



Gambaran histologis limfa (lien) setelah paparan madu pada tikus putih (*Rattus norvegicus*)

*Histological features of spleen after the honey exposure on rat (*Rattus norvegicus*)*

Fitria Nurul Hidayah¹, Sri Nabawiyati Nurul Makiyah²

¹Medical Student, Muhammadiyah University School of Medicine, Yogyakarta

²Department of Histology, Muhammadiyah University School of Medicine, Yogyakarta

KEYWORDS Honey; Immune system; Lymph; White pulp

ABSTRACT Honey is a special food because of the taste, nutrition, and high benefits of it. Honey's effect to healing process also as well known already and has been reported, even the benefits of honey written in Holy Quran. Honey also has an antimicrobial effect because it produces hydrogen peroxide, nonperoxide component effect, acidity, immune system stimulation, and honey viscosity as the barrier against pathogenic bacteria. This scientific paper is presented to observe the stimulation of the effect of the immune system of honey in the lymph after the honey exposure. This research is observational, using experimental approach, which is done by using male white mice (*Rattus norvegicus*), with a body weight \pm 220 gram, expose with honey for as long 35 days. The mice are divided into two groups, the control group and the treatment group. Each group consist of five mice. After the treatment, the mice are decapitated, and then the lymph are collected. The immune system activation in the lymph is estimated by measuring the white pulp diameter which will be compared between that of the treatment group and the control group. As the result of the observation, is obvious that the diameter of the white pulp in the treatment group is less than that of the control group. From the result of the statistical analysis, the significances counted 0,006 ($p < 0,05$). It shows that there are significant differences between those two groups, and also proves that honey has indeed the effect to support the peripheral immune system.

Madu merupakan bahan makanan yang istimewa karena rasa, nilai gizi dan khasiatnya yang tinggi (Winarno, 1982) yang dihasilkan oleh lebah. Lebah madu menghasilkan madu yang dibuat dari nektar pada musim tumbuhan berbunga. Madu yang mempunyai nilai gizi tersebut ternyata mengandung banyak komponen antara lain yang paling dominan adalah gula sederhana (monosakarida dan disakarida) dan gula rantai panjang (polisakarida), selain itu madu juga mengandung enzim untuk mencerna gula, vitamin, mineral, dan lain-lain (Sihombing, 1997)

Dalam sejarah telah dinyatakan bahwa madu sudah dikenal sejak beribu tahun silam dan banyak digunakan baik sebagai bahan makanan maupun sebagai obat. Pengaruh madu

pada proses penyembuhan dari suatu penyakit juga sudah banyak diketahui dan diteliti. Manfaat madu yang luar biasa ini bahkan tertera dalam Kitab Suci Al-Qur'an Surat An-Nahl ayat 68-69, yang menyebutkan bahwa dari perut lebah keluar minuman (madu) yang di dalamnya terdapat obat yang menyembuhkan penyakit bagi manusia. Di kalangan masyarakat dikenal berbagai produk modern yang mengandung madu dengan tujuan meningkatkan stamina dan ketahanan tubuh terhadap penyakit. Produk ini bermacam-macam jenisnya, dari produk jamu, susu formula, hingga penyegar.

Correspondence:

Fitria Nurul Hidayah, Medical Student, Muhammadiyah University School of Medicine, Yogyakarta, Jl. Lingkar Barat, Tamantirto, Kasihan Bantuk, Yogyakarta 55183, Telephone (0274) 3877656 ext.213, 7491350, Facsimile (0274) 387646.

Dalam penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, madu mempunyai berbagai efek terapeutik, diantaranya adalah efek antimikrobial. Efek ini meliputi produksi hidrogen peroksida, efek komponen non-peroksidase, keasaman, stimulasi sistem imun, dan viskositas madu sebagai sawar terhadap bakteri patogen pada manusia. Stimulasi sistem imun ini meliputi multiplikasi limfosit dan aktivasi neutrofil (Miraglio, 2002).

Definisi imunitas pada masa kini mencakup semua mekanisme fisiologis yang membantu manusia dan binatang untuk mengenal benda-benda asing pada dirinya, untuk menetralkan, menyingkirkan (*eliminate*) serta memetabolisme benda asing tersebut dengan atau tanpa kerusakan pada jaringannya sendiri (Bellanti, 1985).

Tubuh manusia mengembangkan mekanisme yang cukup canggih untuk menghadapi mikroorganisme yang patogen yang memiliki potensi menyerbu ke dalam tubuh. Mekanisme tersebut merupakan bentuk dasar dari pertahanan alami yang merupakan gabungan dari kemampuan perlindungan penghalang-penghalang anatomik, fagositosis, pencernaan dalam fagositosis (Subowo, 1993).

Limpa adalah jaringan limfatik satu-satunya yang mempunyai kekhususan untuk menyaring darah. Seperti limfonodi, limpa adalah komponen sistem limfoid perifer yang menghasilkan limfosit dan sel plasma yang penting untuk menengahi peristiwa-peristiwa imunologik spesifik. Pengambilan limpa telah dibuktikan berkaitan dengan bertambahnya infeksi bakteri, tidak hanya pada bayi dan anak-anak, tetapi juga pada orang dewasa muda (Bellanti, 1993). Limpa mempunyai banyak sel fagositik dan hubungan yang erat dengan darah yang beredar dan sel-sel ini. Limpa merupakan pertahanan tubuh yang penting terhadap mikroorganisme yang dapat menembus sirkulasi dan juga merupakan tempat untuk destruksi banyak sel darah merah. Seperti halnya dengan organ-organ limfatik lain, limpa bereaksi dengan cepat terhadap antigen yang dibawa dalam darah dan merupakan organ penting pembentuk antibodi. Kalau nodus

limfatikus berperan sebagai filter imunologik dari cairan limfe, limpa merupakan filter imunologik dari sistem sirkulasi (Roitt, 1988).

TUJUAN PENELITIAN

Untuk mengetahui perbandingan gambaran mikroskopis limpa (jaringan limfoid) tikus putih antara kelompok kontrol dengan yang diberi perlakuan madu.

HIPOTESIS PENELITIAN

Terdapat pembesaran ukuran pulpa putih limpa (jaringan limfoid) tikus putih yang diberi perlakuan madu dosis tinggi bila dibandingkan dengan pulpa putih limpa tikus putih sebagai kontrol.

Variabel Penelitian

1. Variabel bebas : dosis madu 90 ml/ hari, selama 35 hari berturut-turut diberikan dengan sonde
2. Variabel tergantung: Organ yang dipengaruhi yaitu limpa (lien). Peneliti dalam hal ini mengukur diameter pulpa putih limpa sebagai penanda aktivitas sistem imun pada limpa.
3. Variabel terkendali:
 - a. Variabel subyek penelitian. Jenis kelamin hewan coba, yaitu jantan, usia 4 bulan dengan berat badan sama sebesar ± 220 gram. Penentuan kelompok perlakuan dan kelompok kontrol dipilih secara acak.
 - b. Faktor genetik dengan menggunakan tikus dari galur yang sama yaitu Strain Wistar
 - c. Variabel lingkungan. Lingkungan penelitian dibuat sama. Bentuk, ukuran, dan jumlah hewan tiap kandang sama. Ditempatkan di ruangan yang sama dengan penerangan, suhu dan kelembaban yang sama. Hewan percobaan berada dalam lingkungan pencahayaan alami
 - d. Variabel perawatan. Cara perawatan hewan dibuat sama. Jenis makanan, kualitas dan kuantitasnya sama.

Minuman berupa air diberikan secara secukupnya. Pakan diberikan pagi hari setelah pemberian madu. Sebelum diberi madu berat badan hewan ditimbang, selanjutnya ditimbang kembali setiap minggu.

- e. Variabel prosedur. Manipulasi pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dilakukan dengan cara yang sama.
- f. Variabel pengukur. Digunakan alat pengukur yang sama dan dikerjakan oleh satu orang.

BAHAN DAN CARA KERJA

1. Bahan

a. Hewan uji

Penelitian ini menggunakan hewan uji tikus putih (*Rattus norvegicus*) dari galur Wistar jantan berumur 4 bulan dengan berat badan \pm 220 gram. Untuk perlakuan (paparan madu) dipergunakan lima ekor tikus, sehingga jumlah keseluruhan tikus yang digunakan berjumlah sepuluh ekor (perlakuan + kontrol)

b. Madu

Madu murni yang digunakan diperoleh dari peternak Lebah Madu Mojokerto, Jawa Timur.

2. Alat-alat penelitian

- a. Kandang tikus
- b. Timbangan elektronik untuk mengukur berat badan hewan uji
- c. Kanula pencekok tikus
- d. Semprit 5 ml
- e. Alat penunjuk waktu
- f. Seperangkat alat operasi untuk mengambil limpa mencit
- g. Mikroskop cahaya dan mikrometer okuler
- h. Seperangkat alat untuk pembuatan sediaan irisan mikroanatomi limpa dengan metode parafin dan pewarnaan H-E.

3. Cara Kerja

Perlakuan hewan uji dibagi menjadi dua kelompok, masing-masing kelompok terdiri atas lima ekor tikus

- a. Kelompok I : 5 ekor tikus sebagai kontrol, hewan uji tidak diberi perlakuan apapun

- b. Kelompok II : 5 ekor tikus diberi madu dengan dosis setara dengan 90 ml/hari pada manusia.

Pada penelitian ini seluruh hewan uji diletakkan dalam kandangnya sesuai dengan kelompoknya di ruangan tertutup di laboratorium UPHP Universitas Gadjah Mada dan dihindarkan dari pengaruh udara luar. Perlakuan dengan memberikan madu dilakukan setiap hari selama 35 hari berturut-turut, setelah itu binatang dibunuh dengan dekapitasi dan diambil limpanya. Limpa yang diperoleh dimasukkan dalam larutan formalin 10%. Selanjutnya dilakukan pewarnaan H-E dan pengukuran diameter pulpa putih secara mikroskopis.

Hasil pengukuran diameter pulpa putih diuji statistik dengan uji *t-test* (*independent sample*).

HASIL

Spesimen yang diamati dalam penelitian ini adalah spesimen limpa. Limpa ini diambil dari tikus putih yang telah diberi madu selama 35 hari. Setelah pembuatan preparat, pengamatan dilanjutkan dengan mikroskop yang menggunakan pembesaran 10 kali, sehingga didapatkan hasil pemeriksaan histologis pulpa putih limpa. Pada tikus putih kelompok kontrol tidak ditemukan kelainan pada organ dan dapat dikatakan limpa tikus putih kelompok kontrol normal. Pada tikus putih yang diberi paparan madu, tidak nampak adanya perubahan yang bersifat patologis pada limpa.

Setelah dilakukan pengamatan secara umum, kemudian dilakukan pengukuran diameter pulpa putih limpa pada spesimen untuk mengetahui adanya peningkatan aktivitas dari sistem imun pada limpa. Data yang diambil sejumlah 30 pengukuran pada kelompok kontrol dan 30 pengukuran pada kelompok perlakuan madu. Hasil pengukuran ditunjukkan dalam Tabel 1.

PEMBAHASAN

Hasil pengukuran diameter pulpa putih menunjukkan bahwa tikus putih yang diberi

perlakuan madu mempunyai diameter pulpa putih limpa yang lebih kecil apabila dibandingkan dengan tikus putih kontrol. Penurunan diameter pulpa putih limpa tikus putih yang diberi perlakuan madu apabila dibandingkan dengan tikus putih kontrol dapat disebabkan karena adanya aktivasi madu sebagai agen antimikroba di saluran pencernaan. Kemampuan antimikroba madu disebabkan oleh adanya enzim hidrogen peroksidase, rendahnya *water activity* (*Aw*) madu, dan pH madu yang bersifat asam (Molan, 2002).

Perbedaan ukuran diameter pulpa putih antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan madu juga diperkuat dengan hasil perhitungan statistik yang diperlihatkan pada Tabel 2.

Uji statistik dilakukan dengan menggunakan uji t-test, tingkat kepercayaan 95%, didapatkan kemaknaan sebesar 0,006. Hasil ini jauh berada di bawah angka 0,05 yang berarti Hipotesis Nol ditolak. Hipotesis yang diterima adalah H1 yang menyatakan bahwa ada perbedaan bermakna antara hasil pengukuran diameter pulpa putih limpa tikus putih kelompok kontrol $64,17 \pm 18,55$ dan kelompok perlakuan madu. $52,45 \pm 12,69$.

Zat-zat dalam madu seperti enzim hidrogen peroksidase, rendahnya *water activity* (*Aw*) madu, dan pH madu yang bersifat asam, menyebabkan madu mempunyai daya antimikrobia. Daya antimikrobia ini telah bekerja di saluran pencernaan saat dikonsumsi oleh tikus putih, sehingga banyak bakteri patogen telah kehilangan aktifitasnya untuk menimbulkan penyakit. Berbagai bakteri yang telah diteliti dan terbukti sensitif terhadap madu antara lain *Bacillus anthracis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Escherichia coli*, *Proteus species*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella species*, *Shigella species*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp*, *Vibrio cholerae* (Molan P.C, 1992 *op.cit* Miraglio, 2002)

Apabila bakteri patogen tersebut telah kehilangan aktifitasnya saat di saluran pencernaan tikus, maka kuman aktif yang sampai ke dalam lumen pembuluh darah juga tidak akan banyak. Hal ini berkorelasi dengan adanya penurunan aktivitas sistem imun, di mana darah yang sampai ke limpa tidak mengandung banyak kuman patogen, yang pada akhirnya akan menurunkan aktivitas sistem imun. Hal ini menjelaskan mengapa pada tikus dengan perlakuan madu, tampak adanya penurunan pengukuran diameter pulpa putih limpa.

KESIMPULAN

1. Terjadi penurunan aktivitas sistem imun limpa pada tikus putih kelompok perlakuan madu apabila dibandingkan dengan tikus putih kelompok kontrol.
2. Madu dengan daya antimikrobia yang sangat membantu sistem imun dalam mengatasi invasi dari bakteri patogen

KEPUSTAKAAN

- Bellanti JA 1985, *Immunology III*, W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Burkitt HG, Young B, Heath JW 1995. *Histologi Fungsional (Weather's functional histology: a text and colour atlas)*, Ed.3, EGC, Jakarta.
- Junqueira LC, Carneiro J 1982. *Histologi Dasar (Basic Histology)*, Ed. 3, Jakarta, EGC
- Leeson CR, Leeson *et al.*, TS, Paparo AA 1989. *Buku Ajar Histologi (Text book of Histology)*, Ed. 5, Jakarta, EGC
- Miraglio AM 2002. *Honey-Health and therapeutic qualities*, Direktori: www.nhb.org/honey-health.pdf
- Molan PC 2002. *Honey as antimicrobial agent*. Waikato Honey Research Unit, University of Waikato. Direktori: www.honey.bio.waikato.ac.nz/honey_1shtml
- Sihombing DTH 1997. *Ilmu Ternak Lebah Madu*. Gadjah Mada Universiti Press. Yogyakarta.
- Subowo 1993. *Imunologi Klinik*, Angkasa Bandung
- Winarno FG 1982. *Madu teknologi, khasiat dan analisa*. 1st ed. Ghalia Indonesia. Jakarta.

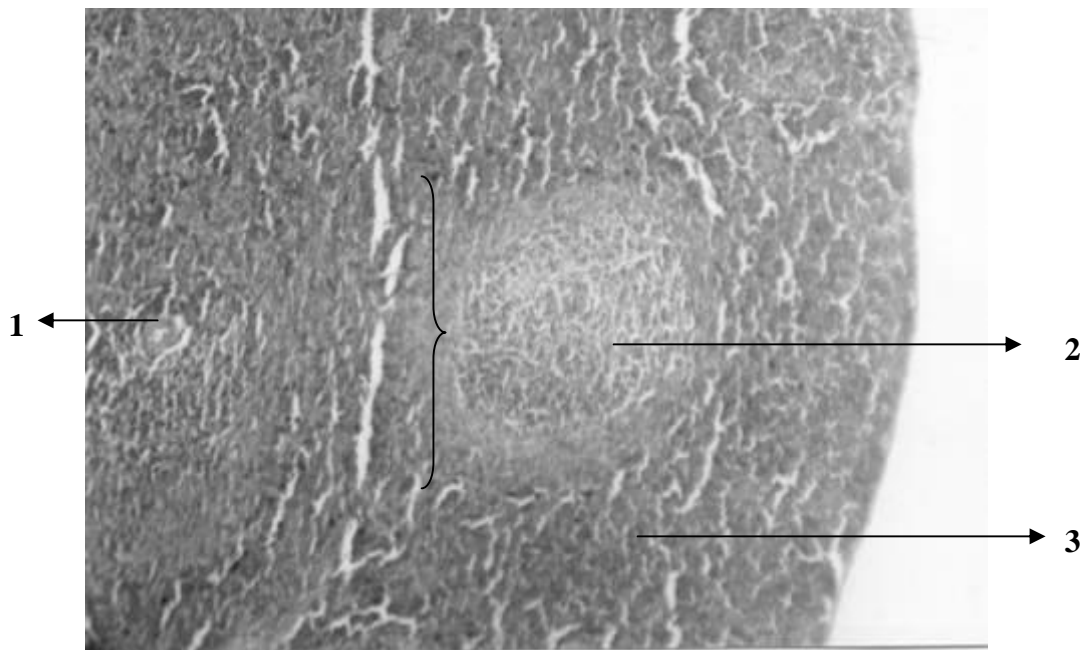
Tabel 1. Hasil pengukuran diameter pulpa putih limpa untuk masing-masing kelompok hewan uji

Kelompok	Diameter (μm)
Kontrol	64,17 \pm 18,55
Perlakuan	52,45 \pm 12,69

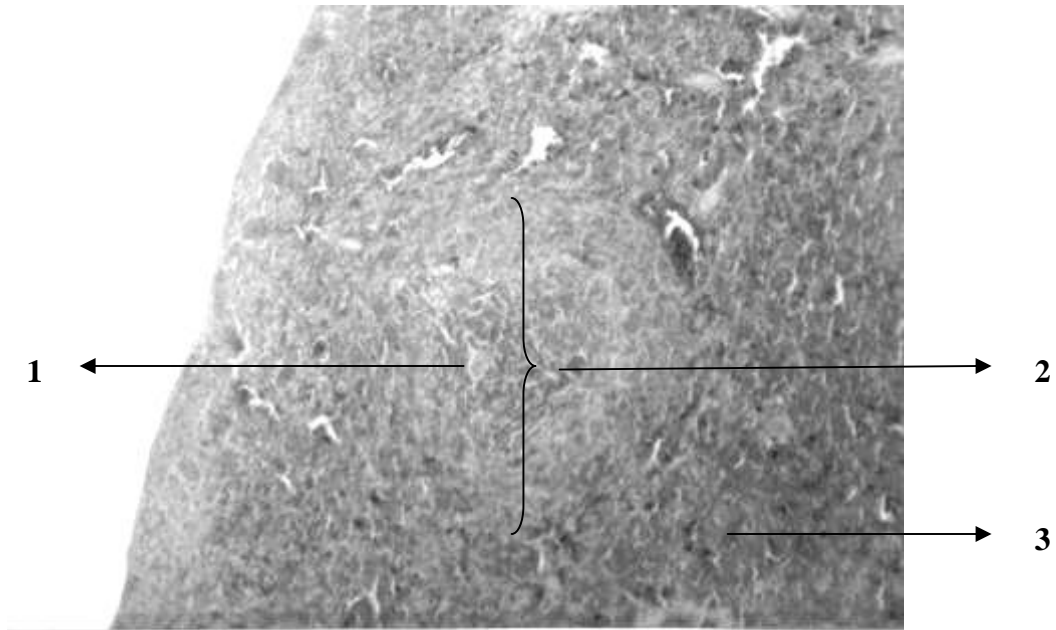
Tabel 2. Hasil uji statistik *independent sample t-test* pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variance		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Kontrol	Equal variance assumed	2.588	.113	2.855	58	.006	11.7133	4.1028	3.5008	19.9259
	Equal variance not assumed			2.855	51.263	.006	11.7133	4.1028	3.4777	19.9489



Gambar 1. Struktur mikroskopis limpa pada tikus (*Rattus norvegicus*) kelompok kontrol (HE; 10 kali)
Keterangan : 1. Arteria sentralis 2. Pulpa putih 3. Pulpa merah



Gambar 2. Struktur mikroskopis limfa pada tikus (*Rattus norvegicus*) kelompok perlakuan madu (HE; 10 kali)
Keterangan: 1. Arteria sentralis 2. Pulpa putih 3. Pulpa merah