

**Aktivitas Nanokitosan Ekstrak Pasak Bumi (*Erycoma Longifolia*
Jack) sebagai Imunomodulator terhadap Infeksi *Salmonella typhi*
(Studi Aktivitas Fagositosis Makrofag pada Hewan Uji Secara Invivo)**



TESIS

Untuk Memenuhi Persyaratan Mencapai Derajat
Sarjana S-2 Magister Epidemiologi

**TRISNA WIDYANTI
NIM. 30000219420012**

**PROGRAM STUDI MAGISTER EPIDEMIOLOGI
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2023**

**Aktivitas Nanokitosan Ekstrak Pasak Bumi (*Erycoma Longifolia*
Jack) sebagai Imunomodulator terhadap Infeksi *Salmonella typhi*
(Studi Aktivitas Fagositosis Makrofag pada Hewan Uji Secara Invivo)**



TESIS

**Untuk Memenuhi Persyaratan Mencapai Derajat
Sarjana S-2 Magister Epidemiologi**

**TRISNA WIDYANTI
NIM. 30000219420012**

**PROGRAM STUDI MAGISTER EPIDEMIOLOGI
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2023**

HALAMAN PENGESAHAN

TESIS

Aktivitas Nanokitosan Ekstrak Pasak Bumi (*Erycoma Longifolia*
Jack) sebagai Imunomodulator terhadap Infeksi *Salmonella typhi*
(Studi Aktivitas Fagositosis Makrofag pada Hewan Uji Secara Invivo)

Oleh:

TRISNA WIDYANTI

NIM. 30000219420012

Telah diujikan dan dinyatakan lulus ujian tesis pada tanggal 21 bulan Maret

Tahun 2023 oleh tim penguji Program Studi Magister Epidemiologi

Sekolah Pascasarjana Universitas Diponegoro

Semarang, 21 Maret 2023

Mengetahui,

Penguji 2,

Penguji 1,

Dr. dr. Andrew Johan, M. Si

NIP 195804091987031002

Dr. dr. Raden Ajeng Kisdjamiatun

Retna Mustika Djati, M.Sc

NIP 196401301990032001

Pembimbing 1,

Dr. drh. Dwi Sutiningsih, M.Kes

NIP 197203081998022001

Pembimbing 2,

Dr. Drs. Mochamad Hadi, M.Si

NIP 196001081987031002

Sekolah Pascasarjana

Ketua Program Studi
Magister Epidemiologi

Dr. R. B. Salarito, S.H., M.Hum

NIP 196701011991031005

Dr. drh. Dwi Sutiningsih, M.Kes

NIP 197203081998022001

DEKLARASI ORISINALITAS

Yang bertanda tangan ini :

Nama : Trisna Widyanti

NIM : 30000219420012

Dengan ini menyatakan bahwa :

- a. Karya tulis saya, tesis ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (Magister), baik di Universitas Diponegoro maupun di perguruan tinggi lain.
- b. Karya tulis ini adalah murni gagasan, rumusan dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan orang lain, kecuali Tim Pembimbing dan Para Teknisi Laboratorium.
- c. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan judul buku aslinya serta dicantumkan dalam daftar pustaka.
- d. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidak benaran dalam pernyataan ini maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah saya peroleh, dan sanksi lain sesuai dengan norma yang berlaku di Universitas Diponegoro Semarang.

Semarang,



Trisna Widyanti

HALAMAN PERSEMBAHAN

Puji syukur saya panjatkan pada Allah SWT atas terselesaikannya Tesis ini dengan baik dan lancar. Dengan ini akan saya persembahkan Tesis ini kepada kedua orang tua Bapak Tajirin dan Ibu Rubinah yang selalu memberikan ketenangan, kenyamanan, motivasi, doa terbaik dan menyisihkan finansialnya, sehingga bisa terselesaikannya studi ini.

Kalian sangat berarti.

Orang tua kedua dikampus selaku pembimbing tugas akhir Ibu Dr. drh. Dwi Sutiningsih, M. Kes dan Bapak Dr. drs. Mochamad Hadi, M. Si, yang telah sabar membimbing untuk menyelesaikan tugas akhir ini.

Jasamu takkan pernah kulupakan.

Kakak dan abangku, Mbak Rina, Mas Handoko, Kak Dila keluarga dan sahabat yang telah memberikan doa dan semangat sepanjang hari.

Teman seangkatan, alumni, serta keluarga besar Magister Epidemiologi yang tidak bisa kusebutkan satu persatu selalu memberikan semangat dan mendorong untuk berjuang bersama dalam menyelesaikan studi ini.

*“Payung memang tidak dapat menghentikan hujan,
tetapi dengan payung kita mampu melewati hujan.*

*Sebagaimana kesabaran mungkin tidak dapat merubah ujian,
Tetapi dengan kesabaran engkau mampu melewati ujian” Habibie.*

RIWAYAT HIDUP

Nama : Trisna Widyanti
TTL : Matang Terap, 17 Juni 1997
Jenis Kelamin : Perempuan
Agama : Islam
Alamat Rumah : Desa Sarang Burung Kolam, Dusun Matang Batu
RT/RW 001/001 Kecamatan Jawai, Kabupaten
Sambas 79454.
Nomor Hp : 081254524805
Alamat Email : trisnawidyanti110617@gmail.com

RIWAYAT PENDIDIKAN

1. Tahun 2003 - 2009 : SD Negeri 04 Sei Nilam, Jalan Sungai Raya, Sungai Nilam, Kecamatan Jawai, Kabupaten Sambas, Kalimantan Barat 79454
2. Tahun 2009 - 2012 : SMP Negeri 2 Jawai, Sarang Burung Usrat Kecamatan Jawai, Kabupaten Sambas, Kalimantan Barat 79454
3. Tahun 2012 - 2015 : SMA Negeri 1, Jalan Pertanian Pelimpaan, Kecamatan Jawai Kabupaten Sambas, Kalimantan Barat 79454
4. Tahun 2015 - 2019 : Politeknik Kesehatan Kemenkes Pontianak, Jalan Dokter Soedarso, Bangka Belitung Laut, Kecamatan Pontianak Tenggara, Kota Pontianak, Kalimantan Barat 78124
5. Tahun 2019 : Diterima di Sekolah Pascasarjana Magister Epidemiologi Universitas Diponegoro, Semarang.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan pada Tuhan Yang Maha Esa atas Kuasa-Nya yang telah memberikan segala nikmat dan kesempatan sehingga penyusunan Tesis yang berjudul **Aktivitas Nanokitosan Ekstrak Pasak Bumi (*Eurycoma Longifolia Jack*) sebagai Imunomodulator terhadap Infeksi Bakteri *Salmonella typhi*** dapat terselesaikan. Penulis mengucapkan terima kasih dan menghaturkan hormat setinggi-tingginya untuk kedua orang tua Bapak Tajirin dan Ibu Rubinah, Mbak Rina Adrianti, Mas Dwi Fitri Handoko, dan Kak Dila yang selalu medoakan dan memberikan dukungan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi ini dengan lancar.

Dengan terselesaikan Tesis ini, penulis juga mengucapkan terimakasih kepada :

1. Prof. Dr. Yos Johan Utama, S.H.,M.Hum selaku Rektor Universitas Diponegoro Semarang.
2. Dr. R.B. Sularto, S.H.,M.Hum selaku Dekan Sekolah Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang.
3. Dr. drh. Dwi Sutiningsih, M.Kes selaku Ketua Program Studi Magister Epidemiologi Universitas Diponegoro Semarang sekaligus pembimbing utama atas arahan, ketulusan, kesabaran, dan ketelitian untuk membimbing Penulis dalam penyusunan Tesis ini.
4. Dr. Mochammad Hadi, M.Si selaku pembimbing pendamping yang telah membekali, memberikan solusi, arahan, serta ketelitian untuk membimbing Penulis dalam penyusunan Tesis ini.

5. Dr. dr. Andrew Johan, M. Si, selaku penguji utama yang telah banyak memberikan saran dan masukan dalam penyusunan Tesis ini.
6. Dr. dr. Raden Ajeng Kisdjamiatun Retna Mustika Djati, M.Sc selaku penguji pendamping yang telah membantu memberi semangat, bimbingan dan masukan dalam penyusunan Tesis ini.
7. Seluruh dosen Program Studi Magister Epidemiologi yang telah membekali ilmu dan wawasan penulis yang menunjang penyelesaian tesis. Mbak Nunik, Mas Panji, Mas Alwi, Mbak Eka, Mbak Fifi, dan Civitas Akademika yang telah memberikan dukungan kepada penulis termasuk dalam hal administratif.
8. Teman-teman Magister Epidemiologi angkatan 2019 Universitas Diponegoro Semarang, Putri, Kak Ika, Azizah, Mbak Aufiena, Narcise, Bu Aloto, Mbak Dayan, Mbak Sari, Mas Yogi, dan Silvi yang selalu memberikan semangat dan bantuan. Terimakasih kepada Kak Meyriska yang sudah selalu ada, memberi dukungan dan motivasi kepada Penulis.
9. Kepada semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian.

Penulis menyadari bahwa Tesis ini jauh dari sempurna. Meskipun demikian Penulis dengan hati terbuka menerima saran dan kritik yang bersifat membangun demi kesempurnaan. Semoga Tesis ini dapat bermanfaat bagi pembaca. *Aamiin Yarobbal'alaamiin.*

Penulis,

Trisna Widyanti

ABSTRAK

Latar Belakang : Demam tifoid saat ini masih mengancam masyarakat di wilayah subtropis dan tropis terutama di Indonesia. Oleh karena itu perlu dikembangkannya terapi *adjuvant* dari bahan alami seperti *Eurycoma longifolia* Jack. Berdasarkan studi literatur masyarakat telah memanfaatkan *Eurycoma longifolia* Jack untuk menambah stamina.

Tujuan : Mengetahui aktivitas ekstrak *Eurycoma longifolia* Jack dan sediaan nanokitosannya terhadap aktivitas fagositosis makrofag secara *in vivo*.

Metode : Jenis penelitian *Quasi-experiment* dengan *Post-test only control group design*. Pengujian imunomodulator ini diukur aktivitas fagositosis makrofag yaitu kapasitas fagositosis dan indeks fagositosis dihitung jumlah sel dengan pengamatan mikroskopis.

Hasil : Hasil sediaan nanokitosan ekstrak *Eurycoma longifolia* Jack berpotensi sebagai imunomodulator. Uji *Post Hoc LSD* menunjukkan nilai $p < 0,05$ hal ini mendukung dosis 300 mg/kgBB bahwa semakin tinggi dosis maka dapat menggambarkan efek dari ekstrak dan nanokitosan *Eurycoma longifolia* Jack.

Kesimpulan : Ekstrak *Eurycoma longifolia* Jack dan sediaan nanokitosan ekstrak *Eurycoma longifolia* Jack memiliki aktivitas fagositosis makrofag secara *in vivo*, yaitu berpotensi sebagai efek imunomodulator. Hasil indeks fagositosis mampu meningkatkan aktivitas kekebalan tubuh (imunostimulan) dan menekan sistem kekebalan tubuh (imunosupresan).

Keyword : Nanokitosan, *Eurycoma longifolia* Jack, Imunomodulator

ABSTRACT

Background: Typhoid fever is still a threat to people in the subtropics and tropics, especially in Indonesia. Therefore, it is necessary to develop *adjuvant* therapy from natural ingredients such as *Eurycoma longifolia* Jack. Based on literature studies, the community has used *Eurycoma longifolia* Jack to increase stamina.

Objective : The objektif of this study is to determine activity of *Eurycoma longifolia* Jack extract and its nanochitosan preparation on macrophage phagocytosis activity *invivo*.

Method: This was an *Quasi-experimental* study using the *Post-test only control group design*. This immunomodulator test measured the phagocytosis activity of macrophages, namely phagocytosis capacity and phagocytosis index, which counted the number of cells by microscopic observation.

Results: The results of nanochitosan preparations of *Eurycoma longifolia* Jack extract have potential as immunomodulator. The *LSD Post Hoc Test* showed a p value < 0.05, this supports the dose of 300 mg/kgBB, that the higher the dose, the more the effect of the extract and nanochitosan *Eurycoma longifolia* Jack can be described.

Conclusion: *Eurycoma longifolia* Jack extract and nanochitosan preparation of *Eurycoma longifolia* Jack extract have macrophage phagocytosis activity *invivo*, which has the potential as an immunomodulatory effect. The results of the phagocytosis index can increase immune activity (immunostimulants) and suppress the immune system (immunosuppressants).

Keyword : Nanochitosan, *Eurycoma longifolia* Jack, Immunomodulator

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
DEKLARASI ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
RIWAYAT HIDUP.....	v
RIWAYAT PENDIDIKAN	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
ABSTRACT	x
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
DAFTAR SINGKATAN.....	xix
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.3.1 Tujuan Umum.....	6
1.3.2 Tujuan Khusus	6
1.4 Manfaat Penelitian	7
1.4.1 Bagi Pengembangan Ilmu Pengetahuan	7
1.4.2 Bagi Masyarakat	7
1.4.3 Bagi Instansi Kesehatan.....	7
1.5 Keaslian Penelitian	8
1.6 Ruang Lingkup Penelitian	10
1.6.1 Lingkup Keilmuan	10
1.6.2 Lingkup Materi	10
1.6.3 Lingkup Metode.....	10
1.6.4 Lingkup Sasaran	11
1.6.5 Lingkup Tempat.....	11

1.6.6 Lingkup Waktu	11
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	12
2.1 Tanaman Obat.....	12
2.2 <i>Eurycoma longifolia</i> Jack	13
2.2.1 Deskripsi <i>Eurycoma longifolia</i> Jack.....	13
2.2.2 Penyebaran Tumbuhan <i>Eurycoma longifolia</i> Jack	14
2.2.3 Klasifikasi Tumbuhan <i>Eurycoma longifolia</i> Jack.....	15
2.2.4 Morfologi Tumbuhan <i>Eurycoma longifolia</i> Jack	15
2.2.5 Khasiat Tumbuhan <i>Eurycoma longifolia</i> Jack.....	16
2.2.6 Kandungan Kimia Tumbuhan <i>Eurycoma longifolia</i> Jack	18
2.3 Ekstraksi	22
2.3.1 Ekstraksi padat-cair	22
2.3.2 Ekstraksi cair-cair	23
2.4 Ekstrak	23
2.5 Penguapan.....	23
2.6 Tinjauan Tentang Nanopartikel	24
2.6.1 Nanopartikel	24
2.6.2 Metode pembuatan.....	25
2.7 Nanopartikel Kitosan	27
2.8 Tripolifosfat (NaTPP).....	28
2.9 Mekanisme Respon Imun	29
2.10 Respon Imun terhadap <i>Salmonella typhi</i>	37
2.11 Imunomodulator	38
2.12 Makrofag dan Mekanisme Fagositosis	40
BAB III	
KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS	42
3.1 Kerangka Teori	42
3.2 Kerangka Konsep.....	45
3.3 Hipotesis Penelitian	46
3.3.1 Hipotesis Mayor.....	46

3.3.2 Hipotesis Minor	46
BAB IV METODE PENELITIAN	47
4.1 Desain Penelitian	47
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian.....	49
4.2.1 Populasi Penelitian.....	49
4.2.2 Sampel Penelitian	50
4.2.3 Waktu dan Tempat Penelitian.....	51
4.3 Defenisi Operasional, Variabel Penelitian, dan Skala Pengukuran.....	52
4.3.1 Defenisi operasional	52
4.4 Variabel Penelitian.....	53
4.5 Instrumen Penelitian	54
4.6 Alat Penelitian	53
4.7 Bahan penelitian	56
4.8 Prosedur Penelitian	57
BAB V HASIL PENELITIAN	77
5.1 Hasil Determinasi	77
5.2 Hasil Ekstraksi.....	77
5.3 Hasil Skrining Fitokimia	78
5.4 Hasil Nanokitosan Tumbuhan Akar <i>Eurycoma longifolia</i> Jack	79
5.5 Hasil Pengamatan Kapasitas Fagositosis dan Indeks Fagositosis Makrofag Ekstrak <i>Eurycoma longifolia</i> Jack dan Nanokitosan Ekstrak <i>Eurycoma longifolia</i> Jack.....	82
5.6 Hasil Pengamatan Fisiologi Mencit Balb/C	83
5.7 Analisis Bivariat	84
BAB VI PEMBAHASAN.....	88
6.1 Fitokimia Akar <i>Eurycoma longifolia</i> Jack.....	88
6.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak dan Nanokitosan Ekstrak <i>Eurycoma longifolia</i> Jack terhadap Aktivitas Fagositosis Makrofag	92
6.3 Keterbatasan Penelitian	99
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	100

7.1 Kesimpulan.....	100
7.2 Saran	101
DAFTAR PUSTAKA	102

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1	Keaslian Penelitian	9
Tabel 4.1	Definisi operasional	56
Tabel 4.2	Klasifikasi Indeks Fagositosis.....	75
Tabel 5.1	Hasil Determinasi <i>Eurycoma longifolia</i> Jack.....	73
Tabel 5.2	Hasil Skrining Fitokimia Kualitatif Ekstrak <i>Eurycoma longifolia</i> Jack.....	74
Tabel 5.3	Hasil Skrining Fitokimia Kuantitatif <i>Eurycoma longifolia</i> Jack	75
Tabel 5.4	Hasil Kapasitas Fagositosis dan Indeks Fagositosis Nanokitosan Ekstrak <i>Eurycoma longifolia</i> Jack dan Ekstrak <i>Eurycoma</i> <i>longifolia</i> Jack.....	79
Tabel 5.6.1.3	Analisis <i>Post Hoc</i> Kapasitas Fagositosis dan Indeks Fagositosis Nanokitosan Ekstrak <i>Eurycoma longifolia</i> Jack dan Ekstrak <i>Eurycoma longifolia</i> Jack.....	81
Tabel 5.6.1.4	Analisis <i>Post Hoc</i> Indeks Fagositosis dan Indeks Fagositosis Nanokitosan Ekstrak <i>Eurycoma longifolia</i> Jack dan Ekstrak <i>Eurycoma longifolia</i> Jack.....	83

DAFTAR GAMBAR

Gambar 3.1	Kerangka Teori.....	42
Gambar 3.2	Kerangka Konsep.....	43
Gambar 4.1	Rancangan Penelitian.....	57
Gambar 5.1	Ekstrak <i>Eurycoma longifolia</i> Jack.....	74
Gambar 5.2	Ekstrak <i>Eurycoma longifolia</i> Jack Dosis 200, 250, dan 300 mg/kgBB.....	74
Gambar 5.3	Larutan STTP; B Larutan Chitosan; C Sediaan Nanokitosan Ekstrak <i>Eurycoma longifolia</i> Jack.....	76
Gambar 5.4	STTP dalam larutan nanokitosan Ekstrak <i>Eurycoma longifolia</i> Jack.....	76
Gambar 5.5	Grafik distribusi nanokitosan Ekstrak <i>Eurycoma longifolia</i> Jack	76
Gambar 5.6	Pengamatan Usus Mencit Secara Makroskopis.....	102

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN 1	105
1.1 Ethical Clearance.....	120
1.2 Surat Izin Penelitian	121
1.3 Determinasi Tumbuhan	122
1.4 Surat Keterangan Penelitian.....	123
1.5 Sertifikat Bakteri	124
LAMPIRAN 2.....	125
2.1 Hasil Uji Serologi.....	126
2.2 Rumus Perhitungan	132
2.3 Hasil Kapasitas Fagositosis dan Indeks Fagositosis	137
2.5 Hasil SPSS	138
LAMPIRAN 3.....	146
3.1 Pembuatan Ekstrak <i>Eurycoma longifolia</i> Jack.....	147
3.2 Uji Fitokimia	148
3.3 Pembuatan Nanokitosan.....	149
3.4 Treatmen Hewan Uji	150
3.5 Kultur Sel Makrofag	152
3.6 Aktivitas Fagositosis	154
3.7 Pemeriksaan Mikroskopis	155

DAFTAR SINGKATAN

ADCC	: <i>Antybody Dependent Cell (mediate) Cytotoxicity</i>
APC	: <i>Antigen Presening Cell</i>
BB	: Berat Badan
BRM	: <i>Biology Respon Mostire</i>
Ca	: <i>Calsium</i>
CD4	: <i>Cluster of Differentiation 4</i>
CD8	: <i>Cluster of Differentiation 8</i>
CMC-Na	: <i>Carboxymethyle Cellulose Natrium</i>
Co ₂	: <i>Carbondioksida</i>
DC	: <i>Dendrit Cel</i>
DMBA	: <i>7,12-Dimetilbenz(a)Anthracene</i>
ELISA	: <i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
FC γ -R	: <i>Fraghmen crystallizable Receptor</i>
HSG	: <i>Hyperimmune Serum Globulin</i>
IFN- γ	: <i>Interferon Gamma</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
IgG	: <i>Imunoglobulin G</i>
ISG	: <i>Immune serum globulin</i>
Kg	: <i>Kilogram</i>
MAC	: <i>Macrofag Activity Cytokin</i>
MDP	: <i>Muramil Dipeptide</i>
MHC	: <i>Major Histocomptibility Cell</i>
Mg	: <i>Miligram</i>
ml	: <i>Mililiter</i>
NaH ₂ PO ₄	: <i>mononatrium fosfat</i>
Na ₂ HPO ₄	: <i>dinatrium fosfat</i>
NaTTP	: <i>Tripoliposphate</i>
NK	: <i>Natural Killer</i>

Nm	: nanometer
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
pH	: <i>Power of Hydrogen</i>
Plate BR-II	: <i>Braier-II pelete</i>
PMN	: Polimorfonuklear
PPM	: Pengendalian Penyakit Menular
PSA	: <i>Particel Size Analyzer</i>
Rpm	: <i>Revolutions Per Minute</i>
RPMI	: <i>Rosewell Park Memorial Institude</i>
SEM	: <i>Scanning Elektron Microscopy</i>
SLM	: <i>Solid Lipid Nanoparticel</i>
SMAF	: <i>Specific Macrofag Arming Factor</i>
SPO	: Sistem Pengantar Obat
STTP	: <i>Sodium tripolifospat</i>
TEM	: <i>Transmisson Electron Microscopy</i>
Th	: <i>T helper</i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
TRC	: <i>T-Cell Reseptor</i>
WHO	: World Health Organization