

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Pengaruh Terapi Kombinasi terhadap Sel Kupffer

Sel kupffer merupakan sel monosit yang berada di jaringan hepar. Sel kupffer memiliki peranan penting dalam pertahanan tubuh dan perkembangan penyakit hepar. Salah satu peran penting dari sel kupffer adalah degradasi hemoglobin. Sel darah merah yang malformasi akan dibersihkan oleh sel kupffer melalui *scavenger receptor* kelas A tipe I dan II. Setelah terjadi ikatan dengan *scavenger receptor*, hemoglobin akan didegradasi melalui enzim hemeoksidase. Selain itu, aktivasi sel kupffer oleh pajanan endotoksin bakteri gram negatif dan juga faktor komplemen C3a dan C5a, menyebabkan reaksi inflamasi dan juga mengaktifkan enzim NADPH oksidase yang membantu menghancurkan organisme yang difagositosis dengan cara menghasilkan *oxide anions* (Bilzer dkk, 2006).

Berdasarkan hasil analisis data, terlihat bahwa dengan pemberian terapi kombinasi artesunat dan ekstrak batang brotowali dosis 50mg/hari terjadi kenaikan jumlah sel kupffer yang signifikan dibandingkan dengan pemberian brotowali ataupun artesunat saja. Ekstrak brotowali memiliki efek imunostimulan. Ekstrak brotowali dapat mengaktifkan *cell-mediated immunity* dengan meningkatkan aktivitas fagosit dan kemotaksis dari neutrofil melalui peningkatan ekspresi sitokin proinflamasi. Selain itu, ekstrak brotowali juga dapat meningkatkan produksi sitokin Th1 dan Th2 (Waqas dkk, 2015). Ekstrak brotowali memiliki efek imunostimulan melalui stimulasi ekspresi *Interferon Gamma* (IFN- γ), *Interleukin-6* (IL-6), and IL-8. Dari hasil *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS) menunjukkan bahwa terdapat empat komponen aktif yang ada pada brotowali yaitu *cordioside*, *quercetin*, *eicosenoic acid*, dan

boldine yang memiliki efek sebagai imunostimulan (Walaa dkk, 2014). Efek imunostimulan yang dimiliki brotowali tersebut yang menyebabkan peningkatan sel kupffer di jaringan hepar.

6.2 Pengaruh Terapi Kombinasi terhadap *Vacuolated Cell*

Vakuolisasi sitoplasma dapat terjadi secara spontan ataupun sebagai akibat induksi bahan stimulan. Vakuola pada sel *vacuolated* terbentuk dari fragmentasi retikulum endoplasma halus yang mengalami dilatasi (Nikolaus dan Werner, 2004). Secara mikroskopik, bisa tampak vakuola kecil itu menggambarkan segmen retikulum endoplasma yang berdistensi dan menekuk (Robbins dan Cotran, 2010).

Berdasarkan hasil analisis data jumlah *vacuolated cell* hari ke-7, terapi kombinasi artesunat dengan ekstrak batang brotowali dosis 50mg/hari dapat menurunkan jumlah *vacuolated cell* secara signifikan. Dari hasil penelitian mengenai struktur dan aktivitas antimalaria dari artemisinin, diketahui artemisinin memiliki senyawa endoperoksida yang berperan penting dalam aktivitas antimalarianya. Senyawa tersebut bekerja secara cepat dalam eradikasi stadium aseksual eritrositik dari *P. vivax* dan *P. falciparum*. Sewaktu digunakan sebagai obat tunggal, artemisinin menyebabkan terjadinya rekrudesensi parasit (Saphiro dan Goldberg, 2006). Brotowali dengan kandungan alkaloid didalamnya memiliki aktivitas sebagai antimalaria yang dapat menghambat perkembangan Plasmodium (Muti'ah dkk, 2010). Sehingga artesunat yang diberikan selama 3 hari yang bekerja secara cepat dalam eradikasi stadium aseksual eritrositik dari *P. vivax* dan *P. falciparum* (Saphiro dan Goldberg, 2006) dan batang brotowali dengan kandungan alkaloid di dalamnya yang terbukti efektif sebagai obat antimalaria (Muti'ah dkk, 2010) dapat diberikan sebagai terapi kombinasi yang terbukti lebih efektif dalam menurunkan jumlah *vacuolated cell* dibandingkan perlakuan yang

lain dengan cara menurunkan *free radical* yang diproduksi oleh makrofag yang teraktivasi sebagai respon adanya Plasmodium (Zhai dkk 2012).

Selain aktivitas brotowali sebagai antimalaria, brotowali juga memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Batang brotowali (*Tinospora crispa* (L.) Miers) memiliki aktivitas antiradikal berdasarkan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazin (DPPH) dan memiliki kandungan senyawa kumarin dan flavonoid. Pada fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan tertinggi, diikuti oleh fraksi air, ekstrak etanolik, dan fraksi nheksana (Irianti dkk, 2011). Aktivitas brotowali sebagai antioksidan tersebut dapat mengurangi kerusakan jaringan hepar.

Semakin meningkatnya dosis ekstrak batang brotowali (*Tinospora crispa*) pada terapi kombinasi, terjadi peningkatan jumlah *vacuolated cell*. Peningkatan jumlah *vacuolated cell* terjadi pada kelompok kombinasi II dan III. Hal tersebut karena pada pemberian terapi kombinasi artesunat dan ekstrak batang brotowali yang melebihi dosis optimal (50mg/hari) dapat menimbulkan toksisitas terhadap jaringan hepar. Hal tersebut dibuktikan pada jurnal yang ditulis oleh Langrand tahun 2014, dilaporkan kasus hepatitis akut yang terkait dengan penggunaan kronis dosis tinggi *Tinospora crispa* (Langrand dkk, 2014). Efek toksik tersebut akan menginduksi terjadinya degenerasi sel, salah satunya dibuktikan dengan peningkatan jumlah *vacuolated cell*.

6.3 Pengaruh Terapi Kombinasi terhadap Sel Nekrosis

Sel nekrosis terjadi ketika suplai darah hilang atau setelah terpajan toksin dan ditandai dengan pembengkakan sel, denaturasi protein dan kerusakan organela. Morfologi dari sel nekrosis merupakan hasil dari denaturasi protein intraseluler dan pencernaan enzimatis dari sel yang terluka. Sel nekrosis tidak dapat menjaga integritas membran sehingga seringkali isinya keluar dan menyebabkan respon inflamasi (Robbins dan Cotran, 2010).

Berdasarkan hasil analisis data jumlah sel nekrosis hari ke-7, pemberian terapi kombinasi artesunat dengan ekstrak batang brotowali dosis 50mg/hari lebih efektif menurunkan jumlah sel nekrosis dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain. Dari hasil penelitian mengenai struktur dan aktivitas antimalaria dari artemisinin, diketahui artemisinin memiliki senyawa endoperoksida yang berperan penting dalam aktivitas antimalariannya. Senyawa tersebut bekerja secara cepat dalam eradikasi stadium aseksual eritrositik dari *P. vivax* dan *P. falciparum*. Potensi obat tersebut dalam eradikasi parasit malaria 10-100 kali lipat lebih besar dibandingkan dengan obat antimalaria yang lain. Sewaktu digunakan sebagai obat tunggal, artemisinin menyebabkan terjadinya rekrudesensi parasit. (Saphiro dan Goldberg, 2006). Brotowali dengan kandungan alkaloid didalamnya memiliki aktivitas sebagai antimalaria yang dapat menghambat perkembangan Plasmodium (Muti'ah dkk, 2010). Sehingga artesunat yang diberikan selama 3 hari yang bekerja secara cepat dalam eradikasi stadium aseksual eritrositik dari *P. vivax* dan *P. falciparum* (Saphiro dan Goldberg, 2006) dan batang brotowali dengan kandungan alkaloid di dalamnya yang terbukti efektif sebagai obat antimalaria (Muti'ah dkk, 2010) dapat diberikan sebagai terapi kombinasi yang terbukti lebih efektif dalam menurunkan jumlah sel nekrosis dibandingkan perlakuan yang lain dengan cara dengan cara menurunkan *free radical* yang diproduksi oleh makrofag yang teraktivasi sebagai respon adanya Plasmodium (Zhai dkk 2012).

Selain aktivitas brotowali sebagai antimalaria, brotowali juga memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Batang brotowali (*Tinospora crispa* (L.) Miers) memiliki aktivitas antiradikal berdasarkan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazin (DPPH) dan memiliki kandungan senyawa kumarin dan flavonoid. Pada fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan tertinggi, diikuti oleh fraksi air, ekstrak etanolik, dan fraksi nheksana (Irianti dkk, 2011). Aktivitas brotowali sebagai antioksidan tersebut dapat mengurangi kerusakan jaringan hepar.

Meningkatnya dosis ekstrak batang brotowali (*Tinospora crispa*) pada terapi kombinasi, terjadi peningkatan jumlah sel nekrosis. Peningkatan jumlah sel nekrosis terjadi pada kelompok kombinasi II dan III. Hal tersebut karena pada pemberian terapi kombinasi artesunat dan ekstrak batang brotowali yang melebihi dosis optimal (50mg/hari) dapat menimbulkan toksisitas terhadap jaringan hepar. Hal tersebut dibuktikan pada jurnal yang ditulis oleh Langrand tahun 2014, dilaporkan kasus hepatitis akut yang terkait dengan penggunaan kronis dosis tinggi *Tinospora crispa* (Langrand dkk, 2014). Efek toksik tersebut akan menginduksi terjadinya degenerasi sel yang salah satunya ditandai dengan peningkatan jumlah sel nekrosis.

Keterbatasan dari penelitian ini adalah pada perhitungan sel nekrosis yang bersifat semikualitatif karena peneliti hanya menghitung sel nekrosis yang membran selnya masih terlihat jelas. Selain itu, perlu adanya uji toksisitas pada ekstrak batang brotowali (*Tinospora crispa* L. Miers) pada dosis yang berbeda.