

## BAB VI

### PEMBAHASAN

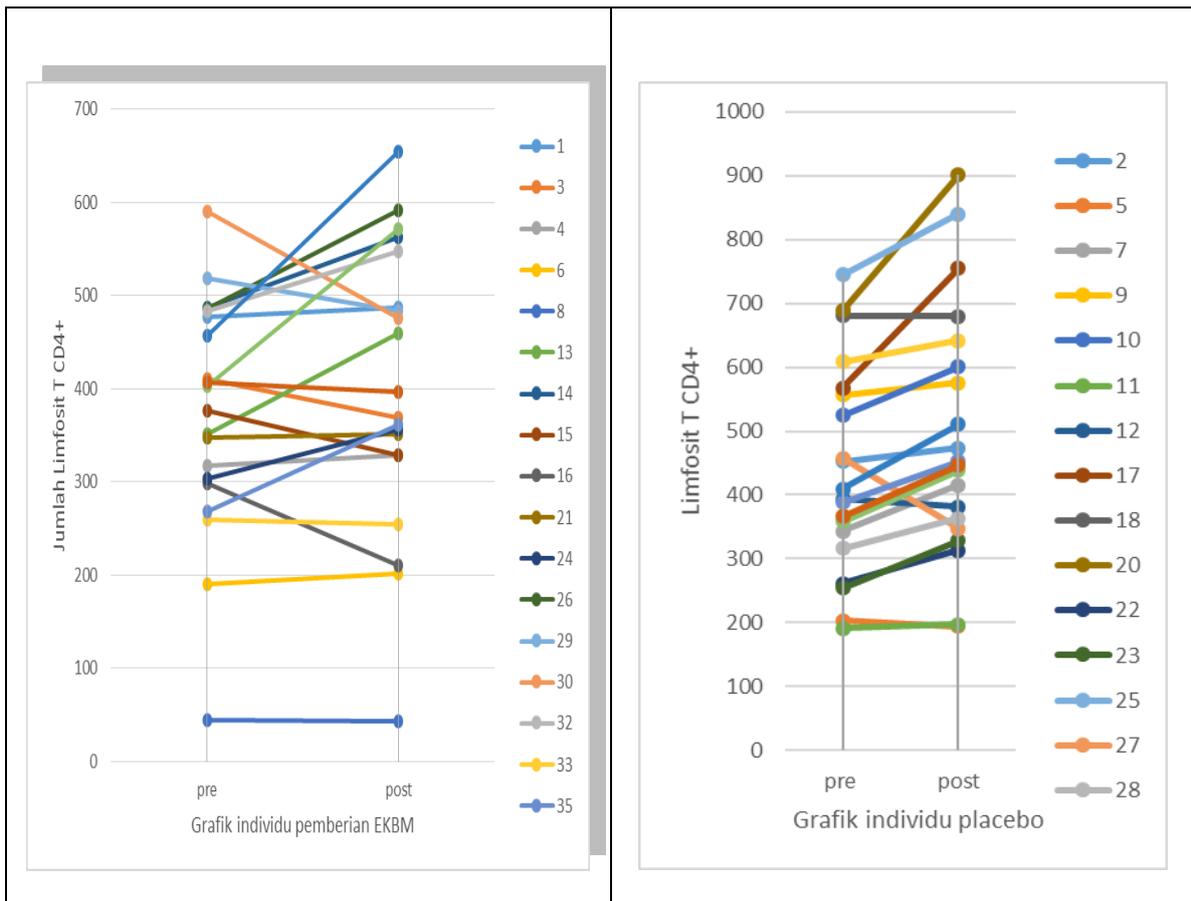
Analisis jumlah limfosit T CD4+ pada penelitian ini dijadikan *baseline* yang juga berperan sebagai *Immunological recovery* pada saat memulai terapi ARV sehingga dapat memaksimalkan respon terhadap pemberian EKBM (Ekstrak Kulit Buah Manggis). Analisis Limfosit T CD4+ dilakukan dengan perbandingan antara 2 kelompok (kontrol dan perlakuan) pada tahap yang sama yaitu sebelum dan sesudah perlakuan. Hasil analisis deskriptif Limfosit T CD4+ menunjukkan peningkatan jumlah limfosit T CD4+ yang bermakna pada kelompok EKBM. Peningkatan pada kelompok EKBM, nilai Mean pretest kelompok EKBM adalah  $373,9 \pm 127,1$  sel/mm<sup>3</sup> menjadi  $401,9 \pm 152,2$  sel/mm<sup>3</sup> (posttest) dengan nilai dengan Interval Kepercayaan adalah 95% -9,7-65,7.

Peningkatan tersebut erat hubungannya dengan kandungan antioksidan yang terdapat pada EKBM. Antioksidan pada EKBM dapat menghambat kadar ROS (*Reactive oxygen species*) yang tinggi pada pasien HIV. Pasien HIV mempunyai kadar ROS yang tinggi, seiring dengan peningkatan kadar virus yang tinggi dan konsumsi ARV yang sering dapat meningkatkan pengaruh ROS. ROS akan mengalami peningkatan yang berbahaya karena ROS memiliki sifat reaktifitas yang tinggi, sehingga jika ROS teraktifasi dalam jumlah berlebihan akan menyebabkan terjadinya stress oksidatif. Stress oksidatif terjadi karena adanya ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh yang dapat menyebabkan kerusakan sel yang ditandai dengan penurunan kadar antoksidan tubuh.<sup>89</sup>

EKBM mengandung zat aktif antioksidan yaitu *xantone* dari golongan polifenol sebagai antioksidan yang kuat dengan cara mendonasikan atom H yang berasal dari hidroksil aromatic (Oh), sehingga dapat meredakan aktivitas *unpaired electron* pada radikal bebas,<sup>91</sup> dengan mekanisme memutus rantai pembentuk radikal dan mengikat ion logam transisi

sehingga menghambat pembentukan radikal bebas. Senyawa polifenol yang terkandung dalam kulit buah manggis selain *xantone* yaitu mangostin, garsinon, flavonoid dan tanin yang terkandung dalam kulit buah manggis, yang merupakan senyawa-senyawa bioaktif fenolik. Senyawa-senyawa ini diduga berperan dalam menentukan aktivitas antioksidan pada kulit buah manggis. Kulit buah manggis yang mengandung senyawa *xanthone* memiliki fungsi antioksidan tinggi yang dapat dimanfaatkan untuk melindungi dan mengurangi kerusakan sel terutama yang diakibatkan oleh radikal bebas. Selain itu kandungan  $\alpha$ -mangostin menurunkan oksidasi LDL pada manusia yang diinduksi *cupper* dan radikal peroksil, yang dapat memiliki efek menghambat aktivasi NF-kB. Hasil ini menunjukkan peranan EKBM sebagai antioksidan juga menekan apoptosis yang akan mempertahankan jumlah Limfosit T CD4+.

Faktor lain yang memungkinkan kenaikan limfosit T CD4+ adalah usia pasien, terlihat pada data karakteristik subjek penelitian bahwa rerata pasien pada penelitian ini adalah  $34,10 \pm 5,93$  dengan nilai  $p=0,464$  (signifikan  $p>0,05$ ). Rerata tersebut menunjukkan bahwa usia pasien  $\leq 40$ . Hal ini sesuai dengan penelitian Boris *et al*<sup>90</sup> bahwa dengan umur lebih muda mengalami peningkatan limfosit T CD4+ lebih tinggi dibandingkan dengan yang usianya lebih tua, penelitiannya menunjukkan pasien dengan terapi ARV pada usia  $\leq 40$  memiliki peningkatan yang lebih cepat, dibandingkan pasien dengan umur  $\geq 40$  lebih lambat mencapai  $>200$  cell/mm<sup>3</sup>.



**Grafik 3. Grafik individu kelompok EKBM dan Placebo Terhadap Jumlah Limfosit T CD4+**

Grafik 3. memperlihatkan bahwa terdapat variasi jumlah Limfosit T CD4+ pada pasien HIV antara kedua kedua kelompok. Variasi jumlah limfosit T CD4+ bisa dikarenakan karena karakteristik pasien saat memulai ARV memiliki jumlah limfosit T CD4+ yang berbeda-beda. Pasien dengan jumlah limfosit T CD4+ lebih tinggi pada pengobatan ARV memiliki respon peningkatan jumlah limfosit T CD4+ yang baik. Pernyataan ini didukung dengan penelitian Boris *et al*<sup>90</sup> bahwa pasien dengan terapi dengan jumlah limfosit T CD4+ <50 cell/mm<sup>3</sup> berisiko empat kali tidak mencapai jumlah limfosit T CD4+ >200 cell/mm<sup>3</sup> dan berisiko dua kali tidak mencapai jumlah limfosit T CD4+ >500 cell/mm<sup>3</sup> dibandingkan dengan pasien yang memulai terapi ARV dengan jumlah limfosit T CD4+ >50 cell/mm<sup>3</sup>. Garcia *et al*<sup>91</sup> menambahkan bahwa pasien yang memulai terapi ARV dengan limfosit T

CD4+ <500 cell/mm<sup>3</sup> lebih cepat meningkat limfosit T CD4+ nya dibandingkan pasien dengan awal terapi dengan jumlah CD4+ <200 cell/mm<sup>3</sup>.

Hasil analisis statistika pada kelompok placebo menunjukkan peningkatan jumlah limfosit T CD4+, hal ini bisa dikarenakan efek sugesti dari pasien HIV. Pasien HIV dengan terapi ARV memiliki efek psikologis berupa efek sugesti yang besar karena pengaruh ARV. Pasien pada penelitian ini mengharapkan hasil pemberian obat herbal dari peneliti, memberikan efek immunomodulator dan berpengaruh pada jumlah peningkatan limfosit T CD4+ (*Placebo effect*).

### **Efektifitas Ekstrak Kulit Manggis terhadap Kadar IL-2**

Variabel selanjutnya yang diuji pada penelitian ini adalah kadar IL-2 yang juga berhubungan dengan ROS. ROS yang mengalami peningkatan dalam tubuh pasien HIV, menyebabkan kerusakan sel dan mengaktivasi pelepasan dari mediator inflamasi, makrofag akan menghasilkan radikal bebas dan sitokin proinflamasi IL-2 yang merupakan hasil sekresi dari Th1 yang teraktivasi, oleh aktifitas makrofag.<sup>48</sup>

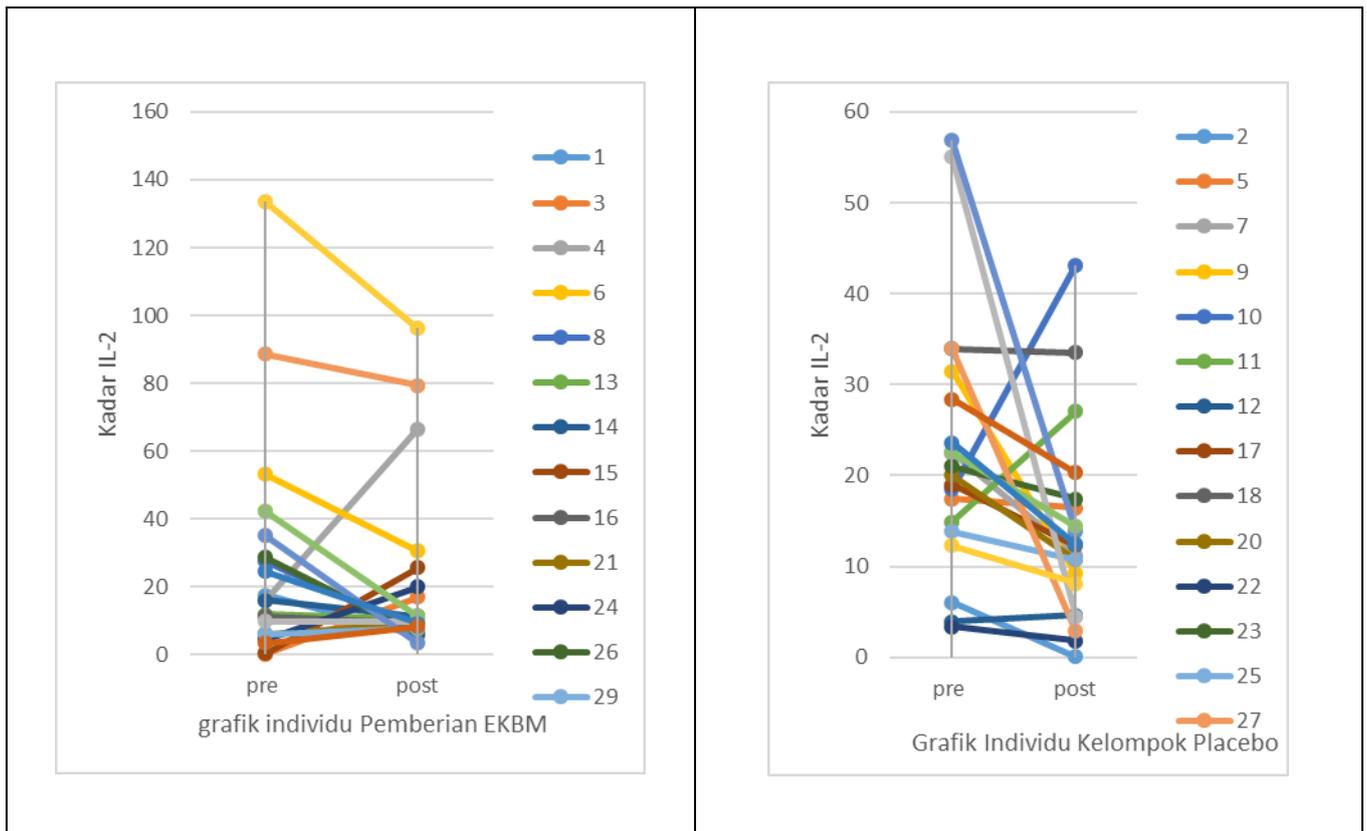
Hasil dari pemeriksaan IL-2 terlihat bahwa nilai median pada kelompok ekstrak pretest sebesar 15,90 dan posttest menurun menjadi 9,96. Delta pada kelompok ekstrak adalah 5,94. Sedangkan untuk kelompok placebo pretest sebesar 20,50 dan nilai menurun setelah posttest adalah 11,78 dengan delta 8,72. Hal tersebut menunjukkan delta penurunan kelompok placebo 1,4 kali lebih tinggi dibandingkan kelompok pemberian EKBM dan nilai *P value* menunjukkan tidak terdapat penurunan yang bermakna dari kadar IL-2 sebelum perlakuan dibandingkan dengan sesudah perlakuan, *P value* kelompok perlakuan ( $p=0.260$ ), sedangkan pada kelompok placebo terdapat penurunan yang signifikan ( $p=0.008$ ). Hasil analisis statistik ini menunjukkan bahwa EKBM memiliki pengaruh dalam mempertahankan kadar IL-2.

Hasil analisis ini sesuai dengan penelitian Sargowo<sup>92</sup>, penurunan kadar IL-1 yang bermakna pada pemberian dosis 800 mg. Sargowo<sup>92</sup> dalam penelitiannya menjelaskan kemampuan EKBM sebagai antioksidan, yaitu *xantone* menurunkan ROS intraseluler dan kemampuan dari mangostin menurunkan oksidasi LDL, hambatan pada IKB kinase dapat menghambat aktivasi NF-kB, sehingga terjadi penurunan kadar IL-2. Mekanismenya yaitu ROS terjadi karena terakumulasinya jumlah LDL yang teroksidasi, karena proses inflamasi sehingga IL-2 mengaktifasi NF-kB. NF-kB adalah salah satu protein yang menginduksi transkripsi gen merangsang terjadinya inflamasi dan peka terhadap oksidasi stress.<sup>69, 93</sup>

Zat aktif lain yang mempengaruhi yaitu Kandungan  $\alpha$ -mangostin juga diduga dapat menurunkan oksidasi dari LDL (*Low Density Lipoproteins*). Hal ini didukung dengan penelitian Nakatani<sup>94</sup> membuktikan bahwa  $\gamma$ -mangostin menghambat aktifitas inhibitor-kB kinase dan menurunkan *LPS-induced inflammatory gene* (TNF- $\alpha$ ,IL-1,IL-6,IL-8,MCP,TLR-). Penelitian kasemwattanaroj menunjukkan kandungan  $\alpha$ -mangostin hasil yang tidak signifikan menginduksi baik sitokin proinflamasi atau sitokin imunitas adaptif yaitu IL-2. Data ini menunjukkan bahwa penghambatan IL-2 oleh  $\alpha$ -mangostin, tanpa mengganggu sel imun pada manusia.<sup>95</sup>

Penurunan IL-2 mempengaruhi proses inflamasi dan respon seluler termasuk aktivasi gen yang terlibat dalam inflamasi dan regulasi imun dapat dihambat, sehingga proses disfungsi endotel dapat dicegah, dimana peranan IL-2 merupakan stimulus aktivasi NF-kB.<sup>62</sup>

Penurunan kadar IL-2 bisa disebabkan karena peranan dari sitokin yang merupakan *Soluble factor* atau mudah dipengaruhi efek lokal pada lingkungan seluler tertentu yang akan mempengaruhi stimulasi sel T dan pengaruh fluktuasi dari aktivasi imun. Faktor lain yang mempengaruhi tingkat sitokin dalam serum yang relatif rendah bisa disebabkan karena sitokin IL-2 lebih mudah terpengaruh oleh fluktuasi terkait dengan respon imun yang diberikan<sup>96</sup>



**Grafik 4. Grafik individu kelompok EKBM dan Placebo Terhadap Kadar IL-2**

IL-2 adalah sitokin utama yang bertanggung jawab untuk pengaktifan pertumbuhan dan diferensiasi limfosit, IL-2 menstimulasi CD4<sup>+</sup> namun dalam hal ini kadar IL-2 tidak mempengaruhi proliferasi limfosit CD4<sup>+</sup>.<sup>95</sup>

Pada penelitian ini, jumlah limfosit T CD4<sup>+</sup> mengalami peningkatan, hal ini bisa terjadi karena beberapa faktor, bisa dikarenakan faktor *exhausted* pada kondisi pasien HIV hingga peningkatan jumlah T CD4<sup>+</sup> tidak diikuti dengan peningkatan kadar IL-2. Sehingga mempengaruhi pada keseimbangan sistem imun pada pasien HIV. Mekanisme faktor *Exhausted* dimulai pada infeksi awal (primer) dimana terjadi peningkatan jumlah pada limfosit T CD4<sup>+</sup> dan CD8<sup>+</sup>, diikuti dengan laju infeksi yang tidak dapat dihentikan, diikuti produksi kadar IL-2 yang tinggi. Keadaan ini justru membuat limfosit T CD4<sup>+</sup> dan CD8<sup>+</sup> tidak berespon (anergi), ditandai dengan ketidakmampuan untuk memproduksi sitokin, perforin dan granzim (*Partial exhaustion I*).<sup>97</sup>

### **Korelasi jumlah limfosit TCD4+ dan kadar IL-2**

Nilai korelasi spearman kelompok ekstrak antara limfosit T CD4+ dan kadar IL-2 adalah (-0,249) menunjukkan arah hubungan korelasi negatif, yang artinya terjadi korelasi antara kedua variabel, korelasi tersebut berupa peningkatan jumlah limfosit T CD4+ meningkat sedangkan untuk kadar IL-2 menunjukkan kadar yang menurun. Sedangkan, analisa korelasi kelompok placebo antara jumlah limfosit T CD4+ dan IL-2 adalah (-0,018), yang artinya arah hubungan korelasi negatif, yaitu semakin besar nilai satu variabel, diikuti penurunan nilai variabel lainnya. Secara statistik nilai  $p > 0,005$  tidak terdapat korelasi bermakna antara variabel yang dihubungkan. Hal ini kemungkinan karena tidak terkontrolnya asupan nutrisi pada pasien yang berperan penting dalam sistem imun pada tubuh.

Hasil ini sesuai dengan penelitian Laksono<sup>10</sup> yang menunjukkan tidak terdapat korelasi antara IL-2 dan limfosit T CD4+ dengan hasil tidak signifikan dan tidak terjadi peningkatan antara IL-2 dan CD4+. Beberapa faktor yang mempengaruhi tidak adanya korelasi adalah lamanya penelitian yang bisa dijadikan salah satu penyebab tidak adanya peningkatan yang seimbang pada jumlah limfosit T CD4+ dan kadar IL-2. Umumnya penelitian herbal dilakukan  $\pm 6$  bulan, sehingga dapat dilihat bagaimana efektifitas herbal tersebut pada sistem imun.<sup>10</sup>

Bass<sup>98</sup> dalam penelitiannya menyatakan bahwa tidak terdapatnya korelasi antara jumlah limfosit T CD4+ dan kadar IL-2, dapat disebabkan karena gangguan respon proliferasi mitogens yang berkorelasi dengan penurunan ekspresi dari reseptor IL-2 dan peningkatan ekspresi HLA-DR antigen yang berkaitan dengan jumlah limfosit T CD4+ pada pasien HIV. Gangguan fungsional proliferasi ini terkait dengan perubahan respon imun pada pasien HIV-1 yang sebagian besar *phenotypic markers* dengan fungsi yang berubah-ubah karena disregulasi proliferasi oleh limfosit T CD4+. Kawamura menambahkan penurunan fungsi peranan Dendritic cell (DC) sebagai imunopatogenesis pada penyakit HIV yang akan

mempengaruhi respon APC pada limfosit T CD4+, yang akan merangsang proliferasi CD4 dan produksi IL-2, diperantai oleh produksi ikatan gp120 pada pasien HIV.<sup>99</sup>

Korelasi kearah negatif pada kelompok ekstrak bisa dikarenakan mekanisme peningkatan jumlah limfosit T CD4+ yang mengekspresikan CD38 dan HLA-DR menunjukkan aktifasi imun kronik, yang mempengaruhi deregulasi sitokin memproduksi peningkatan produksi sitokin pro-inflamasi seperti IL-1, TNF, IL-6 serta penurunan TH1, seperti IL2 dan IFN. produksi IL-2 endogen yang berkurang akan mempengaruhi berkurangnya reseptor IL-2 Jumlah limfosit T CD4+ dan CD8 yang tidak seimbang dapat merusak antigen-antigen tertentu.<sup>99</sup>

Analisis secara subjektif dengan laporan harian pasien selama mengkonsumsi EKBM, menunjukkan 15 pasien kelompok EKBM dengan efek positif sebesar 75% , efek positif yang dirasakan adalah badan tidak mudah lelah, buang air besar menjadi lancar dan nafsu makan yang bertambah. Kelompok placebo menunjukkan efek positif hanya 45% dengan jumlah 9 pasien merasa badan terasa ringan dan menambah nafsu makan.

Variasi hasil individu dapat dikarenakan perbedaan *allele* dan Polimorfisme dalam setiap individu yang disebabkan terjadinya variasi ekspresi susunan basa DNA dan perbedaan kromosomnya. Polimorfisme pada enzim dapat meningkatkan efek toksik dari obat. Keterlibatan gen dan protein akan berpengaruh terhadap respon tubuh terhadap suatu produk *adjuvant* dan obat. Maka, perlunya pendekatan farmakogenomik yang dapat yang dapat menjelaskan variasi respon dari setiap individu terhadap obat yang diberikan, respon ini erat kaitannya dengan perbedaan genetik setiap individu..

Faktor lain yang mempengaruhi adalah respon imun yang berbeda pada setiap individu yang dipengaruhi faktor imunogenetika, salah satunya adalah sistem HLA (*Human Leucocyte Antigen*) pada setiap individu yang akan menunjukkan ekspresi karakteristik yang berbeda. Perananan HLA berhubungan dengan jumlah limfosit T CD4+. HLA berhubungan

dengan MHC kelas II atau disebut sel APC untuk presentasi antigen pada limfosit T CD4+. MHC (*Major histocompatibility complex*) mengendalikan respon imun dan ekspresi antigen.

### **Keterbatasan Penelitian**

Keterbatasan Penelitian ini adalah :

1. Tes *Viral load* yang merupakan *Gold standart* pada pasien tidak diperiksa pada penelitian ini, sehingga kurangnya data penunjang dalam melihat efektifitas EKBM terhadap pasien, baik sebelum dan sesudah perlakuan.
2. *Confounding factor* seperti ketaatan minum obat dan asupan makanan pada penelitian ini tidak sepenuhnya terkontrol.
3. Penelitian ini dilakukan 30 hari, akan lebih baik jika waktu penelitian diperpanjang.
4. Perlu uji lanjutan mengenai pengaruh ekstrak kulit buah manggis terhadap Nf-Kb dan pendekatan secara farmakogenetik.