Ekstrak Bawang Putih

Dosis ekstrak bawang putih yang digunakan berdasarkan penelitian Sawitri yaitu 4 mg (Sawitri, 2005).

### 3. Inokulum *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus koagulase positif* didapatkan dari Laboratorium klinik Mikrobiologi Rumah Sakit Dr. Moewardi Surakarta. Sample diambil dari 4 kasus yaitu : Pasien dengan inisial I, usia 3,5 tahun, jenis kelamin wanita, didiagnosa tonsilofaringitis. Kuman diambil dengan apusan tenggorok. Pasien dengan inisial F.A, usia 1 tahun 5 bulan, jenis kelamin laki – laki, didiagnosa otitis media supuratif akut (OMA). Kuman diambil dari sekret telinga. Pasien dengan inisial R, usia 41 tahun, jenis kelamin laki - laki, didiagnosa infeksi post pyeloplasty. Pengambilan kuman dari pus. Pasien dengan inisial S, usia 45 tahun, jenis kelamin wanita, didiagnosa abses femur. Pengambilan kuman dari pus. Kemudian memeriksa koloni dengan *manitol salt agar* (MSA) untuk menemukan *Staphylococcus aureus*. Dari ke-4 kasus, dipilih satu kasus dengan pertumbuhan paling baik pada blood agar plate yang telah diinkubasikan dalam inkubator dengan suhu 37,5<sup>0</sup> C selama ± satu hari. Kasus terpilih adalah pasien inisial I dengan diagnosa tonsilofaringitis. Kemudian dari blood agar plate yang telah diinkubasi, diambil satu sengkeli kuman dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan NaCl sebanyak 5

ml, didapatkan suspensi bakteri yang homogen. Dosis *Staphylococcus aureus* yang digunakan untuk menginduksi terjadinya sepsis adalah  $1 \times 10^9$  CFU/mencit (Gjertsson, et al. 2000). Jumlah ini diperoleh dengan cara membandingkan kepekatan suspensi koloni dengan kepekatan McFarland 0,5.

#### 4. Penghitungan Deviasi Jumlah Leukosit

Leukosit dihitung dengan menggunakan alat hemositometer dengan pengenceran 1:20. Larutan pengencer yang digunakan haruslah yang bisa melisiskan sel darah merah. Dalam hal ini dapat digunakan asam asetat 0,5% atau larutan Turk yang dibuat dari 1 ml asam asetat glacial, 1 ml larutan gentian violet dalam air, dan 100 ml air suling. Untuk memperoleh pengenceran darah 1:20, darah dihisap ke dalam pipet pengencer sel darah putih sampai batas 0,5 lalu diisi dengan larutan pengencer sampai tanda 11. Kurang lebih 3-4 tetes larutan dibuang, lalu satu tetes diteteskan pada kamar hitung dan sel dibiarkan menetap selama 3 menit. (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Sediaan kemudian diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x.

Pada kamar hitung *improved neubauer*, leukosit dihitung pada empat kotak besar di tiap sudut tiap sisi kamar hitung. Sel yang menempel di garis pemisah sebelah kiri dan di garis atas kotak persegi ikut dihitung, sel yang menempel di kedua sisi kotak lain tidak ikut dihitung. Dalamnya kamar hitung adalah 0,1 mm, sehingga dengan pengenceran 1:20 perhitungan akhir sesudah menghitung 4 kotak besar adalah sebagai berikut :

Jumlah leukosit per  $\text{mm}^3$  darah = jumlah leukosit yang dihitung x 50 (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

$$\text{Rumus jumlah total leukosit} : \frac{\text{N}}{4 \times 1 \times 1 \times 0,1} \times 20 \quad \text{mm}^3$$

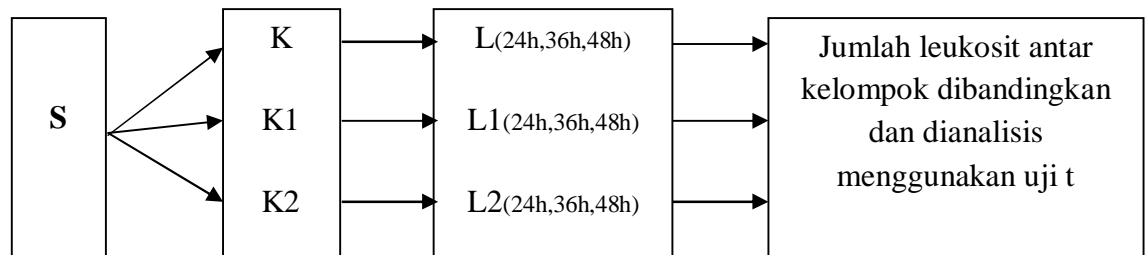
N = jumlah leukosit yang dihitung tiap lapang pandang



Penghitungan leukosit dilakukan secara manual di laboratorium patologi klinik Fakultas Kedokteran Hewan UGM.

## H. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test only control group design*.



Gambar 3. Skema Rancangan Penelitian

Keterangan :

- S : Jumlah mencit yang digunakan
- K : Kelompok kontrol negatif
- K1 : Kelompok perlakuan 1  
(pemberian 0,1 mL inokulum *Staphylococcus aureus*)
- K2 : Kelompok perlakuan 2  
(pemberian 0,1 mL inokulum *Staphylococcus aureus* + ekstrak bawang putih)
- L : Jumlah leukosit pada kelompok kontrol negatif
- L1 : Jumlah leukosit pada kelompok perlakuan 1
- L2 : Jumlah leukosit pada kelompok perlakuan 2
- (24h) : Pemeriksaan leukosit dilakukan 24 jam setelah induksi sepsis
- (36h) : Pemeriksaan leukosit dilakukan 36 jam setelah induksi sepsis
- (48h) : Pemeriksaan leukosit dilakukan 48 jam setelah induksi sepsis

## I. Instrumentasi Penelitian

1. Alat Penelitian
  - a. Kandang hewan percobaan
  - b. Timbangan hewan
  - c. Sduit injeksi
  - d. Sonde
  - e. Pipet ukur
  - f. Labu takar
  - g. Timbangan
  - h. Hemositometer *improved neubauer*
  - i. Oshe
2. Bahan Penelitian
  - a. Mencit Balb/C 27 ekor
  - b. Ekstrak bawang putih
  - c. *Manitol Salt Agar* (MSA)
  - d. NaCl fisiologis
  - e. Makanan hewan uji
  - f. Koloni *Staphylococcus aureus*

## J. Jalannya Penelitian

1. Sebelum perlakuan
  - a. Hewan uji diadaptasi dengan kondisi laboratorium tempat penelitian dilakukan selama kurang lebih 1 minggu.
  - b. Hewan uji dikelompokkan secara acak menjadi 3 kelompok. Masing masing kelompok terdiri dari 9 ekor mencit.
2. Pemberian perlakuan

Sejak hari ke-1 sampai dengan hari ke-7.  
Kelompok K, K1, dan K2 diberi diet standar.  
Masing-masing kelompok diberi perlakuan yang berbeda.

**Pada hari ke – 1 hingga ke - 7**

  - a. Kelompok K : hanya diberi diet standar

- b. Kelompok K1 : hanya diberi diet standar
- c. Kelompok K2 :diberi diet standar + ekstrak bawang putih 4 mg dalam 0,2 ml aquadest per oral

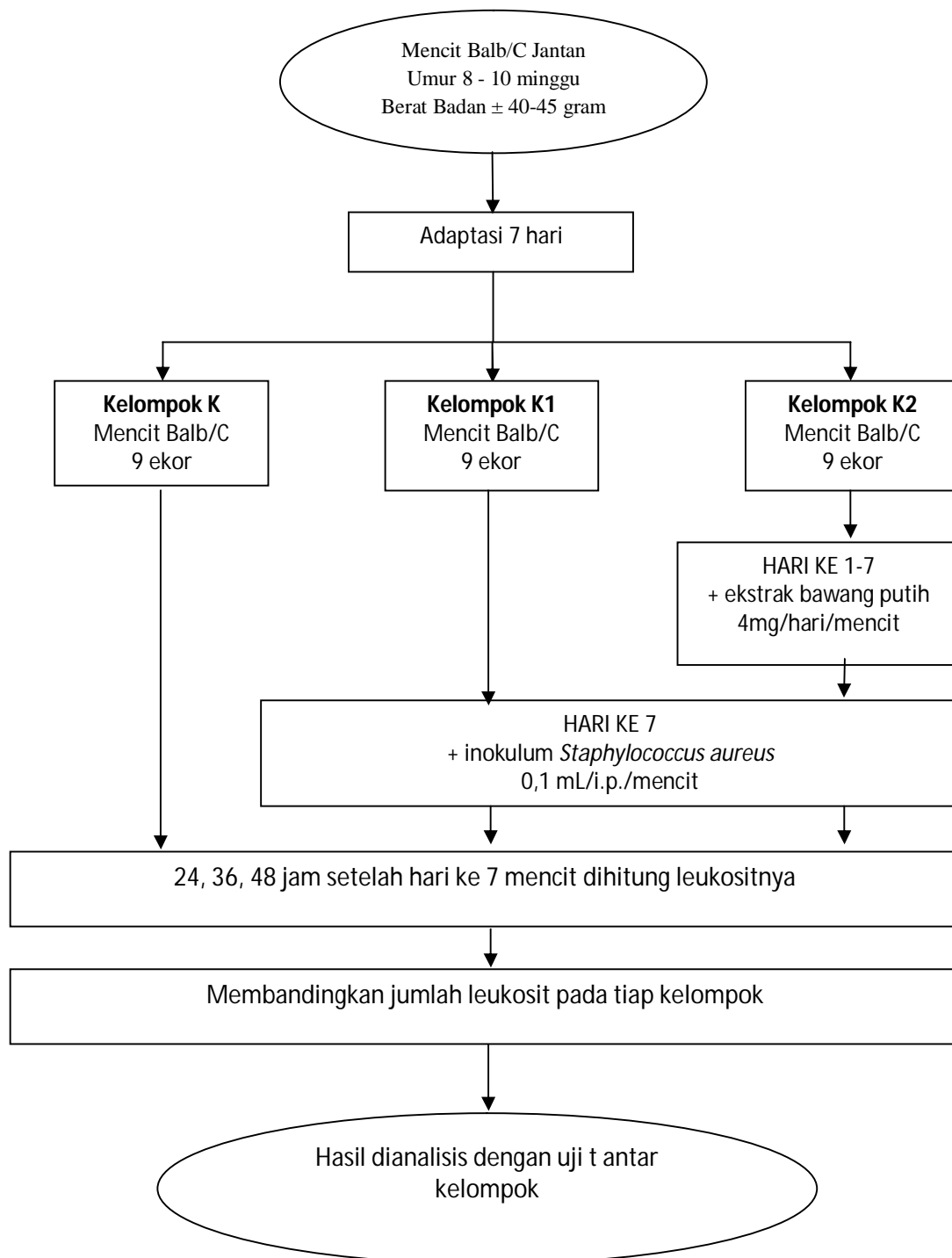
**Pada hari ke – 7**

- a. Kelompok K : hanya diberi diet standar
- b. Kelompok K1 : diberi diet standar + inokulum *Staphylococcus aureus* 0,1 ml *intraperitoneal*
- c. Kelompok K2 :diberi diet standar + ekstrak bawang putih 4 mg dalam 0,2 ml aquadest per oral + inokulum *Staphylococcus aureus* 0,1 ml *intraperitoneal*

**Pada hari ke – 8, 9, 10**

- a. Kelompok K : diambil darahnya 2 cc melalui periorbital
  - b. Kelompok K1 : diambil darahnya 2 cc melalui periorbital
  - c. Kelompok K2 : diambil darahnya 2 cc melalui periorbital
3. Setelah perlakuan

Darah mencit dimasukkan ke dalam tube yang telah ditambahi dengan EDTA sebagai antikoagulan. Kemudian diperiksa secara manual dengan menggunakan kamar hitung *improved neubauer*.



Gambar 4. Diagram Cara Kerja

## **K. Analisis Data**

Statistik yang digunakan adalah statistik parametrik inferensi dengan analisis univariat dan jenis data varian rasional. Analisis univariat yang digunakan adalah uji t-berpasangan.

### **1. Uji t**

Berfungsi untuk menguji hipotesis dengan varians yang tidak bebas. Data dalam penelitian ini adalah jumlah leukosit pada kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan 1 (K1), dan kelompok perlakuan 2 (K2). Dimana masing – masing kelompok dilakukan 3 kali pemeriksaan leukosit. Hasil yang diharapkan adalah adanya perbedaan signifikan deviasi jumlah leukosit antar kelompok selama 3 kali pengambilan leukosit.

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN

#### A. Data Hasil Penelitian

Setelah dilakukan penelitian mengenai pemberian ekstrak bawang putih untuk menurunkan jumlah leukosit pada mencit yang mengalami sepsis dengan paparan *Staphylococcus aureus* didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 4. Hasil Penghitungan Leukosit *post* 24, 36, 48 jam Induksi Sepsis

Kelompok	Jumlah Leukosit <i>post</i> 24 jam induksi sepsis (/μL)	Jumlah Leukosit <i>post</i> 36 jam induksi sepsis (/μL)	Jumlah Leukosit <i>post</i> 48 jam induksi sepsis (/μL)
	<i>5 Agustus 2009</i>	<i>6 Agustus 2009</i>	<i>7 Agustus 2009</i>
K	9350	7850	8350
	9700	9900	7600
	8400	6250	8150
	5150	2200	4100
	1650	6750	9100
	8100	7150	4900
	9400	8600	9800
	6200	7150	8900
	4650	6500	2600

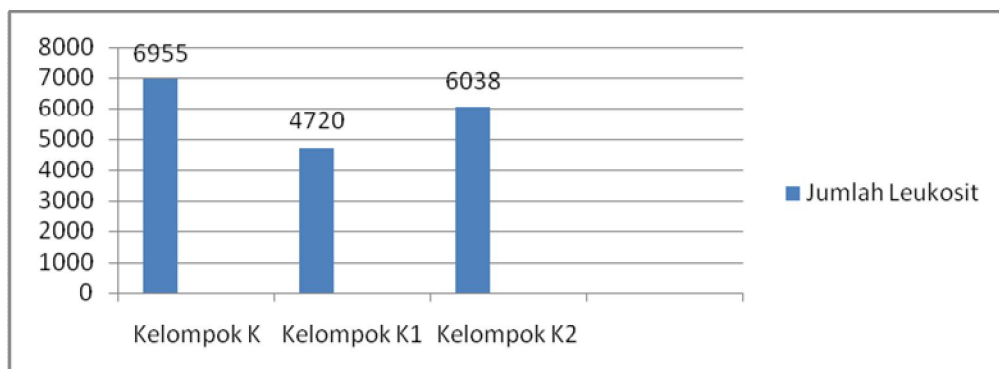
K1	4600	5750	5600
	3700	6100	3900
	5350	9700	8800
	3850	6300	5300
	5100	6900	4750
	5150	7500	6100
	6750	7000	3750
	3100	6450	3300
	4800	3600	-
K2	10500	8050	9400
	4700	7400	10100
	4800	6700	7250
	4900	6050	5100
	7800	6900	8500
	5950	4300	7400
	4500	7300	3200
	6250	8400	6300
	4950	7300	7400

Sumber : Data Primer, 2009

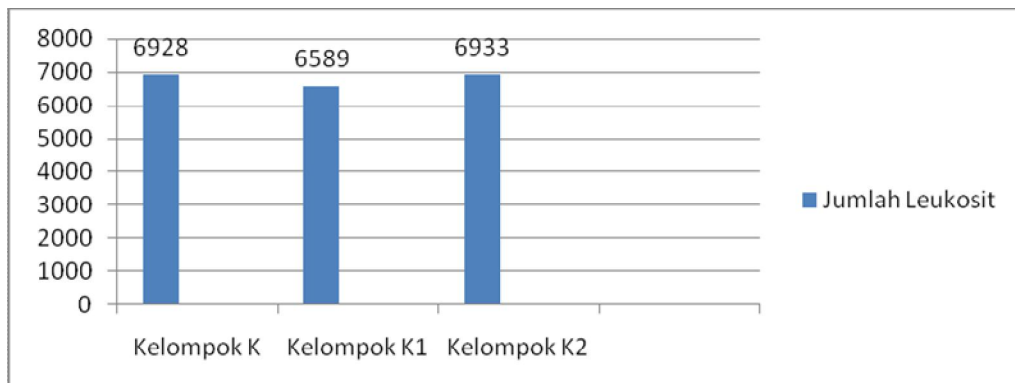
Tabel 5. Tabel Rata-Rata Jumlah Leukosit Tiap Kelompok *post* Induksi Sepsis yang Diambil dalam 3 Hari

<b>Kelompok</b>	<b>Hari I post perlakuan</b>	<b>Hari II post perlakuan</b>	<b>Hari III post perlakuan</b>
<b>K</b>	6955	6928	7056
<b>K1</b>	4720	6589	5188
<b>K2</b>	6038	6933	7183

Sumber : Data Primer, 2009

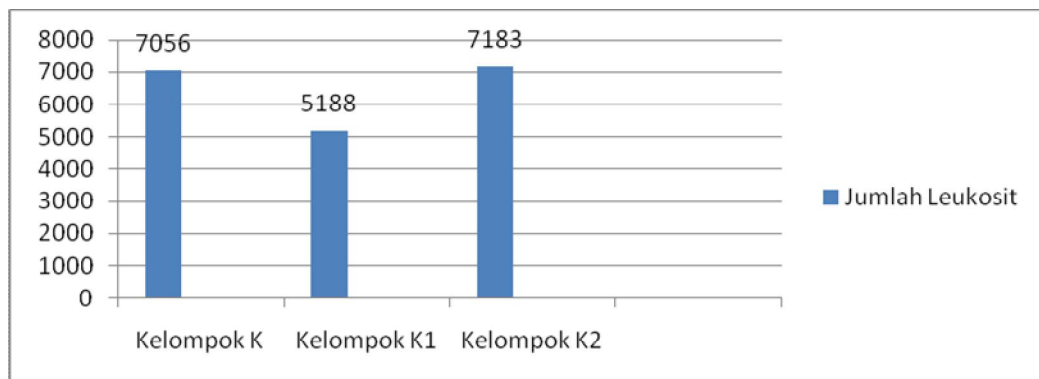


Gambar 5. Grafik Jumlah Leukosit antar Kelompok pada Hari I *post* perlakuan



Gambar 6. Grafik Jumlah Leukosit antar Kelompok pada Hari II *post* Perlakuan





Gambar 7. Grafik Jumlah Leukosit antar Kelompok pada Hari III *post* Perlakuan

Dari hasil penelitian pada kelompok kontrol (K), dimana subjek penelitian tidak diberikan intervensi apapun menunjukkan jumlah leukosit yang relatif normal yaitu dengan rerata 6955 pada hari pertama *post* injeksi *Staphylococcus aureus*, hari kedua 6928, dan hari ketiga 7056.

Kelompok perlakuan 1 (K1) dimana subjek diintervensi dengan *Staphylococcus aureus* terjadi leukopenia dengan rerata jumlah leukosit 4720 pada hari pertama setelah injeksi inokulum *Staphylococcus aureus* intraperitoneal. Kemudian pada hari kedua terjadi peningkatan drastis jumlah leukosit dengan rerata 6589. Hal ini menunjukkan bahwa pada hari ke-2 terjadi leukositosis dimana pada hari tersebut telah terjadi respon puncak reaksi inflamasi. Pada hari ke-3 rerata jumlah leukositnya 5188. Terjadi penurunan jumlah leukosit setelah respon reaksi inflamasi puncak terlewati. Pada kelompok ini, satu ekor subjek penelitian mati.

Kelompok perlakuan 2 (K2) dimana subjek yang diintervensi dengan *Staphylococcus aureus* telah diberikan ekstrak bawang putih 4mg/0,2ml selama 7 hari, penghitungan jumlah leukositnya pada hari pertama memiliki rerata 6038. Kemudian pada hari ke-2 meningkat hingga 6933. Pada hari ke-3 penghitungan jumlah leukosit memiliki rerata 7183.

Pada kelompok perlakuan 1 (K1) di hari pertama setelah injeksi *Staphylococcus aureus*, jumlah leukosit sangat rendah bila dibandingkan dengan kelompok kontrol (K). Pada hari ke-2, terjadi peningkatan jumlah

leukosit sebesar 39,5% dari hari pertama. Sementara pada kelompok kontrol, perubahan jumlah leukosit kurang dari 1%, yang dimungkinkan karena faktor-faktor pengganggu di luar penelitian seperti penghitungan leukosit yang kurang teliti karena menggunakan penghitungan manual, faktor psikis dari subjek penelitian, dll. Pada hari ke-3 jumlah leukosit pada kelompok kontrol mengalami deviasi (peningkatan) sekitar 1,8%, sementara pada kelompok perlakuan 1 (K1) terjadi deviasi (penurunan) sekitar 21,3% dimana respon puncak inflamasi telah terlewati dan jumlah leukosit hampir kembali pada keadaan basal.

Sementara itu antara kelompok kontrol (K) dengan kelompok perlakuan 2 (K2) tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Pada hari pertama setelah injeksi *Staphylococcus aureus* kelompok perlakuan 2 (K2) memiliki rerata jumlah leukosit yang lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol (K). Pada saat terjadinya respon puncak inflamasi, terjadi peningkatan rerata jumlah leukosit pada kelompok perlakuan 2 (K2) sekitar 12,9%. Sementara pada kelompok kontrol hanya terjadi deviasi jumlah leukosit kurang dari 1% seperti yang telah disebutkan di atas. Pada hari ke-3 terjadi deviasi (peningkatan) jumlah leukosit pada kelompok perlakuan 2 (K2) sekitar 3,5%, sementara kelompok kontrol hanya 1,8%.

Antara kelompok perlakuan 1 (K1) dan kelompok perlakuan 2 (K2) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Pada hari pertama setelah injeksi *Staphylococcus aureus* jumlah rerata leukosit pada kelompok perlakuan 1 lebih rendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan 2. Pada hari ke-2 terjadi deviasi rerata jumlah leukosit yang cukup besar pada kelompok perlakuan 1 (K1) seperti yang telah disebutkan diatas yaitu sekitar 39,5%, sementara pada kelompok perlakuan 2 (K2) terjadi deviasi (peningkatan) sebesar 12,9%. Pada hari ke-3 rerata jumlah leukosit kelompok perlakuan 1 (K1) menurun dengan deviasi sekitar 21,3%, sementara pada kelompok perlakuan 2 (K2) rerata jumlah leukosit mengalami kenaikan dengan deviasi sekitar 3,5%.

## B. Analisis Hasil

Analisis statistik terhadap data hasil penelitian di atas dilakukan dengan uji  $t$  ( $\alpha=0.05$ ) menggunakan program *SPSS for Windows Release 16*. Hasil analisis selengkapnya dapat dilihat pada lampiran. Adapun ringkasan hasil perhitungan dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil Analisis Uji T antar Kelompok

Kelompok yang dibandingkan	$\alpha=0.05$	Pvalue
K dengan K1	0.008	S
K dengan K2	0.65	NS
K1 dengan K2	0.02	S

Sumber : Data Primer, 2009

Keterangan :     S       = Signifikan  
                       NS       = Nonsignifikan

Ulasan singkat tabel 6.

1. K dengan K1

Ada perbedaan yang signifikan antara K dengan K1 dengan  $p < 0.05$ . Artinya kelompok ini secara statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna.

2. K dengan K2

Tidak ada perbedaan yang signifikan antara K dengan K2 dengan  $p < 0.05$ . Artinya kelompok ini secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna.

3. K1 dengan K2

Ada perbedaan yang signifikan antara K1 dengan K2 dengan  $p < 0.05$ . Artinya kelompok ini secara statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna.

## **BAB V**

### **PEMBAHASAN**

Bawang putih memiliki kandungan allicin yang dipercaya para ahli memiliki peran penting sebagai agen antimikroba. Allicin merupakan suatu molekul yang tidak stabil, sehingga tidak ditemukan di dalam darah maupun urin setelah dikonsumsi meskipun dalam jumlah banyak. Namun demikian selama dekade terakhir, para ahli beranggapan bahwa allicin-lah yang memiliki peran sebagai antimikroba pada bawang putih (Shivam, 2001; Tsao and Yin, 2001; Tsao

*et al.*, 2003; Tsao *et al.*, 2007). Turunan allicin yang memiliki efek antimikroba adalah *diallyl disulfides* (DADS) dan ajoene. Meski ada kandungan lain pada bawang putih yang lebih stabil di dalam tubuh seperti *S-allyl cystein* (SAC), namun bukti penelitian yang menunjukkan efek antimikroba belum ada.

Antigen yang berasal dari *Staphylococcus aureus* akan memicu terjadinya respon inflamasi yang melibatkan leukosit. Akan terjadi akumulasi leukosit pada sel-sel tubuh normal yang justru akan menyebabkan kerusakan sel bila infeksi berlanjut.

Pemberian ekstrak bawang putih diharapkan mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* sehingga leukosit yang teraktivasi bisa terkendali dan tidak terjadi akumulasi. Dengan demikian kerusakan sel maupun organ bisa dihindari.

Penghitungan deviasi leukosit pada kelompok perlakuan K2, yaitu kelompok perlakuan yang diintervensi dengan inokulum *Staphylococcus aureus* disertai dengan pemberian ekstrak bawang putih menunjukkan hasil positif yaitu tidak memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan ekstrak bawang putih pada konsentrasi 4 mg/0,2 ml mampu menghambat perkembangan *Staphylococcus aureus*. Implikasi teoritis penelitian ini sejalan dengan penelitian Shokrzadeh dan Ebadi (Shokrzadeh and Ebadi, 2006), ekstrak bawang putih dengan kadar 4 mg memiliki daya hambat 8 mm pada disk antimikroba. Semakin tinggi kadar ekstrak, semakin tinggi daya hambat tumbuh *Staphylococcus aureus*. Secara in-vitro ekstrak bawang putih terbukti mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (Tsao and Yin, 2001), (Barak *et al.*, 2007), (Naganawa *et al.*, 1996), (Sivam, 2001). Dari hasil penelitian yang dilakukan Sawitri (Sawitri, 2005), ekstrak bawang putih dengan kadar 4 mg mampu meningkatkan indeks fagositosis tubuh. Di lain pihak Shokrzadeh dan Ebadi mengemukakan bahwa daya hambat minimum ekstrak bawang putih terhadap *Staphylococcus aureus* adalah 6,2 mg per ml (Shokrzadeh and Ebadi, 2006). Dosis ekstrak bawang putih sebagai agen antimikroba masih perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui berapakah dosis optimum

maupun dosis toksik, serta untuk menguji reliabilitas penelitian – penelitian sebelumnya.

Kelompok K1, dimana kelompok perlakuan diintervensi dengan inokulum *Staphylococcus aureus* tanpa disertai pemberian ekstrak bawang putih, memiliki perbedaan deviasi leukosit yang signifikan bila dibandingkan dengan kedua kelompok lain. Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan penyebaran eksotoksin yang dihasilkan oleh bakteri tersebut tanpa adanya immunomodulator atau supresor antigen menyebabkan deviasi leukosit yang tinggi. Bahkan pada kelompok ini satu mencit mati akibat sepsis.

Pada hari pertama rerata jumlah leukosit pada kelompok perlakuan dengan intervensi inokulum *Staphylococcus aureus* lebih rendah bila dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada onset dini sepsis terjadi leukopenia sebagai mekanisme pertahanan tubuh seluler, leukosit terdeposisi di luar pembuluh darah secara diapedesis untuk mengeliminasi antigen dari mikroba. Pada hari kedua jumlah leukosit meningkat. Respon puncak dari reaksi inflamasi karena bakteri gram positif terjadi sekitar 50-75 jam atau antara 2-3 hari (Fournier and Philpott, 2005). Sitokin yang disekresikan oleh sel T akan menstimulasi proliferasi sel T yang spesifik untuk antigen, sehingga terjadi *clonal expansion* sehingga leukosit dalam sistem sirkulasi akan meningkat. Pada hari ketiga jumlah leukosit pada kelompok K1 menurun sementara pada kelompok K2 meningkat. Apabila antigen penyebab infeksi berhasil diatasi, maka stimulus yang memicu diferensiasi dan proliferasi juga akan berhenti. Klon sel T yang sudah terbentuk akan mati dan kembali ke keadaan basal, sehingga leukosit akan kembali normal bila infeksi telah berhasil tereliminasi (Klinikpediatri, 2009). Pada kelompok K1 menunjukkan respon inflamasi puncak telah terlewati dan jumlah leukosit hampir bisa dikatakan kembali kepada keadaan basal. Namun demikian, pada kelompok K2 terjadi peningkatan jumlah leukosit meskipun bisa dikatakan peningkatannya tidak begitu bermakna. Hal ini dimungkinkan karena adanya kesalahan di luar faktor – faktor perlakuan seperti penghitungan leukosit yang kurang teliti menggunakan metode penghitungan manual atau karena munculnya faktor stres pada mencit.

## **BAB VI**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak bawang putih dengan dosis 4mg mampu menurunkan jumlah leukosit dan menjaganya dalam kisaran stabil pada mencit yang telah diinduksi sepsis dengan menggunakan injeksi inokulum *Staphylococcus aureus* intraperitoneal.

## **B. Saran**

1. Perlu dilakukan penelitian efektivitas dosis ekstrak bawang putih untuk mengetahui kadar terapi optimum sebagai *adjuvant therapy* pada sepsis.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis toksik ekstrak bawang putih.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Anonim. 2008. Temulawak. (<http://task-list.blogspot.com/2008/04/bab-i-pondahuluan-1.html>, diakses tanggal 10 Januari 2010).
- Abdullah T.H., Kandil O., Elkadi A., Carter J. 1988. Garlic revisited : Therapeutic for the major disease of our times?. J Natl Med Assoc. 40:440.
- Aird W.A.C. 2003. The hematologic system as a marker of organ dysfunction in sepsis. Mayo Clin Proc. 78:869-81.
- Allison G.L., Lowe G.M., and Rahman K. 2006. Aged garlic extract and its constituents inhibit platelet aggregation through multiple mechanisms. J.



Nutr. 136: 782S–8S.

Amagase H. 2006. Clarifying the Real Bioactive Constituents of Garlic. *J. Nutr.* 136:716S-52S.

Amagase H., Petesch B.L., Matsuura H., et al. 2001. Intake of garlic and its bioactive components. *J. Nutr.* 131 : 955S-62S.

Ansel and Howard C., 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. UI Press. Jakarta. pp : 605-19.

Arul M.C., Markus H.L., Chandan K.S., et al. 2001. Molecular signatures of sepsis multiorgan gene expression profiles of systemic inflammation. *Am J Pathol.* October; 159(4): 1199–209.

Barak M., Ettehad G.H., Arab R., Derakhshani F., Habibzadeh S.H., Mohammadnia H., Dailami P., Daryani A., and Zarei M. 2007. Evaluation of garlic extract's (*Allium sativum*) effect on common pathogenic gram-positive and gram-negative bacteria isolated from children with septicemia hospitalized at Imam Khomeini hospital. *Res.J.Biol.Sci.*, 2(3):236-8.

Bellingan G. 1999. Inflammatory cell activation in sepsis. *British Medical Bulletin.* 55 (No.1):12-29.

Borek K. 2001. Antioxidant health effects of aged garlic extract. *J.Nutr.* 131:1010S-5S.

Borek K. 2006. Garlic reduces dementia and heart-disease risk. *J.Nutr.* 136:810S-2S.

Brown B.A. 1973. *Haemathology Principle and Procedures*. Lea and Febiger. Philadelphia. pp:57-63.

Edwin S.V.A., Theo J.C.V.B., and Johan K. 2003. Receptors, mediators, and mechanisms involved in bacterial sepsis and septic shock. *Clin Microbiol Rev.* July; 16(3): 379–414.

Elena GR., Alejo C., Gema R., and Mario D. 2006. Cortistatin, a new antiinflammatory peptide with therapeutic effect on lethal endotoxemia. *J Exp Med.* March; 203(3): 563–71.

- Fournier B. and Philpott D.J. 2005. Recognition of *Staphylococcus aureus* by the innate immune system. American society for microbiology doi:10.1128/CMR.18.3.521-40.
- Gjertsson I., et al. 2000. Are B lymphocytes of importance in severe *Staphylococcus aureus* infections?. *Infect and Immun*, p. 2431-4.
- Gordon J.R. and Lowy D.F. 2008. Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Clin Infect Dis*. 46(Suppl 5): S350–S9.
- Govan D. 2009. Garlic. <http://en.wikipedia.org/wiki/Garlic>. (29 Oktober 2009).
- Haden, W.D., et al. 2007. Mitochondrial biogenesis restores oxidative metabolism during *Staphylococcus aureus* sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* Vol 176. pp 768–77.
- James M.J., Naeem A.A., and Edward A. 2005. Year in review in Critical Care, 2004: sepsis and multi-organ failure. *Crit Care*. 9(4): 409–13.
- Javier C., José Y., David HE., et al. 2005. Role of lipopolysaccharide and cecal ligation and puncture on blood coagulation and inflammation in sensitive and resistant mice models. *Am J Pathol*. April; 166(4): 1089–98.
- Jürgen B., Edda K., Claudia DS., et al. 2006. Effects of dopexamine on the intestinal microvascular blood flow and leucocyte activation in a sepsis model in rats. *Crit Care*.10(4): R117.
- Kemper K.J. 2000. Garlic ( *Allium sativum* ). <http://www.mcp.edu/herbal/default.htm>. (29 Januari 2009).
- Klinikpediatri. 2009. Imunitas Selular. <http://childrenallergyclinic.wordpress.com/2009/05/16/imunitas-selular/>. (12 November 2009).
- Kristine M J., Sarah B.L., Anncatrine LP., et al. 2007. Common TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , PAI-1, uPA, CD14 and TLR4 polymorphisms are not associated with disease severity or outcome from Gram negative sepsis. *BMC Infect Dis*. 7: 108.

- Naganawa R., Iwata N., Fukuda H., et al. 1996. Inhibition of microbial growth by ajoene, a sulfur-containing compound derived from garlic. *Appl. Environ. Microbiol.* p:4238-42.
- Nakagawa N.K., Jukemura J., Aikawa P., Nogueira R.A., Poli-de-Figuerido L.F., Sannomiya P. 2007. In vivo observation of mesenteric leukocyte-endothelial interactions after cecal ligation/puncture and surgical sepsis source control. *Clinics* vol. 62 no. 3.
- Oscar C., Andrea G., Roberto G., et al. 2006. LL-37 protects rats against lethal sepsis caused by gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* May; 50(5): 1672–9.
- Pierre Y.B. and Thierry C. 2003. Pathogenesis of sepsis: new concepts and implications for future treatment. *BMJ* ;326:262–6.
- Rahaman S.O., Lennon S., Febbraio M., Podrez E., Hazen S., Silverstein R. 2006. A CD36-dependent signaling cascade is necessary for macrophage foam cell formation. *Cell Metab.* 2006 ; 4(3): 211–221.
- Remick D.G., Bolgos G., Copeland S., and Siddiqui J. 2005. Role of interleukin-6 in mortality from and physiologic response to sepsis. *BMJ*, doi:10.1128/IAI.73.5.2751–7.
- Robbins (ed). 2007. *Buku Ajar Patologi Edisi 7 vol 1*. New York: Elsevier Inc., pp: 40-45.
- Shokrzadeh M. and Ebadi A.G. 2006. Antibacterial effect of garlic (*Allium sativum* L.) on *Staphylococcus aureus*. *Pak.J.Biol.Sci.*,9(8):1577-9.
- Shivam G.P. 2001. Protection against *Helicobacter pylori* and other bacterial infections by garlic. *J Nutr.* 131:1106S-8S.
- Smith B.J. and Mangkoewidjojo S. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan, dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta : UI-Press.
- Tsao S.M. and Yin M.C. 2001. In-vitro antimicrobial activity of four diallyl sulphides occurring naturally in garlic and Chinese leek oils. *J. Med. Microbiol* : V01 50, p: 646-9.

- Tsao S.M., Hsu C.C., Yin M.C. 2003. Garlic extract and two diallyl sulphides inhibit methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in BALB/c A mice. *JAC*. 52:974-80.
- Tsao S.M., Liu W.H., Yin M.C. 2007. Two diallyl sulphides derived from garlic inhibit methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in diabetic mice. *Journl Med Micro*. 56:803-8.
- Voight R. 1994a. Ekstrak Air, Tingtur dan Ekstrak dalam Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. UGM Press. Yogyakarta. pp : 572.
- Voight R. 1994b. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. pp : 558-76.
- Warsa Usman Chatib. 1994. Kokus positif gram. In : Syahrurachman Agus, et al. (eds). *Mikrobiologi Kedokteran edisi revisi*. Jakarta: Binarupa Aksara, p: 103.
- Wikimedia. 2009. Standar Mc Farland. [http://www.en.wikipedia.org/wiki/McFarland\\_standard.htm](http://www.en.wikipedia.org/wiki/McFarland_standard.htm). (29 Januari 2009)
- Xiao H., Siddiqui J., and Ramick D.G. 2006. Mechanisms of mortality in early and late sepsis. *BMJ*, doi:p. 5227–35.
- Yeh Y.Y., Liu L. 2001. Cholesterol – lowering effect of garlic extracts and organosulfur compounds. *J. Nutr*. 131:989S-93S