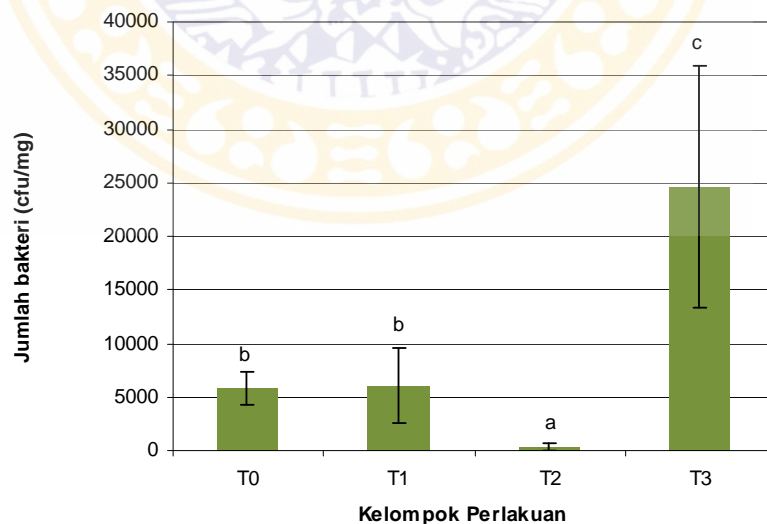


BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

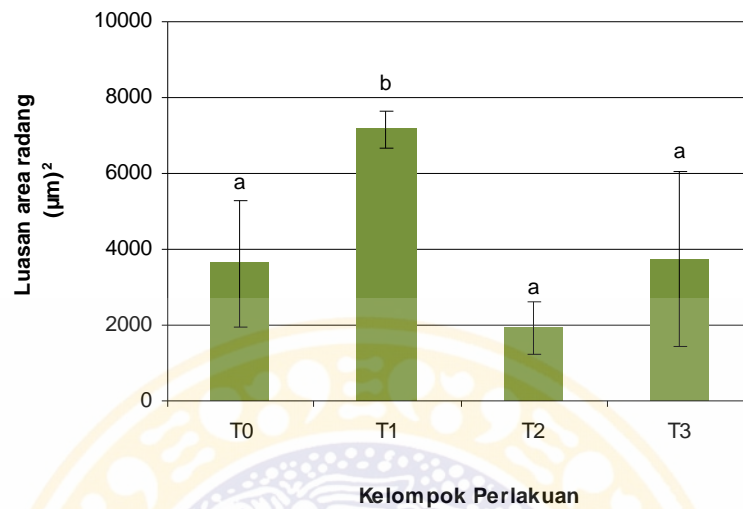
Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak tiga jenis teripang yang berasal dari Pantai Timur Surabaya (*Paracaudina australis*, *Phyllophorus sp.* dan *Colochirus quadrangularis*) dapat meningkatkan respon imun berdasar pengaruhnya terhadap hepar mencit yaitu jumlah bakteri yang mencapai hepar dan luasan area radang di jaringan hepar setelah infeksi *E. coli*. Nilai rerata jumlah bakteri yang mencapai hepar (cfu/mg) dan luasan area radang pada hepar (μm^2) ditunjukkan oleh Gambar 4.1 dan Gambar 4.2.



Gambar 4.1. Diagram rerata jumlah bakteri yang mencapai hepar. Notasi huruf yang sama menunjukkan adanya beda signifikan antar kelompok perlakuan berdasarkan uji *Mann-Whitney* pada $\alpha = 0,05$.

Pada Gambar 4.1 berdasarkan analisis data dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan ada beda signifikan yaitu 0,0248 (Lampiran 3). Untuk mengetahui signifikansi tiap dua kelompok perlakuan maka dilakukan uji lanjutan menggunakan uji *Mann-Whitney*. Hasil analisis uji *Mann-Whitney* untuk kelompok T0 terhadap kelompok T1 menunjukkan tidak beda signifikan yaitu 0,827 ($P > 0,05$), kelompok T0 terhadap kelompok T2 menunjukkan beda signifikan yaitu 0,045 ($P < 0,05$), kelompok T0 terhadap kelompok T3 menunjukkan beda signifikan yaitu 0,049 ($P < 0,05$), kelompok T1 terhadap kelompok T2 menunjukkan beda signifikan yaitu 0,049 ($P < 0,05$), kelompok T1 terhadap kelompok T3 menunjukkan beda signifikan yaitu 0,049 ($P < 0,05$), kelompok T2 terhadap kelompok T3 menunjukkan beda signifikan yaitu 0,049 ($P < 0,05$).

Jumlah bakteri yang mencapai hepar pada kelompok T1 tidak beda signifikan terhadap kelompok T0 sedangkan kelompok T2 dan T3 menunjukkan adanya beda signifikan terhadap T0, sehingga untuk hipotesis tidak ada pengaruh pemberian ekstrak teripang *Paracaudina australis* terhadap *E. coli* pada hepar dinyatakan diterima (terima H_01) sedangkan untuk hipotesis tidak ada pengaruh pemberian ekstrak teripang *Phyllophorus sp.* terhadap *E. coli* pada hepar dinyatakan ditolak (tolak H_02) dan untuk hipotesis tidak ada pengaruh pemberian ekstrak teripang *Colochirus quadrangularis* terhadap *E. coli* pada hepar dinyatakan ditolak (tolak H_03).



Gambar 4.2. Diagram rerata luasan area radang pada hepar. Notasi huruf yang sama menunjukkan adanya beda signifikan antar kelompok perlakuan berdasarkan uji *Mann-Whitney* pada $\alpha = 0,05$.

Pada Gambar 4.2 berdasarkan analisis data dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan ada beda signifikan yaitu 0,04343 (Lampiran 3). Untuk mengetahui signifikan tiap dua kelompok perlakuan, dilakukan uji lanjutan menggunakan uji *Mann-Whitney*. Hasil analisis uji *Mann-Whitney* untuk kelompok T0 terhadap kelompok T1 menunjukkan beda signifikan yaitu 0,049 ($P < 0,05$), kelompok T0 terhadap kelompok T2 menunjukkan tidak beda signifikan yaitu 0,126 ($P > 0,05$), kelompok T0 terhadap kelompok T3 menunjukkan tidak beda signifikan yaitu 0,827 ($P < 0,05$), kelompok T1 terhadap kelompok T2 menunjukkan beda signifikan yaitu 0,049 ($P < 0,05$), kelompok T1 terhadap kelompok T3 menunjukkan beda signifikan yaitu 0,049 ($P < 0,05$), kelompok T2 terhadap kelompok T3 menunjukkan tidak beda signifikan yaitu 0,126 ($P > 0,05$).

Luasan area radang pada hepar menunjukkan bahwa kelompok T2 dan T3 tidak ada beda signifikan dengan kelompok T0 sedangkan kelompok T1 menunjukkan adanya beda signifikan terhadap T0, sehingga untuk hipotesis tidak ada pengaruh pemberian ekstrak teripang *Paracaudina australis* terhadap luasan area radang pada hepar dinyatakan ditolak (tolak H_04), untuk hipotesis tidak ada pengaruh pemberian ekstrak teripang *Phyllophorus sp.* terhadap luasan area radang pada hepar dinyatakan diterima (terima H_05) dan untuk hipotesis tidak ada pengaruh pemberian ekstrak teripang *Colochirus quadrangularis* terhadap luasan area radang pada hepar dinyatakan diterima (terima H_06).

4.2. Pembahasan

Antigen merupakan benda asing (seperti bakteri, virus) yang tidak dikenali oleh tubuh dan dapat memacu respon imun. Antigen yang masuk ke dalam tubuh akan dihadang oleh sistem pertahanan tubuh baik sistem imun nonspesifik maupun sistem imun spesifik. Menurut Campbell *et al.* (2004), sistem imun non spesifik berperan sebagai respon awal terhadap antigen untuk mencegah, mengontrol dan mengeliminasi terjadinya infeksi pada inang, merangsang terjadinya imunitas spesifik untuk mengoptimalkan efektifitas kerja dan hanya bereaksi terhadap antigen, bahan akibat kerusakan sel dan memberikan respon yang sama untuk infeksi berulang. Subowo (2009) menambahkan apabila tubuh terpapar oleh antigen, maka akan terjadi mobilisasi unsur-unsur fagositik (sel makrofag dan sel neutrofil) menuju tempat adanya konfigurasi asing tersebut dan merupakan bagian dari proses radang.

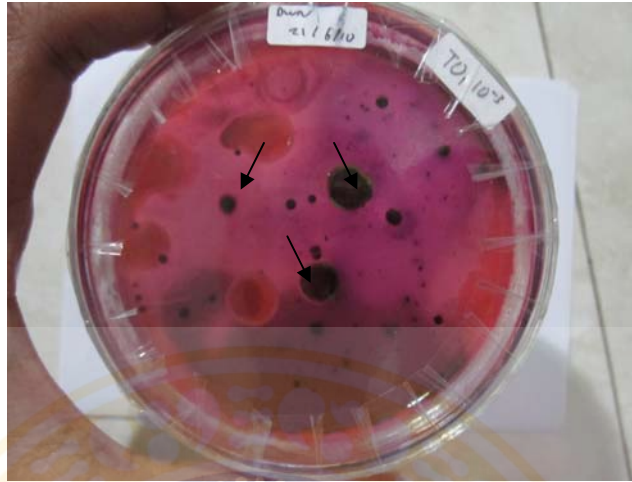
Penelitian yang dilakukan ini adalah untuk mengkaji potensi kandungan dari tiga jenis teripang lokal yang ada di Pantai Timur Surabaya (*Paracaudina australis*, *Phyllophorus sp.* dan *Colochirus quadrangularis*). Indikator dalam penelitian ini adalah jumlah bakteri yang mencapai hepar dan luasan area radang pada jaringan hepar. Area radang dicirikan oleh adanya migrasi leukosit di jaringan.

Agen infeksius (antigen) yang digunakan pada penelitian ini adalah *Escherichia coli* yang diinjeksikan secara intraperitoneal. Berdasarkan Leenderste *et al.* (2009), respon imun yang nampak setelah infeksi bakteri secara intraperitoneal adalah terpicunya makrofag sebagai pertahanan awal pada rongga peritoneal. Dunn *et al.* (1985) menyatakan bahwa garis pertama dari pertahanan inang selama peritonitis yang disebabkan bakteri *Escherichia coli* adalah ditentukan oleh kapasitas makrofag peritoneal dan sistem limfa untuk menonaktifkan dan mengeliminasi bakteri.

Makrofag merupakan respon *innate* yang menjadi pertahanan paling depan, berperan sebagai fagosit akan menjulurkan kaki semu (*pseudopodia*) untuk menempel pada polisakarida di permukaan bakteri dan menelan bakteri, yang kemudian bakteri akan dirusak oleh enzim-enzim di dalam lisosom makrofag tersebut (Chambell *et al.*, 2004). Selama proses fagositosis antigen, makrofag juga berperan sebagai *Antigen Presenting Cell* (APC), yaitu dengan mempresentasikan fragmen antigen pada sel Th bersama dengan *major histocompatibility complex* (MHC) kelas I dan kelas II (Goldsby *et al.*, 2003). Reseptor pada makrofag yang berperan untuk mengenali dan mengikat antigen sehingga mengaktifkan fagositosis adalah CD14,

Toll Like Receptors (TLR) 4, scavenger reseptor dan mannose reseptor (Baratawidjaja, 2006; Taylor *et al.*, 2005). Sedangkan sitokin, yang merupakan protein sistem imun untuk mengatur interaksi antarsel dan memacu reaktivitas imun, yang disekresikan oleh makrofag antara lain IL-1, IL-6, IL-12, IFN- α , TNF- α dan TGF- β (Baratawidjaja, 2006; Goldsby *et al.*, 2003).

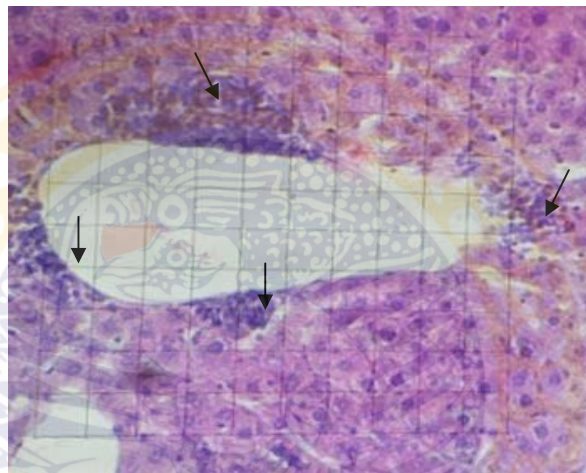
Antigen, dalam hal ini bakteri, yang lolos dari sistem penjagaan makrofag akan berhadapan dengan neutrofil. Sunarno (2007) menyatakan bahwa neutrofil berperan penting pada tahap ini karena sebagai pertahanan untuk menghambat bakteri agar tidak masuk ke sirkulasi melalui pembuluh limfe yang kemudian melakukan invasi ke jaringan seperti hepar dan limpa. Neutrofil dikenal sebagai fagosit *polymorphonuclear* (PMN) dan banyak tersebar di sirkulasi. Neutrofil akan menuju tempat antigen karena adanya rangsangan kemotaksis yang berasal dari produk bakteri, produk sel yang rusak dan mediator inflamasi (Goldsby *et al.*, 2003; Roitt *et al.*, 1996; Sunarno 2007). Peran neutrofil sama seperti makrofag yaitu sebagai fagositosis. Namun neutrofil bukan sebagai APC karena tidak memiliki molekul MHC sehingga setelah mencapai tempat yang terinfeksi, neutrofil akan menelan antigen kemudian menghancurkannya dan neutrofil akan menjadi inaktif dan mati (Baratawidjaja, 2006; Guyton & Hall, 1997). Reseptor yang ada pada neutrofil adalah Fc γ -R (untuk IgG) dan komplemen (Baratawidjaja, 2006).



Gambar 4.3. Koloni *Escherichia coli* (tampak berwarna hijau metalik dalam media EMB yang ditunjuk tanda panah)

Pada infeksi selanjutnya, bakteri yang lolos akan masuk ke sirkulasi darah. Menurut Sunarno (2007), makrofag juga berpotensi terinfeksi bakteri sehingga memungkinkan membawa bakteri tersebut masuk ke dalam sirkulasi. Di dalam sirkulasi ini akan ada proses perlawanan sistem imun tubuh terhadap antigen, yang berperan di sini selain neutrofil dan sel mast, juga ada komplemen. Komplemen adalah sekelompok protein dalam serum berperan sebagai sistem pertahanan yaitu untuk melisis sel target (membran patogen), mengaktifkan respon inflamasi (radang) dan opsonisasi (Baratawidjaja, 2006; Bellanti 1993; Goldsby *et al.*, 2003; Roitt *et al.*, 1996). Rifai (2011) menjelaskan bahwa pengenalan patogen juga memicu terjadinya inflamasi melalui jalur komplemen. Salah satu substansi penting yang dihasilkan setelah reaksi komplemen adalah C5a. C5a merupakan peptida yang memperantarai terjadinya inflamasi dengan berbagai macam aktivitas. C5a selain meningkatkan permeabilitas vaskuler dan ekspresi molekul adhesi juga berfungsi

sebagai *chemoattractant* untuk menarik neutrofil dan monosit, serta mengaktifkan sel *mast* dan fagositosis. Pengaruh C5a terhadap sel-sel tersebut mengakibatkan terjadinya pelepasan granula yang berisi histamin dan TNF- α yang merupakan molekul penting pada proses inflamasi.



Gambar 4.4. Gambaran histologi hepar (dengan perbesaran 400x dan menggunakan graticulae. Tampak beberapa lokasi area radang ditunjuk tanda panah)

Bakteri di dalam makrofag akan mencapai berbagai organ retikuloendotel terutama limpa dan hepar (melalui aliran darah), akan mengalami fagositosis oleh sel fagosit mononuklear (Murtini, 2006). Kumar *et al.* (2004) menjelaskan bahwa infeksi yang menyebar melalui pembuluh darah disebut bakteremia, memungkinkan dapat menyebabkan kolonisasi bila mencapai organ seperti jantung, hati atau limpa. Peristiwa inflamasi ini juga menimbulkan reaksi limfosit. Limfosit T akan bekerja setelah mengenal antigen yang dipresentasikan oleh APC sedangkan limfosit B mempunyai kemampuan secara langsung untuk merespon antigen dengan

mensekresikan antibodi. Limfosit B memiliki kemampuan untuk menelan bakteri dan berlaku sebagai APC (Rifai, 2011). Semakin kuat sistem imunitas tubuh maka akan semakin memperkecil kesempatan bakteri untuk lolos dan mencapai hepar sehingga menurunkan luasan area radang pada hepar.

Penelitian ini menggunakan *Eschericia coli* sebagai agen infeksius. Bakteri ini termasuk bakteri gram negatif yang pada dinding bakteri tersebut mengandung endotoksin. Endotoksin merupakan lipid dan termasuk bagian dari lipopolisakarida (LPS) lipid A. Endotoksin berperan sebagai penginduksi *interleukin* (IL) 1 dari makrofag (Purwoko, 2007). LPS berperan sebagai *Pathogen Asociated Molecular Pattern* (PAMPs) yang dapat dikenali oleh fagosit. Ketika LPS berada di dalam cairan tubuh maka akan diikat oleh suatu protein plasma yang disebut *LPS-Binding Protein* (LBP). Ikatan LPS-LBP akan berikatan dengan CD14 dan TLR4, yang kemudian ikatan tersebut akan memicu produksi sitokin dan kemokin (Burmester & Pezzuto, 2003).

Dari hasil penelitian ini untuk kelompok T1 yaitu dengan pemberian ekstrak teripang *Paracaudina australis*, jumlah bakteri pada hepar dan luasan area radang pada jaringan hepar tidak menunjukkan penurunan yang signifikan bila dibandingkan dengan kelompok T0 (kontrol). Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena faktor dosis yang diberikan dalam jumlah setara dengan 0,0548 g berat kering/ 20 g BB mencit belum mampu meningkatkan efektifitas fagositosis.

Pada kelompok T2 yaitu dengan pemberian ekstrak *Phyllophorus sp.* menunjukkan penurunan jumlah bakteri pada hepar dan luasan area radang pada

jaringan hepar jika dibandingkan dengan kelompok T0. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak *Phyllophorus sp.* berpotensi sebagai imunomodulator (imunostimulator) dan juga dosis yang diberikan sudah tepat yaitu setara dengan 0,0548 g berat kering/ 20 g BB mencit, sehingga mampu meningkatkan efektifitas reseptor fagosit yaitu dapat menelan lebih banyak bakteri sehingga menekan jumlah bakteri yang berusaha lolos. Dengan meningkatnya efektifitas reseptor pada fagosit tersebut maka fagosit mampu menelan bakteri lebih banyak lagi sehingga mencegah bakteri untuk lolos dan menginvasi hepar. Hal tersebut berdasarkan Aminin *et al.* (2006) bahwa ekstrak teripang mampu meningkatkan efektifitas fagositosis yaitu pada aktifitas lisosom dan ekspresi reseptor fagosit.

Sedangkan kelompok T3 yang diberi ekstrak *Colochirus quadrangularis*, menunjukkan jumlah bakteri pada hepar meningkat daripada kelompok T0 namun luasan area radang pada jaringan hepar tidak meningkat jika dibandingkan dengan kelompok T0. Hal tersebut menunjukkan adanya peran immunosupresor yaitu terjadi penekanan respon imun yang menyebabkan bakteri dapat lolos dari sistem pertahanan tubuh dan juga menimbulkan efek antiinflamasi yaitu justru menurunkan respon radang. Adanya sifat immunosupresi biasanya disebabkan karena tingginya jumlah dosis yang diberikan (Baratawidjaja, 2006). Aminin *et al.* (2006) menambahkan bahwa jumlah dosis yang terlalu tinggi mampu mengubah aktifitas kandungan bioaktif teripang dari sifat imunostimulator menjadi immunosupresor. Dengan demikian pemberian dosis setara dengan 0,0548 g berat kering/ 20 g BB mencit adalah terlalu tinggi sehingga menimbulkan efek immunosupresi.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa dari ketiga jenis teripang lokal Pantai Timur Surabaya yang paling berpotensi sebagai imunostimulator adalah *Phyllophorus sp.*, yaitu mampu meningkatkan respon imun sehingga menekan jumlah bakteri yang bermigrasi ke hepar dan memperkecil luasan area radang pada jaringan hepar.

