

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Penelitian ini dilaksanakan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak kulit manggis terhadap konsentrasi NO pada kultur endotel dari HUVECs yang diberi paparan lipopolisakarida dan diamati dalam dua waktu, yaitu jam ke – 6 dan jam ke – 24.

#### 6.1 Pengaruh LPS terhadap konsentrasi NO pada kultur HUVECs

Pada penelitian ini ada empat kelompok yang telah dipapar oleh LPS sebagai pemicu adanya stress oksidatif. Empat kelompok tersebut adalah kontrol positif, EKM 1, EKM 2, dan EKM 3. Untuk melihat pengaruh LPS terhadap kadar NO pada HUVECs bisa dilihat dari kelompok kontrol positif dimana kultur HUVECs telah dipapar dengan LPS 20ng/ml. Didapatkan penurunan kadar NO pada kelompok tersebut jika dibandingkan dengan kontrol negatif( media HUVECs tanpa LPS dan EKM). Konsentrasi NO yang didapat pada kelompok kontrol positif 6 jam sejumlah 2,611, jika dibandingkan dengan kontrol negative 6,653. Hal ini terus terjadi hingga 24 jam setelah perlakuan, dimana kontrol positif sejumlah 2,822 sedangkan kontrol negatif sejumlah 12,172. Dapat dikatakan bahwa pemaparan LPS dosis 20 ng/ml selama 6 jam dan 24 jam mampu menurunkan konsentrasi NO pada HUVECs secara bermakna ( $p < 0,05$ ) dibandingkan kontrol negatif. Hasil ini sejalan dengan penelitian Nugrahenny *et al.* (2012) dimana stress oksidatif menyebabkan penurunan kadar NO pada HUVECs.

Hal ini dapat terjadi karena LPS merupakan salah satu pemicu stress oksidatif pada sel endotel pembuluh darah. Adanya LPS dalam sirkulasi akan mengaktifkan jalur *signaling* sel endotel yang akhirnya akan mengaktifkan sitokin – sitokin seperti NF- $\kappa$ B. Aktivasi NF- $\kappa$ B yang diinduksi LPS akan memediasi sel endotel meningkatkan produksi IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$ , ekspresi E-selektin, ICAM-1, dan VCAM-1. Aktifnya sitokin-sitokin proinflamasi tersebut akan menciptakan keadaan stres oksidatif melalui peningkatan produksi ROS (Bannerman dan Goldblum, 2003;

Corda *et al.*, 2001). ROS ini dapat berikatan dengan eNOS dan NO dalam sistem vaskuler tubuh. Reaksi ROS dengan eNOS akan mengakibatkan terjadinya eNOS *uncoupled*, yang berakibat eNOS akan lebih memproduksi ROS lebih banyak ketimbang NO, sehingga secara tidak langsung produksi NO akan menurun (Montezano dan Touyz, 2011). ROS yang bereaksi dengan NO, mengakibatkan juga turunnya NO dalam tubuh. Penurunan kadar NO akan mengakibatkan terganggunya regulasi sel endotel untuk melakukan migrasi. ROS juga dapat menghambat migrasi sel endotel secara langsung melalui kerusakan sitoskeleton dan gangguan polimerisasi aktin dari sel endotel. Penghambatan pada migrasi sel endotel mengakibatkan disfungsi endotel sehingga terjadi penyakit degeneratif vaskuler (Nugrahenny *et al.*, 2012; Aalst *et al.*, 2004).

## **6.2 Pengaruh ekstrak kulit manggis terhadap kadar NO pada HUVECs yang telah dipapar oleh LPS**

Berdasarkan hasil analisis bahwa konsentrasi NO setelah 6 jam perlakuan dengan uji Kuskal-Wallis didapatkan  $p = 0,017$  dimana nilai signifikansi yang diperoleh lebih kecil dari taraf nyata ( $p < 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan rata-rata konsentrasi nitric oxide pada masing-masing perlakuan (pemberian ekstrak kulit manggis). Dengan menggunakan uji Mann-Whitney terdapat perbedaan konsentrasi NO yang tidak signifikan ( $p = 0,513$ ) antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok EKM 1 (pemberian ekstrak kulit manggis  $1 \mu\text{g/ml}$ ), sehingga bisa dikatakan ekstrak kulit manggis dapat membantu menghambat penurunan konsentrasi NO pada HUVECs yang dipapar LPS. Sedangkan pada keadaan 24 jam setelah perlakuan tidak terjadi perbedaan yang signifikan antara kontrol positif dengan kelompok EKM1 maupun EKM 2. Sehingga dapat disimpulkan pada penelitian ini kelompok EKM 1 yang mengandung ekstrak kulit manggis  $1 \mu\text{g/ml}$  adalah dosis optimal untuk menghambat penurunan konsentrasi NO pada HUVECs yang telah dipapar oleh LPS.

Kemampuan ekstrak kulit manggis dalam meningkatkan konsentrasi NO pada HUVECs ini diduga disebabkan oleh kemampuan antioksidan pada ekstrak kulit manggis yang mampu

melindungi sel endotel dari serangan stres oksidatif karena terpapar LPS. Hal ini sesuai dengan penelitian dari Nakatani *et al.* (2004) dan Sargowo *et al.* (2010) dimana ekstrak kulit manggis memiliki kemampuan menurunkan sitokin-sitokin proinflamasi sehingga kadar ROS dalam pembuluh darah bisa turun dan eNOS bisa kembali menghasilkan NO untuk fungsi proteksi endotel. Seiring dengan hasil tersebut, penelitian dari Weecharansan *et al.* (2006) dan Jung *et al.* (2006) mengatakan bahwa ekstrak kulit manggis memiliki efek antioksidan yang kuat. Salah satu kandungan yang berperan sebagai antioksidan adalah xanton. Adanya aktivitas *scavenging* dari xanton dalam ekstrak kulit manggis terhadap radikal hidroksil dapat mengurangi ROS yang beredar. Kemampuan ekstrak kulit manggis dalam menekan ROS diduga mampu meningkatkan konsentrasi NO pada sel endotel akibat paparan LPS.

Hasil korelasi Spearman antara dosis ekstrak kulit manggis terhadap konsentrasi nitrit pada jam ke -6 terlihat bahwa nilai signifikansi yang diperoleh sebesar 0,395 dengan koefisien korelasi sebesar 0,271 dan bertanda negatif. Sedangkan pada jam ke-24 terlihat bahwa nilai signifikansi yang diperoleh sebesar 0,357 dengan koefisien korelasi sebesar 0,292 dan bertanda negatif. Nilai signifikansi yang lebih besar dari 0,05 dapat diartikan bahwa korelasi atau hubungan yang terjadi antara dosis ekstrak kulit manggis dengan konsentrasi NO adalah tidak signifikan. Koefisien yang bertanda negatif menunjukkan bahwa hubungan yang terjadi adalah tidak searah, artinya semakin tinggi dosis ekstrak kulit manggis yang diberikan maka konsentrasi nitrit akan semakin menurun.

Kelompok dengan pemaparan 1  $\mu\text{g/ml}$  ekstrak kulit manggis didapatkan besar migrasi HUVECs yang paling mendekati normal fisiologis seperti pada kontrol negatif. Namun pada konsentrasi 2  $\mu\text{g/ml}$  dan 4  $\mu\text{g/ml}$  didapatkan kecenderungan konsentrasi NO HUVECs yang menurun. Kecenderungan penurunan konsentrasi NO HUVECs pada kelompok yang dipapar LPS dan diberi ekstrak kulit manggis dosis 2 dan 4  $\mu\text{g/ml}$  dibandingkan dengan dosis 1  $\mu\text{g/ml}$  menimbulkan dugaan bahwa peningkatan dosis ekstrak kulit manggis lebih lanjut mengakibatkan penurunan aktivitas antioksidan dikarenakan ekstrak kulit manggis mulai

menimbulkan efek prooksidan terhadap HUVECs. Berdasarkan penelitian Cillard *et al.* (1980, 1979), seharusnya antioksidan pada dosis yang sesuai memiliki peran sebagai *free radical scavenger*. Aktivitas antioksidan ini dapat berubah menjadi prooksidan dan bekerja sebagai *free radical chain breaker* apabila konsentrasi antioksidan ini ditingkatkan.

Penelitian ini hanya menggunakan tiga kelompok dosis, sehingga belum diketahui pasti mulai dosis berapa ekstrak kulit manggis menjadi lebih dominan proinflamasi. Selain itu rentan waktu pengamatan hanya ada dua kelompok yaitu jam ke-6 dan jam ke-24, sehingga diperlukan rentan waktu pengamatan yang lebih banyak untuk melihat efek yang ditimbulkan.

Dengan demikian ekstrak kulit manggis dapat meningkatkan konsentrasi NO pada kultur endotel HUVECs yang telah dipapar lipopolisakarida dengan dosis optimum 1  $\mu\text{g/ml}$ .

