

PENGARUH EKSTRAK TEH KOMBUCHA (*Medusomyces gisevii*) TERHADAP BERAT DAN HISTOPATOLOGIS LIMPA TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG DIINFEKSI *Escherichia coli*

Nurul Hidayah^{1*}, Indra Rahmawati¹, Jessica Amelia¹, Yos Adi Prakoso¹

¹ Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

*Email: nurulhidayah78@uwks.ac.id

Abstract

This study aimed to determine effect extracted from tea kombucha (*Medusomyces gisevii*) on the weight and histopathology of the wistar mouse's (*Rattus norvegicus*) spleen infected with *Escherichia coli*. The study used 24 male wistar mouse divide into 6 group and 4 repetitions. The mouse were given extract of kombucha tea for 28 days after 1 week of adaptability. The group consisted of positive control (K+), negative control (K-), 30% concentration (P1), 40% concentration (P2), 50% concentration (P3), 60% concentration (P4). Groups K+, P1, P2, P3, P4 were infected by *Escherichia coli* on 36th with a dose of 10⁶ CFU/ml as much as 1 ml intraperitoneally. Spleen organ harvesting was executed on the 40th. Data analysis used Analysis Of Variance (ANOVA) and Duncan's Multiple Range Test (DMRT). The result showed that there was no significant difference between treatments in spleen weight. Histopathological spleen showed a highly significant difference between treatments. The highest results was at a concentration of 60% (P4) with a white pulp diameter of 440,6 μ m, a germinal center diameter of 227,3 μ m and marginal zone width 171,6 μ m. The conclusion of the study, kombucha tea extract had an effect on spleen weight, white pulp diameter, germinal center and marginal zone width at dose of 60% and 40%.

Keywords: Extract of kombucha tea, Spleen weight, The diameter of white pulp, The diameter of germinal center, The margin zone.

PENDAHULUAN

Escherichia coli merupakan flora alami dalam usus mamalia. Bakteri ini dapat bersifat menguntungkan dan juga merugikan seperti menyebabkan diare. *Escherichia coli* yang awalnya bersifat non patogen memperoleh tambahan gen virulensi dari mikroorganisme lain melalui mekanisme perpindahan gen, perpindahan plasmid akan berubah menjadi bakteri patogen. Penyakit yang diakibatkan *Escherichia coli* patogen berbeda tergantung virulensi dan mekanisme patogenesisnya (Rahayu dkk., 2018). Faktor lain juga dapat mendukung patogenitas *Escherichia coli* seperti sistem imun pada hewan, umur hewan, lingkungan dan intensitas infeksi strain patogen (Dewandaru dkk., 2019).

Sistem kekebalan dapat ditingkatkan dengan pemberian imunomodulator. Imunomodulator dapat menekan dan merangsang aspek-aspek yang bekerja dalam kekebalan tubuh (Agnesa dkk., 2017). Bahan alami yang dijadikan sebagai imunomodulator

dalam penelitian ini adalah ekstrak teh kombucha. Teh kombucha mengandung bahan kimia berupa asam fenolat, polifenol, asam asetat dan flavonoid yang dapat menghambat kerja *Escherichia coli* patogen (Ivanisova et al., 2019).

Flavonoid yang terdapat di dalam ekstrak teh kombucha, dapat meningkatkan dan memperbaiki sistem kekebalan tubuh karena dapat meningkatkan aktivitas organ limfoid. Organ limfoid yang aktif ditandai dengan proliferasi limfosit (Rahmawati, 2015). Salah satu organ limfoid terbesar di dalam tubuh adalah limpa. Limpa merupakan organ limfoid sekunder yang responsif terhadap stimulasi antigen (Arfanda dkk., 2019). Parenkim limpa tersusun oleh pulpa putih dan pulpa merah. Pulpa putih menjadi tempat berkumpul dan berproliferasinya limfosit (Matheos dkk., 2013).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak teh kombucha (*Medusomyces gisevii*) terhadap berat dan histopatologis limpa tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinfeksi

Escherichia coli yang belum diketahui secara pasti, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menjawab pertanyaan tersebut.

MATERI DAN METODE

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pathology dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya, Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya dan Laboratorium Padia Surabaya. Penelitian dilakukan pada bulan Maret 2021.

Alat

Kandang tikus ukuran 900 cm² dengan alas berupa sekam kayu, sonde lambung, toples kaca, kain saring, *glove*, timbangan, alat bedah minor (*scalpel*, gunting bedah, pinset), *syringe*, spatula, *object glass*, mikroskop, *cover glass*, botol wadah ekstrak teh kombucha, inkubator, *shaker*, bunsen, korek api, cawan petri, pipet tetes, gelas ukur, *autoklaf*, jarum ose, *microtube*, *laminar air flow*, *timer*, kapas steril, gelas beker, batang pengaduk.

Bahan

24 ekor tikus wistar jantan umur 2-3 bulan dengan berat badan 250-300 gram, ekstrak teh kombucha 1 ml, ethanol, metanol 96%, alkohol konsentrasi bertingkat, giemsa, *Escherichia coli* sebanyak 1 ml dengan pengenceran 10⁶ *colony forming unit* (CFU)/1 ml, formalin 10%, pakan tikus berupa pelet 5g/100g BB, air minum 8-11ml/100g BB, organ limpa tikus wistar, parafin, *xylol*, *mcfarland*, hematoksilin eosin, *aquades*, perekat entellan, *zoletil*.

Metode penelitian

Jenis penelitian menggunakan percobaan eksperimental laboratorium, dengan menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL) yaitu, mengambil sample secara acak dan dilakukan pemberian tanda kemudian ditempatkan pada masing masing kelompok perlakuan. Sampel dibagi menjadi 6 perlakuan dan masing-masing kelompok diberi 4 ekor tikus wistar jantan. Perhitungan menggunakan rumus Federer, sebagai berikut :
sehingga, didapatkan banyak sampel pada tiap kelompok percobaan sebanyak 4 ekor tikus

putih. Total sampel utama yang digunakan sebanyak 24 ekor tikus wistar.

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(6-1)(n-1) \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 20/5$$

$$n \geq 4$$

Prosedur Penelitian

Mengadaptasi 24 ekor tikus wistar jantan yang berumur 2 hingga 3 bulan dikandangkan selama 7 hari dan diberi pelet 5 g/100g BB/hari dan air sekitar 8-11 ml/100g BB/hari agar berat badan dari hewan coba seimbang mencapai berat sekitar 250 - 300 gram.

Alat disterilkan terlebih dahulu pada suhu 150 °C selama 90 menit menggunakan oven. Selanjutnya lakukan pengkulturan kombucha dengan mendiamkan starter kombucha selama 14 hari dengan suhu ruang dalam media berupa larutan teh hitam yang sudah didinginkan dan dicampur dengan gula sebanyak 10%. Wadah ditutup dengan kain saring dan diikat dengan karet gelang. Starter kombucha SCOBY didapatkan dari pihak komersil (indokombucha) penginkulasian ini disesuaikan dengan Setiani (2014).

Teh hitam diperoleh dengan memasukan daun teh hitam sebanyak 8 gram ke dalam 500 ml air yang sudah di didihkan dan penambahan gula pasir sebanyak 50 gram dan lakukan penghomogenan. Ampas dipisahkan dengan menyaring larutan teh hitam manis. Starter kombucha sebanyak 50 ml dimasukan kedalam larutan teh hitam manis yang sudah disaring dan didinginkan. Wadah ditutup dengan kain saring dan diikat dengan karet gelang lalu simpan dalam suhu ruang selama 14 hari dan hindarkan dari sinar matahari langsung (Safitri, 2020).

Immunomodulator ekstrak teh kombucha diberikan pada hewan coba pada hari ke 8 dengan cara sonde lambung peroral selama 28 hari. Dosis konsentrasi bertingkat yaitu 30%, 40%, 50% dan 60%. Dosis disesuaikan dengan Effendi dkk (2014) yaitu didapatkan konsentrasi minim pada ekstrak teh kombucha yang berpengaruh pada *Escherichia coli*

sebesar 40% keatas, sedangkan dibawahnya masih terlihat adanya pertumbuhan dari bakteri *Escherichia coli*. Penelitian ini menguji apakah konsentrasi dibawah dan diatas nilai 40% dapat mempengaruhi berat dan gambaran histopatologis dari limpa tikus wistar jantan. Kultur murni *Escherichia coli* di dalam MHA miring pada media EMBA diswab, untuk diremajakan selama 3 hari.

Inokulasi dilakukan dengan menggunakan ose stereril, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Pembuatan suspensi bakteri sebanyak 80 ml dan disetarakan dengan larutan McFarland I dengan populasi $1,5 \times 10^6$ colony forming unit (CFU)/1 ml dan diencerkan 1000 x pipet 1 ml (Towoliu, 2013). Hewan coba diinjeksi pada hari ke 36 intra peritoneum (Agnesa, 2017). *Escherichia coli* diinjeksikan dengan dosis 10^6 cfu/ml sebanyak 1 ml karena menurut Arief dkk. (2010) EPEC atau *Escherichia coli entero pathogenik* dapat bersifat patogen pada dosis 10^5 cfu/ml hingga 10^{10} colony form unit (CFU)/ml.

Hal ini juga diperkuat oleh Effendi dkk (2014) bahwa akan terjadi gangguan pada tubuh seperti diare, kram pada perut, juga migrain jika bakteri *Escherichia coli* yang masuk sekitar 10^6 cfu/ml. Pemberian sebanyak 1 ml disesuaikan dengan jurnal pada penelitian Towoliu dkk (2013). Hari ketiga pasca infeksi dilakukan eutanasia dengan menggunakan ketamin pada hewan coba dan pengambilan organ limpa pada hewan coba yang sudah dieuthanasi yang sudah melalui uji etik. Masa inkubasi bakteri umumnya selama 48 jam (Kobayashi dkk., 2015).

Organ limpa yang sudah diambil dari hewan coba dicuci dengan larutan PBS, kemudian dilakukan penimbangan berat limpa ditiap kelompok perlakuan dan hasil dicatat untuk nantinya dibandingkan antara kelompok perlakuan yang satu dengan kelompok perlakuan yang lain. Berat limpa tikus umumnya berkisar 0,2% dari BB, berat organ limpa tikus jantan normal yaitu 0,72 sampai 1,10 gram (Anindya dkk., 2019).

Organ limpa yang sudah difiksasi di dalam larutan formalin 10% diambil dan dicelupkan ke dalam aquades. Organ dipotong 5 mm menggunakan microtom. Potongan limpa direndam dalam formalin 10% dan direndam pada larutan etanol secara berturut-turut dengan konsentrasi bertingkat yaitu konsentrasi 70%,

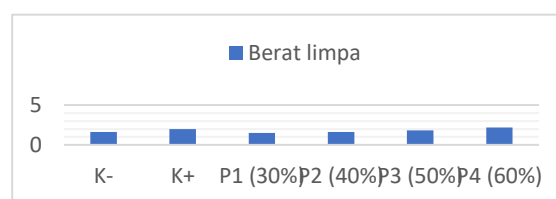
80%, dan 95%. Setiap tingkatan konsentrasi dilakukan selama 20 menit dan 2x perlakuan. Perendaman selama 20 menit juga dilakukan ke dalam larutan propanol dengan 3x perlakuan.

Penjernihan dilakukan sebanyak 2x dengan menggunakan *xylol* dan pemanasan selama 60 menit. Preparat potongan limpa dipindahkan ke dalam blok preparat parafin cair selama setengah jam dan dinginkan. Potong preparat yang sudah tercetak sebesar lima mikron dengan *microtom* kemudian panaskan dengan inkubator. Pengolesan kaca preparat dengan albumin atau perekat entellan dan letakan preparat diatasnya agar saling merekat. Preparat dicuci dengan air dan dicelupkan ke dalam pewarnaan hematoksin eosin. Preparat didiamkan pada suhu ruangan dan tutup dengan *object glass* (Raharjaningtyas, 2013).

Pengamatan pada gambaran histopatologis, dilakukan oleh Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya. Dilakukan dengan pengamatan pada diameter pulpa putih, diameter germinal center dan lebar zona marginalis dibawah mikroskop cahaya pada perbesaran 40X dan dilakukan pengambilan gambar dengan camera smartphone dan dikalibrasi dengan dukungan *Software image J*.

Data pengamatan berat dan histopatologis limpa pada tikus putih dianalisa dengan uji ANOVA (*Analysis Of Variance*) untuk mengetahui signifikan atau tidaknya nilai rata-rata kelompok sampel, kemudian dilanjutkan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range*) untuk mengetahui perbedaan diantara kelompok perlakuan. Data dianalisa dengan menggunakan SPSS (*Statistical Program For Social Science*) versi 15.

HASIL



Gambar 1. Diagram Berat Limpa

Tabel 1. Hasil fitokimia ekstrak teh kombucha dianalisa secara kuantitatif

Senyawa	Kandungan %
Flavonoid	3,74%
Polifenol	7,88%
Asam phenolat	3,91%
Asam asetat	3,85%

Berat Limpa

Hasil statistik ANOVA berat limpa F hitung < F tabel 0,05 sehingga dapat diartikan terdapat perbedaan yang tidak nyata (*non significant*) di antara perlakuan (Kusriningrum, 2019).

Tabel 2. Analysis Of Variance (ANOVA) berat limpa

Sumber Keragaman (S.K.)	Derajat Bebas (d.b.)	Jumlah Kuadrat (J.K.)	Kuadrat Tengah (K.T.)	F. Hitung	F. Tabel 0,05	F. Tabel 0,01
Perlakuan	5	1,446	0,289	0,918	2,77	4,25
Galat Percobaan	18	5,671	0,315			
Total	23	7,117				

Data hasil pengamatan dianalisa dengan menggunakan SPSS (*Statistical Program For Social Science*) metode *Duncan's Multiple Range Test* untuk melihat adanya pengaruh antar perlakuan.

Tabel 3. Duncan's Multiple Range Test (DMRT) berat limpa

Perlakuan	Mean ± SD
K-	1,6250 ^a ± 0,17711
K+	2,0250 ^a ± 0,36629
P1	1,5675 ^a ± 0,46133
P2	1,6425 ^a ± 0,59016
P3	1,8850 ^a ± 0,76909
P4	2,2475 ^a ± 0,75641

Keterangan : Perbedaan superskrip pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata.

Hasil analisa uji DMRT menunjukkan berat limpa pada setiap kelompok kontrol (K-, K+) dan perlakuan (P1, P2, P3, P4) tidak terdapat perbedaan yang terlihat pada notasi (a). Hipotesis pada berat limpa didapatkan H0 diterima dan H1 ditolak.

Tabel 4. Hasil rerata pemeriksaan histopatologis limpa

Perlakuan	Diameter pulpa putih (µm)	Diameter germinal center (µm)	Lebar Zona marginalis (µm)
K-	295,52	117,84	91,03
K+	378,61	179,30	96,65
P1(30%)	340,98	157,27	123,93
P2(40%)	423,83	200,84	145,48
P3(50%)	229,20	120,73	103,73
P4(60%)	440,66	227,29	171,63

Diameter pulpa putih

Tabel 5. Analysis Of Variance (ANOVA) diameter pulpa putih

Sumber Keragaman (S.K.)	Derajat Bebas (d.b.)	Jumlah Kuadrat (J.K.)	Kuadrat Tengah (K.T.)	F. Hitung	F. Tabel 0,05	F. Tabel 0,01
Perlakuan	5	128480,741	25696,148	24,176*	2,75	4,27
Galat Percobaan	18	19132,175	1062,899			
Total	23	147612,916				

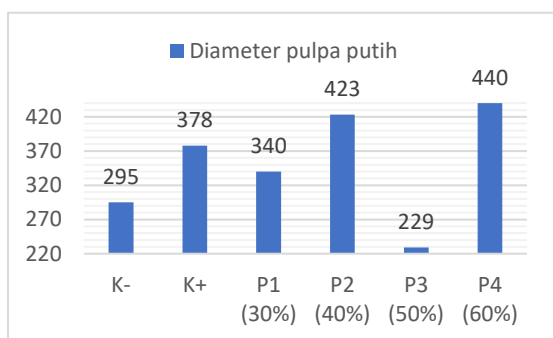
Hasil statistik ANOVA diameter pulpa putih, F hitung > F tabel 0,01 yang menandakan terdapat perbedaan sangat nyata (*highly significant*) diantara perlakuan. H0 ditolak dan H1 diterima, kemudian dilanjutkan uji DMRT untuk mengetahui perlakuan mana yang memberikan pengaruh tertinggi dan terendah.

Tabel 6. Duncan's Multiple Range Test (DMRT) diameter pulpa putih

Perlakuan	Mean ± SD
K-	295,52 ^b ± 47,75985
K+	378,61 ^{cd} ± 28,02645
P1	340,98 ^{bc} ± 22,78324
P2	423,83 ^{de} ± 47,74712
P3	229,19 ^a ± 11,20549
P4	440,66 ^e ± 19,65909

Hasil analisa uji DMRT menunjukkan diameter pulpa putih terbesar ditunjukkan pada

kelompok P4 dengan notasi (e), dan dilanjutkan P2 sebagai notasi tertinggi kedua (de). Diameter pulpa putih terkecil pada kelompok P3 dengan notasi (a), dan dilanjutkan dengan notasi (b) pada perlakuan kontrol sehat yang tidak berbeda nyata dengan kelompok P1 dengan notasi (bc). Kelompok P4 (ekstrak teh kombucha 60%) dan P2 (ekstrak teh kombucha 40%) memberikan pengaruh tertinggi pada diameter pulpa putih.



Gambar 2. Diagram batang rerata diameter pulpa putih

Germinal center

Tabel 7. Analysis Of Variance (ANOVA) diameter germinal center

Sumber	Derajat	Jumlah	Kuadrat	F. Hitung	F. Tabel
(S.K.)	(d.b.)	(J.K.)	(K.T.)		
Perlakuan	5	3833	7666	23,102**	2,77
Galat Percobaan	18	5973,354	331,853		0,25
Total	23	4430	6,102		

Keterangan : Perbedaan superskrip pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata.

Hasil statistik ANOVA diameter germinal center, F hitung > F tabel 0,01 yang menandakan terdapat perbedaan **sangat nyata (highly significant)** diantara perlakuan. H₀ ditolak dan H₁ diterima, kemudian dilanjutkan uji DMRT untuk mengetahui perlakuan mana

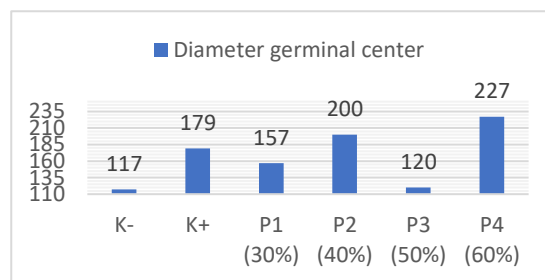
yang memberikan pengaruh tertinggi dan terendah.

Tabel 8. Duncan's Multiple Range Test (DMRT) diameter germinal center

Perlakuan	Mean ± SD
K-	117,84 ^a ± 6,24097
K+	179,29 ^{bc} ± 9,72786
P1	157,27 ^b ± 25,41666
P2	200,84 ^{cd} ± 32,66073
P3	120,74 ^a ± 8,85664
P4	227,30 ^d ± 8,14663

Keterangan : Perbedaan superskrip pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata

Hasil analisa uji DMRT menunjukkan diameter germinal center terbesar pada kelompok P4 dengan notasi (d), yang tidak berbeda nyata dengan P2 dengan notasi (cd). Diameter germinal center terkecil pada kelompok kontrol dan P3 dengan notasi (a). Kelompok P4 (ekstrak teh kombucha 60%) dan P2 (ekstrak teh kombucha 40%) memberikan pengaruh tertinggi pada diameter germinal



center.

Gambar 3. Diagram batang rerata diameter germinal center

Lebar zona marginalis

Tabel 9. Analysis Of Variance (ANOVA) lebar zona marginalis

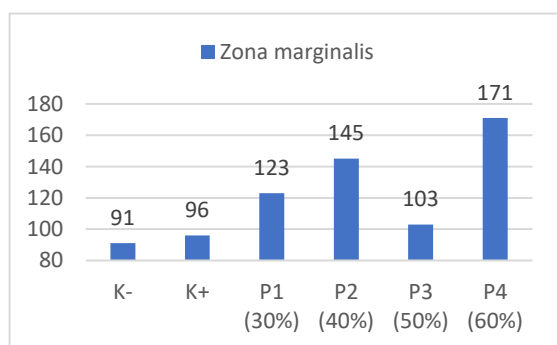
Sumber	Derajat	Jumlah	Kuadrat	F. Hitung	F. Tabel
(S.K.)	(d.b.)	(J.K.)	(K.T.)		
Perlakuan	5	19810	3962,276	18,109**	2,77
Galat Percobaan	18	3938,143	218,786		0,25
Total	23	23748	,420		

Hasil statistik ANOVA lebar zona marginalis, F hitung > F tabel 0,01 yang menandakan terdapat perbedaan **sangat nyata** (*highly significant*) diantara perlakuan. H0 ditolak dan H1 diterima, kemudian dilanjutkan uji DMRT untuk mengetahui perlakuan mana yang memberikan pengaruh tertinggi dan terendah.

Tabel 10 Duncan's Multiple Range Test (DMRT) lebar zona marginalis

Sumber	Derajat	Jumlah	Kuadrat	F. Hitung	F. Tabel
Keragaman (S.K.)	Bebas (d.b.)	Kuadrat (J.K.)	Tengah (K.T.)		0,05
Perlakuan	5	1981	3962	18,109**	2,77
Galat Percobaan	18	3938,143	218,786		4,25
Total	23	2374	8,420		

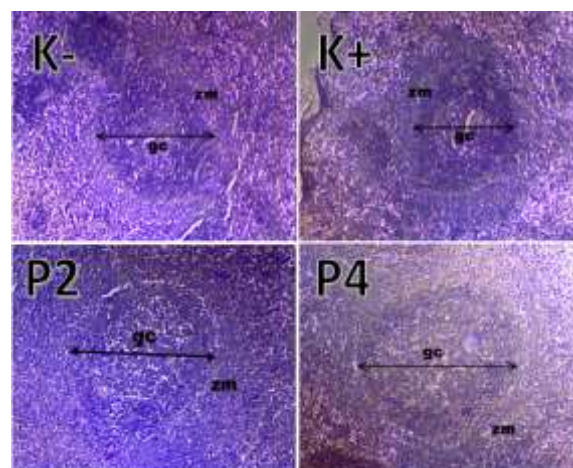
Hasil analisa uji DMRT menunjukkan lebar zona marginalis terbesar pada kelompok P4 dengan notasi (d), kemudian P2 dengan notasi tertinggi kedua (c). Lebar zona marginalis terkecil ditunjukkan pada kelompok kontrol dengan notasi (a), yang tidak berbeda nyata dengan P3 (ab). Kelompok P4 dan P2 memberikan pengaruh tertinggi pada lebar zona marginalis.



Gambar 4. Diagram batang rerata lebar zona marginalis

Gambaran Histopatologis Limpa

Gambaran histopatologis limpa tikus wistar yang diberi ekstrak teh kombucha dan diinfeksi *Escherichia coli* menggunakan



pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) pada kelompok kontrol dan perlakuan

Gambar 5. Histologi limpa K- (kontrol normal), K+ (kontrol positif), P2 (ekstrak teh kombucha 40%), P4(ekstrak teh kombucha 60%). Keterangan: germinal center (gc), zona marginal (zm), pulpa putih (↔) pembesaran 40x.

PEMBAHASAN

Hasil analisa data berat limpa tikus Sig 0.492 artinya $p > 0,05$. Perlakuan ekstrak teh kombucha pada berbagai dosis tidak berpengaruh, namun berat limpa mengalami peningkatan pada perlakuan teh kombucha 60% dibandingkan kontrol. Berat limpa tertinggi diperoleh pada P4 (ekstrak teh kombucha 60%) yaitu 2,2475. Hal ini menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan berat limpa pada perlakuan teh kombucha dosis tinggi.

Berat limpa yang meningkat menunjukkan adanya stimulasi dari imunostimulan terhadap pulpa putih limpa (Rousdy dkk., 2018). Hal ini sesuai dengan penelitian Hidayanti dkk (2014) yang menyatakan, peningkatan berat limpa dikarenakan peningkatan jumlah sel limfosit pada perlakuan teh kombucha dosis tinggi. Sofiakmi dkk (2014) juga menyatakan Imunostimulan teh kombucha dapat meningkatkan IgM dan berat limpa.

Data berat limpa yang berbeda juga dapat dipengaruhi oleh berat badan tikus wistar. Berat limpa yang meningkat dipengaruhi oleh kandungan flavonoid dalam ekstrak teh kombucha, kandungan flavonoid pada penelitian ini sebesar 3,74. Khairinal (2012) juga menggunakan ekstrak herbal lain yang mengandung flavonoid dapat meningkatkan Ig E dan berat limpa.

Hasil analisa statistik pada histopatologis limpa tikus Sig 0.000 artinya $p < 0.05$, sehingga ekstrak teh kombucha berpengaruh terhadap histopatologis limpa. Hasil diameter pulpa putih pada tabel 4.6 menunjukkan diameter pulpa putih terbesar pada kelompok P4 (ekstrak teh kombucha 60%) yaitu 440,66 μm , dan dilanjutkan P2 (ekstrak teh kombucha 40%) yaitu 423,83 μm .

Pulpa putih yang meningkat, dikarenakan adanya senyawa flavonoid yang didalamnya terdapat kandungan EGCG (*quercetin* dan *epigallocatechin 3-gallate*) yang dapat meningkatkan sistem imun melalui mekanisme peningkatan IL-6 dan IL-10, sehingga mempengaruhi aktivasi sel T dan sel B untuk berproliferasi (Sofiakmi dkk., 2014). Hal ini juga didukung oleh Talmale *et al* (2014) yang mengatakan bahwa flavonoid sebagai imunomodulator dapat meningkatkan indeks proliferasi limfosit dan splenosit sehingga dapat meningkatkan diameter pulpa putih yang didalamnya tersusun atas limfosit. Studi lain juga menjelaskan ekstrak herbal yang mengandung flavonoid dapat meningkatkan sel imun pada limpa (Karasawa *et al.*, 2011).

Pulpa putih atau pulpa alba merupakan bagian dari limpa yang berfungsi sebagai sistem kekebalan tubuh untuk melawan infeksi, sedangkan pada pulpa merah berfungsi membuang bahan di dalam darah yang sudah tidak diperlukan (Filbert dkk., 2011). Peningkatan diameter pulpa putih menandakan adanya peningkatan aktivitas sistem imun. Reaksi inflamasi yang disebabkan oleh masuknya agen penyakit akan menyebabkan migrasi dan berkumpulnya limfosit pada limpa, sehingga mempengaruhi ukuran diameter pulpa putih (Tasminatun *et al.*, 2017).

Diameter germinal center yang meningkat, menunjukkan adanya peningkatan aktivitas sistem imun. Hal ini dikarenakan adanya senyawa flavonoid pada ekstrak teh kombucha. Flavonoid dapat meningkatkan proliferasi limfosit B dan imunoglobulin G (IgG) sehingga meningkatkan diameter germinal center (Febrinda, 2013). Flavonol akan meningkatkan interleukin-2 (IL-2) yang terlibat pada aktivasi dan proliferasi sel T (Dewi *et al.*, 2013).

Interleukin-2 (IL-2) menginduksi T *helper*, kemudian mengalami proliferasi dan diferensiasi menjadi T *helper* 1 (Th1) dan T *helper* 2 (Th2). *Antigen Presenting Cell* (APC)

mensekresi interleukin-1 (IL-1), kemudian interleukin-1 (IL-1) menginduksi T *helper* 1 (Th-1) untuk mensekresi interferon γ dan interleukin 2 (IL-2). Sitokin kemudian mengaktivasi T *helper* 2 (Th-2) untuk mensekresi interleukin 4 (IL-4), interleukin 5 (IL-5), IL6, dan IL10 yang mengaktivasi limfosit B untuk berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel plasma, sehingga mengakibatkan peningkatan pada diameter germinal center (Carmelita, 2016). Hal ini juga didukung oleh Sulistyana (2015) yang mengatakan bahwa peningkatan diameter germinal center dikarenakan proliferasi limfosit B.

Germinal center merupakan tempat sel-sel limfosit berkumpul dan berproliferasi saat sistem imunitas bekerja (Tasminatun *et al.*, 2017). Germinal center juga merupakan pusat pendewasaan sel limfosit (Matheos *et al.*, 2013). Hal tersebut dapat mempengaruhi ukuran. Menurut Rousdy dkk (2018) besarnya pulpa putih, germinal center, dan zona marginalis menandakan seberapa kuat imunostimulan berkerja. Germinal center tidak dijumpai pada semua pulpa putih. Germinal center akan muncul dan membesar, jika terjadi proses imunostimulasi pada sistem imun (Rousdy dkk., 2018).

Lebar zona marginal yang meningkat dikarenakan kandungan flavonoid pada ekstrak teh kombucha. Hal ini didukung oleh Rousdy dkk (2018) yang mengatakan bahwa peningkatan dari limfosit B menyebabkan lebar zona marginalis ikut meningkat. Kandungan flavonol di dalam flavonoid dapat memacu peningkatan IL2 sehingga meningkatkan proliferasi limfosit B (Parlinaningrum dkk., 2014).

Hasil penelitian menunjukkan lebar zona marginalis terbesar pada kelompok P4 (171 μm) dan P2 (145 μm) menempati posisi terbesar kedua dibandingkan kontrol. Hal ini didukung penelitian Nurhastuti dkk (2020) yang menyatakan bahwa pemberian ekstrak teh kombucha dosis 40 % dan 60% dapat meringankan kerusakan jaringan yang ditimbulkan oleh agen penyakit.

Zona marginalis berfungsi sebagai penyaring patogen dan antigen dalam sirkulasi sistemik dan berperan penting melawan antigen (Filbert dkk., 2011). Antigen yang disaring masuk ke pulpa putih dan sampai di zona

marginal, makrofag, dan sel dendritik akan mempresentasikan antigen ke limfosit B dan limfosit T untuk memulai respon (Hoffbrand *et al.*, 2015).

KESIMPULAN

Penulis menarik kesimpulan dari hasil dan pembahasan diatas berupa, ekstrak teh kombucha pada dosis 60% berpengaruh terhadap berat limpa dan gambaran histopatologis limpa tikus Wistar yang diinfeksi *Escherichia coli*.

REFERENSI

- Agnesa, O. S., Herawati, S., Sri. R. L., 2017. *Aktivitas Imunostimulan Ekstrak Bawang Putih Tunggal pada Mencit yang Diinduksi Escherichia coli*. J. Pharmacia. 7(1): 105-112.
- Anindya, A., Kuncoro, P. S., Fedik, A. R., Kadek, R., Chairul, A. N., Thomas, V. W., Hani, P., 2019. *Pengujian Vaksin Hepatitis B Fase Subkronis Terhadap Berat Organ Dan Diameter Pulpa Putih Limpa Tikus Putih (Rattus norvegicus)*. J. B. M. V. 8(2): 86-91.
- Arfanda, A. I., Edjeng, S., Isroli. 2019. *Pengaruh Frekuensi dan Periode Pemberian Pakan Terhadap Bobot Relatif Organ Limfoid Ayam Buras Super*. J. Sain Peternakan Indonesia. 14(3): 306-311.
- Arief, I. I., B, Sri. L. J., M, Astawan., A, B. Witarto., 2010. *Efektivitas Probiotik Lactobacillus plantarum 2C12 dan Lactobacillus acidophilus 2B4 sebagai Pencegah Diare pada Tikus Percobaan*. J. Media Peternakan: 137-143.
- Carmelita, A. B. 2016. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak (Eleutherine palmifolia L Merr) Secara Oral Pada Mencit Balb/c Terhadap Pencegahan Penurunan Diameter Germinal Center Pada Kelenjar Getah Bening Serta kadar IgG Serum*. J. Biosains Pascasarjana. 18(1): 1-12.
- Dewandaru, R. A., Soedarmanto, I., Yanuartono, A. N., Hary, P., Rusmi, H., 2019. *Diare Disebabkan Infeksi Escherichia coli Pada Anjing*. J. Ilmu Peternakan dan Veteriner Tropis. 9(2): 38-43.
- Dewi, L. K., Widyarti, S., Rifai, M., 2013. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirsak (Annona muricata Linn) terhadap peningkatan Jumlah Sel T CD 4+ dan CD8+ pada Timus Mencit (Mus Musculus)*. J. Biologi. 1(1): 24-26.
- Effendi, F., Anna, P. R., Ernie, S., 2014. *Uji Aktivitas Antibakteri Teh Kombucha Probiotik terhadap Bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus*. J. Fitofarmaka. 4(2): 34-41.
- Febrinda, A. E., Astawan, M. Wresdiyati, T., Yuliana, N. D., 2013. *Kapasitas Antioksidan dan Inhibitor Alpha Glukosidase Ekstrak Umbi Bawang Dayak*. J. Teknologi dan Industri Pangan. 24(2): 161-7.
- Filbert, I., Jeanny, E. L., Sylvia, S., 2011. *Histopatologis Limpa Mencit Galur Swiss Webster Jantan Pasca Pemerian Minyak Buah Merah (Pandanus conoideus lam)*. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Kristen Maranatha.
- Hidayanti, M. D., Sussi, A., Maria, E. K., 2014. *Pengaruh Pemberian Kombucha Teh Rosella Terhadap Profil Darah Mencit (Mus musculus L)*. J. Agritech. 34(4): 382-389.
- Hoffbrand, A. V., Paul, A. H. M. 2015. *Hoffbrand's Essential Haematology 7th*. Wiley Blackwell. United Kingdom: 117.
- Ivanisova, E. I., K. M. Enhartova., M. Tenrentjeva., L. Godocikova., J. Arvay and M. Kacaniova., 2019. *Kombucha Tea Beverage: Microbiological Characteristic, Antioxidant Activity, and Phytochemical Composition*. J. Acta Alimentaria. 48 (3): 324-331.
- Karasawa, K., Uzuhashi, Y., Hirota, M., Otani, H., 2011. *A Matures Fruit Extract Of Date Palm Tree (Phoenix dactylifera L) Stimulates The Cellular Immune System In Mice*. J. Agric Food Chem. 59(20): 11287-93.
- Khairinal. 2012. *Efek Kurkumin Terhadap Proliferasi Sel Limfosit Dari Limpa Mencit C3H Bertumor Payudara Secara In Vitro*. [Tesis]. Fakultas

- Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Program Pascasarjana Departemen Kimia. Universitas Indonesia.
- Kobayashi, S. D., Natalia, M., dan DeLeo, F. R., 2015. *Phatogenesis of Staphylococcus aureus Abscesses*. J. American Pathology. 185(6).
- Kusriningrum. 2019. *Buku Ajar Rancangan Percobaan*. Dani Abadi. Surabaya: 31-51.
- Matheos, C., Lintong, P., Kairupan, C., 2013. *Gambaran Histologik Jaringan Limpa Tikus Putih (Rattus norvegicus) Yang Diinfeksi Escherichia coli dan Diberi*
- Nurhastuti, Y., Nurul, H., Olan, R. P. A.N., Arief, M. 2020. *Potensi Ekstrak Teh Kombucha (Medusomyces gisevii) Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) Yang Diinduksi Escherichia coli Dilihat Dari Berat Badan Dan Histopatologi Duodenum*. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Wijaya Kusuma Surabaya.
- Parlinaningrum, D., Sri, W., Muhaimin, R., 2014. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Annona muricata Linn Terhadap Peningkatan Jumlah B220 Pada Mus musculus*. J. Biotropika. 2(5): 269-272.
- Raharjaningtyas, E. R. P. 2013. *Pengaruh Pemberian Infusa Daun Sirsak (Annona muricata L) Secara Subkronis Terhadap Gambaran Histopatologis Lambun dan Usus Tikus Putih*. [Skripsi]. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
- Rahayu, W. P., Siti, N., Ema, K., 2018. *Escherichia coli : Patogenitas, Analisis Dan Kajian Risiko*. IPB Press. Bogor: 5, 23-24.
- Rochmawati, D. W. 2015. *Efek Pemberian Infusum Meniran (Phyllanthusniruri, Linn) terhadap Diameter Pulpa Putih Limpa Ikan Gurami (Osphronemusgouramy) yang Diinfeksi Vibrio Anguillarum*. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Rousdy, D. W., Elvi, R.P.W., 2018. *Histologi Limpa Dan Hematologi Mencit Yang Diinfeksi Escherichia coli Setelah Pemberian Asam Humat Gambut Kalimantan*. J. Bioteknologi & Biosains Indonesia. 5(2): 168-176.
- Safitri, W. N. dan Irdawati. 2020. *Antibacterial Activities Of Kombucha Tea From Some Types Of Variations Of Tea On Escherichia Coli And Staphylococcus Aureus*. Faculty of Mathematics and Natural Science. Universitas Negri Padang.
- Sulistiyana, M. I. 2015. *Pemanfaatan Polisakarida Krestin Dari Coriolus Versicolor Sebagai Imunomodulator Pada Mus Musculus Yang Terpapar Mycobacterium Tuberculosis Berdasarkan Indikator Konsentrasi IL-4 dan Histologi Limpa*. [Skripsi]. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Airlangga.
- Sofiakmi, R. L. Q., Maria, U., Ediati, S. 2014. *Uji Aktivitas Imunomodulator Fermentasi Teh Hitam Jamur Kombucha Terhadap Proliferasi Sel Limfosit Mencit Galur Balb / C Secara In Vitro*. J. Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik. 3(5): 130-138.
- Talmale, S., Bhujade, A., Patil, M., 2014. *Immunostimulatory Activity Of Flavonoids Isolated From Stem Bark Of Zizyphus mauritiana*. J. Innov Res Sci Engineering Technology. 3(7): 14285-96.
- Tasminatun, S., Pravitasari, R., Makiyah, N., 2017. *Potential Ethanol Of Carica Papaya L. Extract As Immunomodulatory Through Histology Observation At Mice Balb/C Spleen*. J. Berkala Kedokteran. 13(2): 205-210.
- Towoliu, S., Poppy, L., Carla, K., 2013. *Pengaruh Pemberian Lactobacillus terhadap Gambaran Mikroskopis Mukosa Usus Halus Tikus Wistar (Rattus norvegicus) yang Diinfeksi dengan Escherichia coli*. J. e-Biomedik. 1(2): 930-934.