

BAB V

PEMBAHASAN

1. Kemampuan fagositosis makrofag

Kemampuan fagositosis makrofag yang dinyatakan dalam indeks fagositosis makrofag pada kelompok perlakuan (diberi ekstrak daun salam) lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol (tanpa ekstrak daun salam). Kelompok perlakuan P2 (dosis ekstrak 2,4 mg) kemampuan fagositosisnya lebih tinggi dibandingkan dengan P1 (dosis ekstrak 0,24 mg) dan P3 (dosis ekstrak 24 mg). Kelompok P3 kemampuan fagositosis makrofagnya lebih rendah dibandingkan dengan kelompok P2 tetapi masih lebih tinggi daripada kelompok P1, pemberian ekstrak daun salam pada kelompok P3 terjadi penurunan efek, dose response relationship hanya pada kelompok P1 ke P2

Grafik 1. Error Bar yang terdapat pada bab sebelumnya, kemampuan fagositosis makrofag pada kelompok P1 dengan P2 makin meningkat seiring dengan peningkatan dosis ekstrak daun salam (dose response relationship). Dose response relationship hanya pada kelompok P1 ke P2. Hal ini menunjukkan adanya hubungan yang nyata antara dosis ekstrak daun salam dengan aktivitas fagositosis makrofag.⁵

Peranan makrofag teraktivasi dalam respon imun seluler adalah (1) memfagosit dan membunuh mikroba intrasel melalui produksi molekul mikrobisidal (2) membersihkan jaringan mati akibat proses infeksi bakteri dan menginduksi reparasi jaringan.¹⁶

Susan. M membuktikan bahwa zat kimia (minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin) yang terdapat dalam daun salam mempunyai daya antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhimurium*, kenaikan kemampuan fagositosis makrofag pada kelompok perlakuan hal ini menunjukkan bahwa aktivitas pembunuhan terhadap bakteri juga meningkat.⁵⁵

2. Kadar *nitric oxide*

Kadar NO makrofag kelompok mencit yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* yang diberi ekstrak daun salam (kelompok perlakuan) lebih tinggi daripada kelompok yang tidak diberi ekstrak daun salam (kelompok kontrol). Kadar NO makrofag kelompok perlakuan P2 (dosis ekstrak 2,4 mg) lebih tinggi daripada kelompok P1 (dosis ekstrak 0,24 mg) dan kelompok P3 (dosis ekstrak 24 mg). Kadar NO paling rendah pada kelompok kontrol. Kelompok P3 kadar NO makrofag lebih rendah dibandingkan dengan kelompok P2 tetapi masih lebih tinggi dari kelompok P1, pemberian ekstrak daun salam pada kelompok P3 terjadi penurunan efek dan belum didapatkan publikasi mengenai hal ini.

Grafik 2. Error Bar yang terdapat pada bab sebelumnya, kadar NO makrofag pada kelompok P1 dengan P2 makin meningkat seiring dengan peningkatan dosis ekstrak daun salam (dose response relationship). Dose response relationship hanya pada kelompok P1 ke Kelompok P2. Hal ini menunjukkan adanya hubungan yang nyata antara dosis ekstrak daun salam dengan kadar NO makrofag.⁵

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*, NO, *lysosomal reactive oxygen species (ROS)* dan NO dipengaruhi oleh *interferon – gamma (IFN- γ)* yaitu melalui aktivasi transkripsi gen-gen yang mengkode enzim *phagocyte oxidase* yaitu enzim penghasil ROI dan enzim iNOS.^{4.5.15.16.17}

Meningkatnya kadar NO dimulai dari respon imun natural dengan pengenalan komponen bakteri seperti LPS dan DNA, diikuti oleh pengambilan dan penghancuran bakteri oleh sel fagosit yang memfasilitasi proteksi inang terhadap infeksi, peran ini salah satunya dilakukan oleh makrofag dengan cara memproduksi NO¹⁵

Infeksi *Salmonella typhimurium* ini mengaktifkan sistem imun seluler. Limfosit T dan makrofag saling bekerja sama untuk membunuh salmonella. Makrofag akan memfagosit bakteri dan limfosit T berdiferensiasi menjadi

CD4 dan CD8. Sel CD4 berdiferensiasi menjadi Th1 yang kemudian menghasilkan sitokin IFN - γ dan TNF - α serta memacu sel NK. Sel CD8 pun menghasilkan sitokin IFN- γ . Sitokin tersebut akan mengaktifkan makrofag untuk menghasilkan senyawa salah satunya nitrit oksida yang berguna untuk membunuh bakteri ¹⁶

Nitric oxide merupakan senyawa yang bersifat toksik dan berumur pendek, berupa molekul gas yang diproduksi oleh iNOS dengan cara mengubah asam amino L-arginin menjadi NO dan sitrulin, yang dapat dengan mudah berdifusi bebas melintasi membran sel menuju ke sel yang berada didekatnya, kemudian bereaksi dengan Fe dan menghambat terjadinya ribonukleotida reduktase menyebabkan sintesa DNA terhambat dan proliferasi sel terhenti, sehingga mekanisme dari fagosit terganggu. Kelebihan jumlah NO akan diubah menjadi bentuk peroksinitrit (ONOO⁻) yang mempunyai efek sitotoksik yang dapat meningkatkan *killing* dari makrofag ^{4.5.16}

Kemampuan makrofag kelompok P2 dalam memproduksi NO adalah yang paling tinggi dibandingkan kelompok lainnya, sehingga memiliki makna bahwa ekstrak daun salam pada P2 memicu reaksi pembunuhan bakteri intraseluler oleh makrofag. Ekstrak daun salam diduga dapat memacu makrofag memproduksi molekul mikrobisidal sehingga dapat mengeliminasi bakteri intraseluler. Yuliyanto membuktikan bahwa minyak atsiri cengkeh mempunyai aktifitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* lebih tinggi dibandingkan dengan minyak atsiri yang terdapat dalam daun salam ⁵⁶.

Penelitian yang dilakukan oleh Ajizah membuktikan pertumbuhan *Salmonella typhimurium* secara *in vitro* dapat dihambat dengan ekstrak daun salam dan ekstrak daun jambu sampai pada konsentrasi 200 mg/ml⁵⁴

Pemberian ekstrak daun salam ini terbukti meningkatkan kadar NO makrofag dibandingkan dengan yang tidak diberi ekstrak daun salam. Meningkatnya kadar NO salah satunya karena ekstrak daun salam mengandung flavonoid. Fungsi flavonoid antara lain adalah mengaktifkan makrofag. Makrofag yang teraktivasi akan menghasilkan NO yang berguna sebagai bakterisidal. NO yang meningkat akan meningkatkan pula efektivitas makrofag untuk melakukan aktivitas fagosit. Flavonoid ini bersifat lipofilik yang dapat merusak membran mikroba^{4.5.15.16.53}

Flavonoid adalah salah satu zat kimia yang terdapat dalam ekstrak daun salam yang dapat meningkatkan sekresi IL-12 yang menghambat aktivasi makrofag sehingga dapat menghambat respon imun seluler. Ekstrak daun salam yang diberikan pada kelompok perlakuan menyebabkan sekresi IL-12 meningkat sehingga menghambat aktivasi makrofag yang diinduksi IFN- γ . Proses aktivasi makrofag menjadi terhambat yang pada akhirnya menurunkan kemampuan fagositosis makrofag.¹⁵⁻¹⁷