

Pengaruh pemberian actinomycetes terhadap penurunan jumlah leukosit pada mencit diare

Effect of actinomycetes administration on reducing leukocyte count in diarrheal mice

SAGO: Gizi dan Kesehatan
2024, Vol. 5(2) 315-319
© The Author(s) 2024



DOI: <http://dx.doi.org/10.30867/sago.v5i2.1445>
<https://ejournal.poltekkesaceh.ac.id/index.php/gikes>



Poltekkes Kemenkes Aceh

Ivena Claresta^{1*}, Endang Sri Lestari², Gemala Anjani³

Abstract

Background: Diarrhea cases are mostly caused by enteropathogenic escherichia coli (EPEC). Elevated white blood cells or leucocytes are closely associated with the incidence of diarrhea due to bacterial infection. Actinomycetes are known to have antibacterial properties that can fight pathogenic microorganisms.

Objectives: To analyze of the effectiveness of Actinomycetes from the right wing of *Musca domestica* on leucocyte counts in EPEC-induced mice.

Methods: Experimental study with randomized post-test only with control group design. This study was conducted from June to July 2023 at the Pharmacology Laboratory of Muhammadiyah Surakarta University, using 30 mice divided into 5 groups. Actinomycetes intervention was given equivalent to 0,5 McFarland standard with dose variations: 0,26ml/20gBW (group P1), 0,65ml/20gBW (group P2), and 1,3ml/20gBW (group P3). EPEC induction was 0,5ml orally in the treatment group and negative control group (KN). The healthy control group (KS) was given 0,5ml of mineral water. The variable measured was the number of leucocytes of *Mus musculus* mice taken on the third day after the intervention. Data processing was performed using the Kruskal-Wallis Test to determine differences between groups with level significantly $p < 0,05$.

Results: There was a decrease in the leucocytes counts in the treatment group compared to the KN group ($p = 0,027$). The highest mean leukocyte count was seen in the KN group ($8.786,7 \text{ mm}^3$) while, the lowest mean leukocyte count was in the P2 group ($6.488,3 \text{ mm}^3$).

Conclusion: Actinomycetes intervention in EPEC-induced diarrhea mice effectively reduces leucocyte counts.

Keywords

Actinomycetes, Leukocyte, Diarrhea

Abstrak

Latar Belakang: Kasus diare sebagian besar disebabkan oleh *Enteropathogenic Escherichia Coli* (EPEC). Peningkatan sel darah putih atau leukosit erat kaitannya dengan kejadian diare akibat infeksi bakteri. *Actinomycetes* diketahui memiliki sifat antibakteri yang dapat melawan mikroorganisme patogen.

Tujuan: Untuk melakukan analisis efektivitas *Actinomycetes* dari sayap kanan *musca domestica* terhadap jumlah leukosit pada mencit yang diinduksi EPEC.

Metode: Penelitian eksperimental dengan rancangan *randomized post-test only with control group design*. Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni hingga Juli 2023 di Laboratorium Farmakologi Universitas Muhammadiyah Surakarta, menggunakan mencit *mus musculus* sebanyak 30 ekor yang dibagi menjadi 5 kelompok. Intervensi *Actinomycetes* diberikan setara 0,5 McFarland standar dengan variasi dosis; 0,26ml/20gBB (kelompok P1), 0,65ml/20gBB (kelompok P2), dan 1,3ml/20gBB (kelompok P3). Induksi EPEC sebanyak 0,5ml secara oral pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol negatif (KN). Pada kelompok kontrol sehat (KS) diberikan 0,5ml air mineral. Variabel yang diukur adalah jumlah leukosit mencit *Mus musculus* yang diambil pada hari ketiga setelah intervensi. Pengujian data dilakukan menggunakan Uji Kruskal-Wallis untuk mengetahui perbedaan antar kelompok dengan tingkat signifikansi $p < 0,05$.

Hasil: Terdapat penurunan jumlah leukosit pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok KN ($p = 0,027$). Rata-rata jumlah leukosit tertinggi terlihat pada kelompok KN $8.786,7 \text{ mm}^3$ sedangkan, rata-rata jumlah leukosit terendah pada kelompok P2 $6.488,3 \text{ mm}^3$.

¹ Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia. Email: ivena20claresta@gmail.com

² Departemen Mikrobiologi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia.
Email: ending_sri_lestari@yahoo.com

³ Departemen Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia. Email: gemaanjani@gmail.com.

Penulis Korespondensi:

Ivena Claresta: Departemen Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia.
Email: ivena20claresta@gmail.com

Kesimpulan: Intervensi *Actinomyces* pada mencit yang diinduksi EPEC efektif menurunkan jumlah leukosit.

Kata Kunci:

Actinomyces, Leukosit, Diare

Pendahuluan

Enteropathogenic *Escherichia coli* merupakan salah satu galur dari *Escherichia coli* yang menyebabkan diare akut, berdarah, hingga persisten (Mare et al., 2021). Pada umumnya bakteri tersebut hidup sebagai flora normal di usus besar manusia. Kontaminasi bakteri melalui rute *fecal-oral* menjadi penyebab terjadinya keracunan pangan atau *food borne disease* (Cissé, 2019). Pada saluran pencernaan EPEC menginduksi luka dengan merusak mikrovili pada saluran enterosit sehingga terjadi infeksi dan diare (Rahayu et al., 2018).

WHO (*World Health Organization*) menyatakan, terjadi sekitar 420.000 kematian setiap tahun dan sepertiganya adalah anak-anak usia dibawah 5 tahun (125.000 kematian per tahun) (WHO, 2022). Penggunaan antibiotik pada penderita diare yang disebabkan infeksi bakteri digunakan untuk mempercepat penyembuhan (Riddle et al., 2016). Antibiotik merupakan senyawa antimikroba yang pada kejadian infeksi bakteri berfungsi menekan maupun menghentikan proses biokimia organisme tersebut. Munculnya strain baru yang lebih cepat dibandingkan pengembangan antimikroba menyebabkan terjadi resisten antibiotik (Oktaviani & Dini, 2022). Keadaan tersebut menyebabkan penggunaan antibiotik yang tidak tepat atau berlebihan. Secara global resistensi antibiotik masih menjadi salah satu ancaman utama bagi kesehatan masyarakat (WHO, 2015).

Penemuan sumber senyawa antibakteri baru dari alam yang mengarah pada penemuan kembali zat yang sudah diketahui digunakan sebagai strategi baru untuk membantu mengatasi penyebaran resistensi antibiotik (Simeis & Serra, 2021). Serangga merupakan target organisme yang sesuai dalam mencari jenis antimikroba baru karena bersentuhan langsung dengan mikroorganisme patogen. Hasil uji coba *in vitro* pada air minum yang ditambahkan sayap kanan *Musca domestica* dan *E. coli*, tidak terjadi pertumbuhan mikroba yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri (Claresta et al., 2020). Pada sayap kanan lalat diketahui terdapat bakteri *Actinomyces* yang dapat memproduksi antibiotik *Actinomycin* dan *Actinomycin* (Atta, 2014). *Actinomyces* merupakan

bakteri miselia yang dapat menghasilkan metabolit sekunder bersifat antibakteri. Bakteri tersebut menjadi kelompok terbesar sebagai sumber daya mikroba yang menghasilkan antibiotika secara alami (Mast & Stegmann, 2019).

Pemeriksaan hematologi seperti jumlah leukosit berhubungan dengan etiologi penyakit diare (Fernandes et al., 2019). Jumlah leukosit yang meningkat menunjukkan adanya proses inflamasi dan mungkin perlu dilakukan pemeriksaan tinja untuk mengetahui jenis infeksi. Leukosit merupakan sel darah putih yang berfungsi melawan infeksi, melindungi tubuh dengan memfagosit organisme asing dan memproduksi antibodi. Leukosit terbentuk di sumsum tulang (*myelogenous*), disimpan dalam jaringan limfatikus (limfa, timus, dan tonsil) kemudian diangkut oleh darah ke organ dan jaringan (Nourshargh & Alon, 2014).

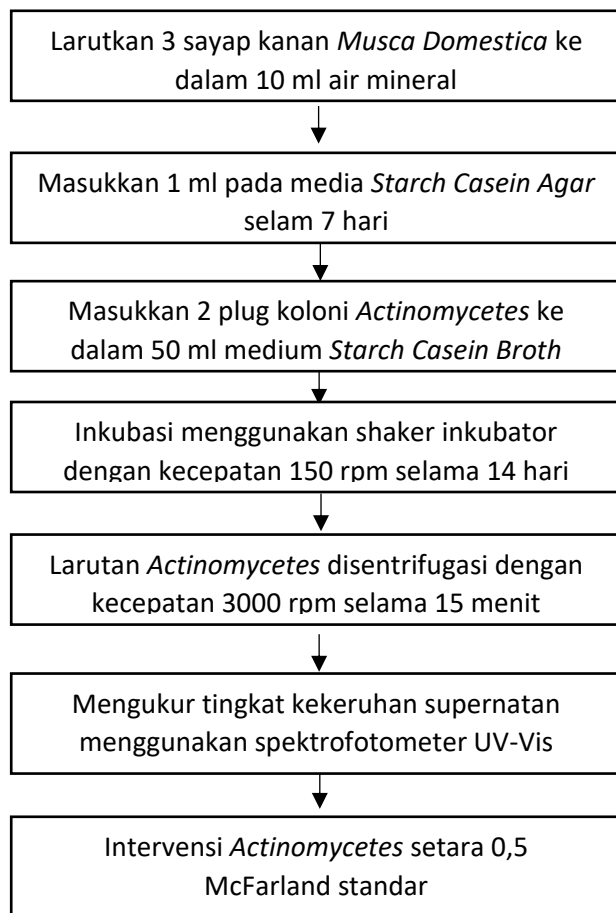
Jumlah leukosit yang tidak sesuai dengan keadaan normal menunjukkan perlu dilakukan evaluasi terhadap suatu penyakit. Pemberian antibiotik pada penderita diare diketahui dapat mengibati infeksi serta menurunkan jumlah leukosit (Fernandes et al., 2019). Hasil uji coba *in vitro* menunjukkan, *Actinomyces* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* (Surya et al., 2020).

Berdasarkan hal tersebut, perlu adanya penelitian lanjutan untuk menganalisis efektifitas *Actinomyces* yang diisolasi dari sayap kanan lalat *Musca domestica* terhadap jumlah leukosit pada mencit diare secara *in vivo*. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan dalam pengembangan bakteri *Actinomyces* sebagai antibakteri.

Metode

Penelitian eksperimental dengan rancangan *randomized post-test only with control group design*. Penelitian dilakukan pada bulan Juni hingga Juli 2022 di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Hewan coba yang digunakan adalah mencit *Mus musculus* jantan yang berjumlah 30 ekor berumur 2,5-3 bulan dengan berat 25-30 g yang dibagi menjadi 5 kelompok (2 kelompok kontrol dan 3

kelompok perlakuan). Sayap kanan *Musca domestica* diperoleh dari lingkungan sekitar penelitian.



Gambar 1. Diagram alir isolasi *Actinomycetes* dari sayap kanan *Musca Domestica*.

Pemberian dosis mengacu pada penggunaan antibiotik empiris pada manusia dewasa (Tribble, 2017). Intervensi *Actinomycetes* setara dengan 0,5 McFarland dengan variasi dosis (100ml, 250ml, dan 300ml) yang telah dikkonversikan ke mencit; 0,26ml/20gBB (kelompok P1), 0,65ml/20gBB (kelompok P2), dan 1,3ml/20gBB (kelompok P3). Induksi EPEC pada mencit dilakukan setelah dipuaskan terlebih dahulu selama 1 jam. Kultur bakteri EPEC yang telah diremajakan, diencerkan dengan larutan NaCl fisiologis 0,9% hingga konsentrasi suspensi setara dengan larutan McFarland nomor 2 yaitu $6,0 \times 10^8$ CFU/ml.

Induksi dilakukan melalui rute oral yang dibagi menjadi 4 kelompok (kontrol negatif dan 3 kelompok perlakuan) masing-masing diberikan dosis sebanyak 0,5 ml/20 g BB/hari. Pada kelompok kontrol sehat (KS) mencit diberikan air mineral sebanyak 0,5 ml/20 g BB/hari.

Pengambilan darah mencit dilakukan melalui mata bagian vena orbitalis pada hari ketiga penelitian. Jumlah leukosit diukur menggunakan *hematology analyzer*. Pengujian data dilakukan menggunakan Uji Kruskal-Wallis untuk mengetahui perbedaan antar kelompok dengan tingkat kepercayaan 95%. Penelitian dilaksanakan berdasarkan pertimbangan dan persetujuan etik dari komisi penelitian hewan coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang dengan nomor *Ethical Clearance* No. 57/EC/H/FK-UNDIP/VII/2022.

Hasil

Tabel 1. Perbedaan jumlah leukosit antar kelompok setelah intervensi *Actinomycetes*

Kelompok Perlakuan	Jumlah Leukosit (Mean ± SD) mm ³	Nilai P
KN	8.786,7 ± 980,7	0,027
KS	7.210 ± 804,7	
P1	7.541,7 ± 1.015	
P2	6.488,3 ± 1.009,7	
P3	7.566,67 ± 1.625,9	

Tabel 2. Uji post hoc Mann-Whitney terhadap jumlah leukosit setelah intervensi *Actinomycetes*

Kelompok Perlakuan	Nilai p				
	KN	KS	P1	P2	P3
KN	-	0,225	0,663	0,016	0,715
KS	-	-	1,000	1,000	1,000
P1	-	-	-	1,000	1,000
P2	-	-	-	-	1,000
P3	-	-	-	-	-

Berdasarkan uji *Kruskal-Wallis* pada tabel 1, terdapat perbedaan jumlah leukosit setelah intervensi *Actinomycetes* antar kelompok ($p=0,027$). Rata-rata jumlah leukosit tertinggi terlihat pada kelompok KN sedangkan, rata-rata jumlah leukosit terendah terdapat pada kelompok P2. Hasil uji post hoc *Mann-Whitneys* terdapat pada tabel 2, menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok KN dengan kelompok P2 ($p=0,016$). Hal ini menunjukkan dosis *Actinomycetes* yang paling efektif dalam menghambat EPEC adalah 250 ml.

Pembahasan

Induksi EPEC pada mencit mengakibatkan terjadinya diare (Ledwaba et al., 2020). Peningkatan jumlah leukosit merupakan salah satu hasil penunjang terhadap adanya proses infeksi. Berdasarkan hasil penelitian secara *in vivo* pada sel epitel usus yang terinfeksi, EPEC menginduksi respon inflamasi dengan memicu produksi sitokin dan kemokin, termasuk IL-8 yang mengerahkan leukosit polimorfonuklear ke tempat infeksi. Pelepasan IL-8 melalui *toll-like receptor 5* (TLR5) dan aktivasi NF- κ B yang dimediasi oleh flagelin (protein yang disekresikan oleh gen *fliC* EPEC). NleE dan T3SS (efektor sistem sekretori tipe 3) digunakan untuk migrasi leukosit polimorfonuklear yang diinduksi EPEC (Mercado et al., 2011). *Actinomyces* diketahui mampu menghambat T3SS spesifik tanpa menyebabkan kematian, sehingga mengurangi resistensi bakteri (Mchugh RE et al., 2022).

Hasil penelitian menunjukkan, jumlah leukosit semua kelompok dalam kategori normal (10.000 mm^3) pada hari ketiga setelah induksi EPEC dan intervensi *Actinomyces*. Hal ini terjadi karena adanya proses *self limiting disease* serta perbaikan infeksi oleh *Actinomyces* pada mencit diare. Berdasarkan hasil penelitian, umumnya diare sembuh dengan sendirinya dalam waktu 3 hingga 5 hari (Descoteaux & Shrimanker, 2021). Pemberian antibiotik dapat mempercepat penyembuhan klinis 72 jam dibandingkan kelompok plasebo (Denham et al., 2018).

Pada penelitian ini diketahui jumlah leukosit pada kelompok perlakuan lebih sedikit dibandingkan kelompok KN. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya, dimana pemberian antibiotik dapat menurunkan jumlah leukosit pada penderita diare (Fernandes et al., 2019). Variasi dosis pada kelompok P2 berpengaruh secara signifikan dibandingkan kelompok lainnya. Hal ini menunjukkan, pemberian dosis sebesar 250 ml (0,26ml/20gBB) memiliki dampak yang lebih baik dibandingkan dengan dosis 100 ml (0,26 ml/20 g BB) ataupun 500 ml (1,3 ml/20 g BB).

Intervensi *Actinomyces* dapat membantu menurunkan jumlah leukosit akibat infeksi bakteri. Berdasarkan hasil penelitian diketahui, antibakteri yang diproduksi *Actinomyces* dapat membunuh ataupun menghambat pertumbuhan mikroorganisme karena memiliki sifat bakterisidal dan bakteriostatik terhadap gram negative (Niode et al., 2022). Uji *in vitro* juga menunjukkan,

metabolit sekunder yang dihasilkan *Actinomyces* dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* hingga konsentrasi 10^6 CFU/ml (Surya & Rachmawaty, 2020). Meskipun begitu hasil penelitian lainnya menyatakan, pada anak yang mengalami diare akut, diketahui memiliki nilai hematologi normal seperti; hematokrit, hemoglobin, leukosit, dan trombosit (Rottie et al., 2015; Shabella et al., 2022).

Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan jumlah leukosit post intervensi adalah normal. Intervensi *Actinomyces* pada kelompok perlakuan memiliki jumlah leukosit lebih rendah dibandingkan dengan kelompok KN tanpa intervensi *Actinomyces*. Saran, pengukuran jumlah leukosit sebaiknya dilakukan sebelum dan sesudah penelitian dan perlu dilakukan pengembangan lebih lanjut terkait pemanfaatan *Actinomyces* sebagai antibakteri.

Deklarasi Konflik Kepentingan

Tidak ada konflik kepentingan dari penulis maupun instansi sehubungan dengan penelitian, kepengarangan, dan/atau publikasi pada artikel ini.

Daftar Rujukan

- Atta, R. M. (2014). *Microbiological studies on fly wings (Musca Domestica) where disease and treat. World Journal of Medical Sciences, 11(4), 486–489.*
<https://doi.org/10.5829/idosi.wjms.2014.11.4.86131>.
- Ayu Oktaviani, D., & Rahmania Eka Dini, I. (2022). Evaluation of the quality of antibiotic usage in pediatric patients with specific acute diarrhea in RSND Semarang. *Generics : Journal of Research in Pharmacy Accepted : 4 Mei, 2(1)*.
- Cissé, G. (2019). Food-borne and water-borne diseases under climate change in low- and middle-income countries: further efforts needed for reducing environmental health exposure risks. *Acta Tropica, 194, 181–188.*
<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.03.012>.

- Claresta, I., Sari, D. D., Nurohmi, S., Fathimah, & Damayanti, A. Y. (2020). The right-wing of fly (*Musca domestica*) as a neutralization of drinks contaminated by microbe. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 66. <https://doi.org/10.3177/jnsv.66.S283>.
- De Simeis, D., & Serra, S. (2021). Actinomycetes: a never-ending source of bioactive compounds—an overview on antibiotics production. *Antibiotics*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050483>
- Denham, J. D., Nanjappa, S., & Greene, J. N. (2018). Treatment of Enteropathogenic *Escherichia coli* diarrhea in cancer patients: a series of three cases. *Case reports in infectious diseases*, 2018.
- Descoteaux, F. G., & Shrimanker, I. (2021). Chronic diarrhea. *StatPearls Publishing*. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544337/#_NBK544337_pubdet_.
- Fernandes, H. V. J., Houle, S. K. D., Johal, A., & Riddle, M. S. (2019). Travelers' diarrhea: clinical practice guidelines for pharmacists. *Canadian Pharmacists Journal*, 152(4), 241–250. <https://doi.org/10.1177/1715163519853308>
- Ledwaba, S. E., Costa, D. V. S., Bolick, D. T., Giallourou, N., Medeiros, P. H. Q. S., Swann, J. R., Traore, A. N., Potgieter, N., Nataro, J. P., & Guerrant, R. L. (2020). Enteropathogenic *Escherichia coli* infection induces diarrhea, intestinal damage, metabolic alterations, and increased intestinal permeability in a murine model. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.595266>.
- Mare, A. D., Ciurea, C. N., Man, A., Tudor, B., Moldovan, V., & Toma, F. (2021). Enteropathogenic *Escherichia coli*—a summary of the literature. *Gastroenterol. Insight*, 12, 28–40. <https://doi.org/10.3390/gastroent>.
- Mast, Y., & Stegmann, E. (2019). Actinomycetes: the antibiotics producers. *Antibiotics*, 8(3). <https://doi.org/10.3390/antibiotics8030105>.
- Mercado, E. H., Ochoa, T. J., Ecker, L., Cabello, M., Durand, D., Barletta, F., Molina, M., Gil, A. I., Huicho, L., Lanata, C. F., & Cleary, T. G. (2011). Fecal leukocytes in children infected with diarrheagenic *Escherichia coli*. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(4), 1376–1381. <https://doi.org/10.1128/JCM.02199-10>.
- McHugh, R. E., O'Boyle, N., Connolly, J. P., Hoskisson, P. A., & Roe, A. J. (2019). Characterization of the mode of action of aurodox, a type III secretion system inhibitor from *Streptomyces goldiniensis*. *Infection and Immunity*, 87(2), 10–1128.
- Niode, N. J., Mahono, C. K., Lolong, F. M., Matheos, M. P., Kepel, B. J., & Tallei, T. E. (2022). A review of the antimicrobial potential of *Musca domestica* as a natural approach with promising prospects to countermeasure antibiotic resistance. *Genetics Research*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/9346791>.
- Nourshargh, S., & Alon, R. (2014). Leukocyte migration into inflamed tissues. *Immunity*, 41(5), 694–707. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.10.008>.
- Rahayu, W. P., Nurjanah, S., & Komalasari, E. (2018). *Escherichia coli*: patogenesis, analisis dan kajian risiko. *IPB Press*.
- Riddle, M. S., DuPont, H. L., & Connor, B. A. (2016). ACG clinical guideline: diagnosis, treatment, and prevention of acute diarrheal infections in adults. *Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG*, 111(5), 602–622.
- Rottie, Y., Mantik, M., & Runtunuwu, A. (2015). Profil hematologi pada penderita diare akut yang dirawat di bagian ilmu kesehatan anak RSUP Prof. DR. R. Kandao Manado. *Jurnal E-Clinic*, 3(3), 838–844.
- Shabella, G., Ringoringo, H., & Noor, M. (2022). Manifestasi klinis dan profil hematologi balita dengan diare akut RSD Idaman Banjarbaru Tahun 2020-2021. *Homoestasis*, 5(3), 509–518.
- Surya, S. S., & Rachmawaty, F. J. (2020). Aktivitas antibakteri metabolit sekunder lalat rumah *Musca domestica* terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 20(3). <https://doi.org/10.24815/jks.v20i3.18377>.
- Tribble, D. R. (2017). Antibiotic therapy for acute watery diarrhea and dysentery. *Military Medicine*, 182, 17–25. <https://doi.org/10.7205/MILMED-D-17-00068>.
- WHO, H. (2015). Antibiotic resistance: multi-country public awareness survey. World Health Organization.