

## **BAB 5**

### **PEMBAHASAN**

Sesuai dengan hasil penelitian maka sistematika pembahasan dilakukan pada masing-masing variabel meliputi produksi nitrit oksida dan kemampuan fagositosis makrofag yang dinyatakan dalam indeks fagositosis. Sebelumnya akan disampaikan sekilas tentang profil dan standar bahan teh rosela yang digunakan peneliti.

#### **5.1. Standarisasi Bahan**

Tanaman rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) merupakan anggota kingdom Plantae, ordo Malvales, famili Malvaceae.<sup>25</sup>

Standarisasi bahan (teh rosela) yang digunakan dalam penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia Nutrisi, Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Diponegoro Semarang. Hasil analisis teh rosela berupa kadar polifenol total. Teh rosela yang dianalisis dibuat menggunakan prosedur yang sesuai dengan yang dilakukan peneliti untuk digunakan pada perlakuan. Total polifenol yang diperoleh adalah 77,291 ppm.

## 5.2. Produksi nitrit oksida makrofag

Hipotesis penelitian adalah produksi nitrit oksida makrofag kelompok mencit yang diinduksi *Salmonella typhimurium* yang diberi teh kelopak rosela (kelompok perlakuan) lebih tinggi daripada kelompok yang tidak diberi teh kelopak rosela (kelompok kontrol positif). Pengaruh pemberian teh rosela diasumsikan akan memberikan hasil terbaik pada kelompok P2 (yang diberikan 1 x dosis lazim) daripada kelompok P1 (yang diberikan ½ x dosis lazim) atau P3 (yang diberikan 2 x dosis lazim).

Kenyataan yang ditemukan saat penelitian adalah produksi nitrit oksida makrofag kelompok perlakuan P2 lebih tinggi daripada P1, P3 dan kelompok kontrol positif, namun secara statistik tidak berbeda.

Perlawanan sistem imun terhadap bakteri intraseluler berupa reaksi pembunuhan bakteri intraseluler atau reaksi lisis sel yang terinfeksi bakteri intrasel. Reaksi pembunuhan bakteri intraseluler diperankan oleh makrofag dengan cara memproduksi molekul mikrobisidal intraseluler *reactive oxygen intermediates*, *nitrit oxide* (NO), *lysosomal enzymes*, sitokin TNF, IL-1, IL-12.<sup>4,5,43</sup> Produksi *reactive oxygen species* (ROS) dan NO dipengaruhi oleh interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ), yaitu melalui aktivasi transkripsi gen-gen yang mengkode enzim *phagocyte oxidase* yaitu enzim penghasil intermediate *reactive oxygen* dan enzim *inducible nitric oxide synthase* (iNOS).<sup>5</sup> Polifenol dalam akar *licorice* yaitu *glycyrrhizin* dapat meningkatkan aktifitas interferon.<sup>44</sup>

Kemampuan makrofag kelompok P2 dalam memproduksi nitrit oksida adalah yang paling tinggi dibandingkan kelompok lainnya, sehingga memiliki makna bahwa kandungan polifenol pada P2 memicu reaksi pembunuhan bakteri intraseluler oleh makrofag. Polifenol teh kelopak rosela diduga dapat memacu makrofag memproduksi molekul mikrobisidal sehingga dapat mengeliminasi bakteri intraseluler.

Hasil yang diperoleh pada penelitian ini tidak sesuai dengan teori karena ada kemungkinan bahwa lama pemberian dan dosis teh kelopak rosela masih belum tepat.

Hasil yang berbeda ditemukan pada pengaruh polifenol teh hijau terhadap sistem imun. Polifenol teh hijau (*catechin*) dapat menghambat produksi NO sel makrofag peritoneal, produksi NO-yang diinduksi LPS (lipopolisakarida), dan ekspresi gen iNOS melalui mekanisme penurunan aktivasi NF- $\kappa$ B.<sup>45</sup>

### **5.3. Kemampuan fagositosis makrofag**

Hipotesis penelitian adalah kemampuan fagositosis makrofag kelompok mencit yang diinduksi *Salmonella typhimurium* yang diberi teh kelopak rosela (kelompok perlakuan) lebih tinggi daripada kelompok yang tidak diberi teh kelopak rosela (kelompok kontrol positif). Pengaruh pemberian teh rosela diasumsikan akan memberikan hasil terbaik pada kelompok P2 (yang diberikan 1 x dosis lazim) daripada kelompok P1 (yang diberikan ½ x dosis lazim) atau P3 (yang diberikan 2 x dosis lazim).

Kenyataan yang ditemukan saat penelitian adalah kemampuan fagositosis makrofag kelompok perlakuan lebih rendah daripada kelompok kontrol positif.

Peranan makrofag teraktifasi dalam respon imun seluler adalah (1) memfagosit dan membunuh mikroba intrasel melalui produksi molekul mikrobisidal, (2) menstimulasi inflamasi akut lokal yang kaya akan netrofil sehingga memfagosit dan menghancurkan organisme infeksius, dan (3) membersihkan jaringan mati akibat proses infeksi bakteri dan menginduksi reparasi jaringan.<sup>4</sup>

Flavonoid, dapat memodulasi berbagai fungsi imun, yang salah satunya adalah peningkatan sekresi IL-4 yang menghambat aktivasi makrofag, sehingga dapat menghambat respon imun seluler.<sup>5, 46</sup> Polifenol dalam teh rosela yang diberikan pada kelompok perlakuan menyebabkan sekresi IL-4 meningkat sehingga menghambat aktivasi makrofag yang diinduksi IFN- $\gamma$ . Proses aktivasi makrofag menjadi terhambat yang pada akhirnya menurunkan kemampuan fagositosis makrofag.

Suatu senyawa yang awalnya memiliki sifat sebagai antioksidan apabila diberikan dalam kadar fisiologis, bisa berubah menjadi prooksidan apabila diberikan melebihi kadar fisiologisnya.<sup>47</sup> Sifat prooksidan tersebut akan mempengaruhi (merusak) integritas dan fungsionalitas lipid membran sel yang akan mengganggu proses transduksi sinyal dan ekspresi gen sel-sel imun, sehingga proses normal sel imun menjadi terganggu, termasuk makrofag.<sup>46</sup> Pada penelitian ini kemampuan fagositosis makrofag kelompok perlakuan sangat rendah dibandingkan kelompok kontrol. Makrofag pada kelompok perlakuan ternyata menerima polifenol melebihi kadar fisiologisnya, sehingga mengakibatkan gangguan fungsi makrofag, yaitu kemampuan fagositosisnya lebih rendah daripada kelompok kontrol yang tidak memperoleh teh rosela.

Hasil yang diperoleh pada penelitian ini tidak sesuai dengan teori karena ada kemungkinan bahwa lama pemberian dan dosis teh kelopak rosela masih belum tepat.

Hasil yang berbeda ditemukan pada pengaruh ekstrak *cat's claw* terhadap sistem imun. Ekstrak tersebut yang mengandung berbagai macam flavonoid, triterpene, mampu menstimulasi limfosit T dan aktifitas makrofag.<sup>44</sup>

#### **5.4. Keterbatasan Penelitian**

Pada akhir penelitian, jumlah sampel berkurang dari 30 ekor menjadi 27 ekor mencit, karena 1 (satu) ekor mencit pada kelompok perlakuan P3 mati, 1 (satu) ekor mencit pada kelompok kontrol positif, dan 1 (satu) ekor mencit pada kelompok kontrol negatif mati. Penyebab kematian tidak ditentukan, seharusnya dilakukan analisis per-protokol dan analisis “intention to treat” untuk menentukan sebab kematian.

Kematian yang terjadi pada kelompok kontrol positif dan negatif, indeks fagositosis kelompok kontrol positif hampir sama dengan indeks fagositosis kelompok kontrol negatif, hal ini menunjukkan adanya kemungkinan kontaminasi/infeksi selama pemeliharaan. Kenyataan tersebut mengindikasikan adanya kurang terjaganya higiene dan sanitasi untuk pemeliharaan mencit.

Ketidak sesuaian hasil penelitian dengan hipotesis disebabkan oleh belum diketahui atau belum ada penetapan dosis efektif polifenol sebagai antioksidan, karena apabila suatu senyawa yang awalnya memiliki sifat sebagai antioksidan bila

diberikan pada dosis fisiologis bisa berubah menjadi prooksidan bila diberikan melebihi dosis fisiologisnya.

Belum adanya penetapan dosis fisiologis polifenol sebagai antioksidan mungkin karena polifenol diperoleh dari berbagai macam sumber seperti buah maupun minuman yang berasal dari berbagai tumbuhan, beragamnya struktur kimia dan kompleksitas struktur kimia polifenol.<sup>48</sup>