

## **BAB VI**

### **PEMBAHASAN**

Mencit Balb/C yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Banyaknya mencit yang digunakan adalah 24 ekor, di mana tiap kelompok dibagi menjadi 6 ekor. Mencit kemudian diadaptasikan selama 7 hari di Laboratorium Biokimia Universitas Diponegoro. Mencit selama diadaptasi diberi pakan dan minum setelah diadaptasi selama 7 hari kemudian diberi perlakuan, sebelumnya di timbang dulu rata-rata berat badan mencit. Pemberian ekstrak etanol *Merremia mammosa* dengan dosis bertingkat P1; 0.32 mg/kgBB/hari, P2; 1,6 mg/kgBB/hari, P3; 8 mg/kgBB/ hari diberikan selama 13 hari sebanyak 1 ml/hari, begitu pula dengan kelompok kontrol diberi aquades 1 ml/hari dan pada hari ke enam mencit diinfeksi *Salmonella typhimurium*.

Pengamatan fisik terhadap mencit dilakukan pada hari pertama sampai hari ke enam sebelum diinfeksi *Salmonella typhimurium* yang akan dibandingkan dengan kondisi mencit setelah infeksi *Salmonella typhimurium*.

Mencit pada kelompok kontrol pada penelitian hari ke lima mati sebelum diinfeksi *Salmonella typhimurium*, ada beberapa kemungkinan mencit tersebut mati dalam penelitian. Pertama bisa disebabkan oleh stres yang dapat menurunkan sistem imun, di mana stres ini mempengaruhi sistem imun tubuh

melalui stimulasi sekresi kortisol dan adrenalin serta berpengaruh terhadap pelepasan noradrenalin dan prostaglandin simpatik terminal saraf di pembuluh darah dan organ limfoid. Efek sistemik dari glukokortikoid dan katekolamin ini mempengaruhi sitokin sehingga terjadi penurunan produksi sitokin yang dibutuhkan dalam merespon infeksi bakterial melalui respon imun seluler.

Mencit pada kelompok (P3) mati selama masa penelitian pada hari keenam setelah infeksi jumlah kematian mencit 3 ekor. Kematian mencit pada perlakuan (P3) ini seharusnya dilakukan penelitian terhadap organ-organnya, misalnya hepar dan ginjal untuk menentukan mekanisme kematian yang tepat. Akan tetapi dugaan penyebab kematian saat ini karena kandungan resin yang terkandung dalam ekstrak etanol *Merremia Mammosa*. Kandungan senyawa resin ini apabila dikonsumsi terus menerus dalam dosis yang tinggi maka akan terjadi terakumulasi zat toksin resin dalam tubuh yang akan menyebabkan efek samping pada sistem saraf yang bisa menyebabkan kematian.

#### **A. Proliferasi Limfosit**

Respon imun seluler akan teraktivasi untuk mengeliminasi infeksi oleh bakteri intra seluler seperti *Salmonella typhimurium*, diantaranya dengan adanya respon proliferasi limfosit. Respon proliferasi limfosit secara makroskopis dilihat dengan adanya perbedaan penambahan ukuran (besar dan berat) limpa (*Splenomegaly*). Pembesaran limpa merupakan penemuan klinis penting pada demam tifoid dan merespon penambahan fungsi fagosit.<sup>2</sup>

Pada penelitian ini tidak ada penambahan berat limpa yang berbeda signifikan terhadap kontrol pada semua kelompok yang diberi ekstrak *Merremia mammosa*, berat limpa justru menurun dengan semakin meningkatnya dosis *Merremia mammosa*. Menurut Manson dan Guerrant dalam Gasem (2001), pada infeksi oleh *Salmonella typhimurium* splenomegali terjadi pada akhir minggu pertama atau awal minggu ke dua.<sup>2</sup> Diketahui bahwa pada infeksi oleh *Salmonella typhimurium* akan menginisiasi respon inflamasi pada tempat penyebaran bakteri ini, diantaranya akan mencapai limpa dan dapat menyebabkan pembesaran pada limpa.<sup>21</sup>

Berat limpa yang cenderung menurun pada kelompok yang diberi ekstrak *Merremia mammosa*, semua perlakuan ada perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol disebabkan oleh efek anti inflamasi dari *Merremia mammosa* sehingga pembesaran organ limpa karena pengaruh inflamasi dapat ditekan. Hal ini telah dibuktikan dengan pengukuran berat limpa pada 5 ekor mencit yang tidak tidak diberi perlakuan sama sekali, dengan hasil pengukuran rerata berat limpa 150,00 mg.

Imunitas terhadap *Salmonella typhimurium* melibatkan komponen *cell mediated imunity* seperti limfosit. Limfosit secara genetik diprogram agar mampu mengenal antigen tertentu saja. Organ limfoid sekunder seperti limpa berfungsi untuk menangkap dan mengumpulkan antigen dengan efektif, untuk proliferasi dan diferensiasi limfosit yang sudah desensitasi

(*antigen committed lymphocyte*). Limfosit mengalami resirkulasi dari organ limfoid satu kelainnya, saluran limfe dan darah, sehingga sewaktu terjadi infeksi akan banyak limfosit terpapar dengan antigen kuman penginfeksi. Kemampuan mengenal antigen tersebut disebabkan oleh adanya reseptor pada permukaan sel limfosit tersebut. Limfosit yang telah distimulasi oleh antigen spesifik akan segera membelah dan akan mengekspresikan reseptor baru yang memungkinkan mereka untuk merespon terhadap sitokin dari sel lain yang merupakan sinyal proliferasi. Limfosit juga akan mensekresi sitokin sendiri dan dibawah pengaruh sitokin tersebut mereka akan mengalami sejumlah siklus pembelahan sebelum berdiferensiasi menjadi sel efektor yang matang. Proliferasi akan menurunkan sel-sel yang secara genetik identik (*clonal selection*).<sup>6,15</sup>

Pengaruh pemberian ekstrak *Merremia mammosa* pada penelitian ini dapat meningkatkan jumlah limfosit pada limpa dibandingkan kontrol, dengan perbedaan yang signifikan dengan kelompok yang diberi dosis 0,32 mg (P1), 1,6 mg (P2), dan 8 mg (P3) meskipun antar dosis perlakuan (P1,P2,P3) tidak ada perbedaan signifikan tetapi kelompok perlakuan yang diberi *Merremia mammosa* jumlah limfositnya lebih tinggi dari kontrol. Hal ini disebabkan karena adanya rangsangan dari senyawa *Merremia mammosa* yang bersifat flavonoid terhadap limfosit. Flavonoid merupakan senyawa alamiah yang dapat meningkatkan IL-2 dan mempunyai kemampuan memacu proliferasi limfosit.

Perlakuan dengan *Merremia mammosa* pada penelitian ini dapat meningkatkan jumlah relatif limfoblas limpa. Berdasarkan jumlah relatif limfoblas yang tinggi maka diasumsikan jumlah limfositnya juga akan tinggi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah relatif limfoblas ada perbedaan yang signifikan antara perlakuan (P1,P2,P3) dengan kontrol, sedangkan antar perlakuan P1,P2,P3 cenderung lebih tinggi dari kontrol tetapi tidak ada perbedaan yang signifikan. Hal ini sejalan dengan hasil yang diperoleh pada jumlah limfosit, dengan demikian pemberian *Merremia mammosa* mampu meningkatkan jumlah limfosit, jumlah relatif limfoblas dan menurunkan berat limpa.

#### **B. Produksi ROI Makrofag**

Imunitas terhadap *Salmonella typhimurium* melibatkan proses Fagositosis makrofag teraktivasi, di mana aktivasi terjadi melalui salah satu sitokin yang dihasilkan sel T. Sitokin yang dihasilkan sel T ini yaitu IFN- $\gamma$  yang merangsang dan mengaktifkan makrofag untuk memproduksi sitokin, dan berbagai substansi pembunuh kuman, termasuk ROI, NO serta enzim lisosim yang disekresikan ke dalam fagosom.<sup>3,15,18</sup>

Makrofag teraktivasi mengubah oksigen menjadi *reactive oxygen intermediate* yang merupakan agen pengoksidasi reaktif yang menghancurkan mikroba. Pada penelitian ini pemberian ekstrak *Merremia mammosa* menunjukkan adanya peningkatan produksi ROI makrofag secara signifikan dibandingkan dengan kontrol yang tidak diberi ekstrak *Merremia mammosa* yaitu P1: 3,217, P2: 3,267, P3: 3,400 dan kelompok

kontrol: 1,640. Pemberian ekstrak *Merremia mammosa* ini terbukti meningkatkan produksi ROI makrofag dibandingkan dengan yang tidak diberi ekstrak *Merremia mammosa*. Meningkatnya produksi ROI makrofag salah satunya karena ekstrak *Merremia mammosa* mengandung flavonoid. Fungsi flavonoid salah satunya adalah mengaktifkan makrofag. Makrofag yang teraktivasi selain memproduksi sitokin juga menghasilkan ROI makrofag yang berguna sebagai bakterisidal. ROI makrofag yang meningkat akan meningkatkan pula efektivitas makrofag untuk melakukan aktivitas *killig*.<sup>3</sup>

### C. Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini tidak menggunakan bahan aktif tunggal sehingga bahan aktif lain yang terkandung dalam ekstrak *Merremia mammosa* dapat mempengaruhi hasil penelitian. Penelitian ini tidak dilakukan pengujian terhadap kadar bahan aktif, sehingga tidak diketahui kadar bahan aktif yang memberikan efek diinginkan. Kadar resin dalam *Merremia mammosa* tidak dianalisis, tidak diketahui apakah memiliki kadar toksik yang menyebabkan efek samping pada sistem saraf sehingga mengganggu efek yang diharapkan. Waktu kematian hewan coba pada P3 yang bersamaan menyebabkan peneliti tidak dapat mengambil kesimpulan atas hasil gambaran histopatologi hepar dan ginjal untuk menentukan mekanisme kematian yang tepat.