

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. HASIL

1. Analisa Data

Pengumpulan data dilakukan dengan pemeriksaan histologi untuk menentukan jumlah persebaran parasit *Plasmodium berghei* dan jumlah sel mikroglia pada preparat otak mencit. Penilaian jumlah persebaran parasit pada preparat otak mencit dibagi menjadi empat yaitu tidak ada, sedikit, sedang, dan banyak. Penilaian tersebut dikatakan “sedikit” apabila terlihat 1-2 parasit berwarna kecoklatan pada satu lapangan pandang. Dinilai “sedang” apabila terdapat beberapa parasit dalam satu lapangan pandang. Dinilai “banyak” apabila parasit terlihat menyebar secara merata dalam satu lapangan pandang. Jumlah sel mikroglia dapat diperiksa dan dinilai dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x. Hasil penilaian jumlah parasit pada preparat otak mencit dapat dilihat pada Tabel 2.

Data jumlah persebaran parasit *Plasmodium berghei* pada preparat otak mencit merupakan data kualitatif sehingga selanjutnya dianalisis dengan uji non-parametrik *Kruskal Wallis*. Berdasarkan hasil analisa statistik uji non-parametrik *Kruskal Wallis* (lampiran 2), didapatkan hasil nilai signifikansi $= 0,107 (> 0,05)$ sehingga jumlah persebaran parasit antar kelompok tidak

Tabel 2. Jumlah persebaran parasit *Plasmodium berghei* pada preparat otak mencit

Kelompok	No. Hewan Uji	Kategori Jumlah Parasit
K(-) Kontrol Negatif	1	Sedang
	2	Sedang
	3	Sedang
	4	Sedang
K(+) Kontrol Positif	1	Sedang
	2	Tidak ada
	3	Tidak ada
	4	Tidak ada
P (Perlakuan) Kombinasi ekstrak echinacea dosis 6,5 mg dan Klorokuin tablet	1	Tidak ada
	2	Tidak ada
	3	Sedikit
	4	Sedang

Penghitungan jumlah mikroglia dilakukan dengan menilai preparat histologi otak sebanyak lima lapang pandang, dan data hasil penghitungan jumlah sel mikroglia pada preparat otak mencit dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Jumlah mikroglia pada preparat otak mencit

Kelompok	No. Hewan Uji	Jumlah mikroglia per lima lapang pandang	Rata-rata
K(-) Kontrol Negatif	1	6	1,2
	2	17	3,4
	3	13	2,6
	4	15	3
K(+) Kontrol Positif	1	12	2,4
	2	9	1,8
	3	14	2,8
	4	10	2
P (Perlakuan) Kombinasi ekstrak echinacea dosis 6,5 mg dan Klorokuin tablet	1	21	4,2
	2	17	3,4
	3	23	4,6
	4	21	4,2

Setelah didapatkan data tersebut, dilakukan pengolahan data dengan program analisis statistik untuk melihat adanya perbedaan antar kelompok. Untuk pengujian analitik data harus diuji normalitas terlebih dahulu.

Hasil uji normalitas didapatkan nilai signifikansi pada *Shapiro-Wilk* (Lampiran 3) lebih besar dari 0,05 yang artinya bahwa data ini berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji parametrik menggunakan *One Way ANOVA* karena data ini berupa data kuantitatif, berdistribusi normal, tidak berpasangan, dan lebih dari dua kelompok.

Hasil uji parametrik dengan menggunakan *One Way ANOVA* (Lampiran 4) didapatkan nilai signifikansi 0,008 ($p < 0,05$), ini menunjukkan jumlah mikroglia antar kelompok memiliki perbedaan bermakna.

Untuk membandingkan kelompok mana yang memiliki perbedaan yang signifikan antara satu dengan lainnya, dilanjutkan dengan analisa *post hoc Tukey HSD*. Hasil analisa dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji analitik data jumlah mikroglia menggunakan uji *Tukey HSD*

Kelompok	Kelompok Pembanding	Nilai Signifikansi
Kontrol negatif	Kontrol positif	0,809
	Perlakuan	0,025
Kontrol positif	Kontrol negatif	0,809
	Perlakuan	0,009
Perlakuan	Kontrol negatif	0,025
	Kontrol positif	0,009

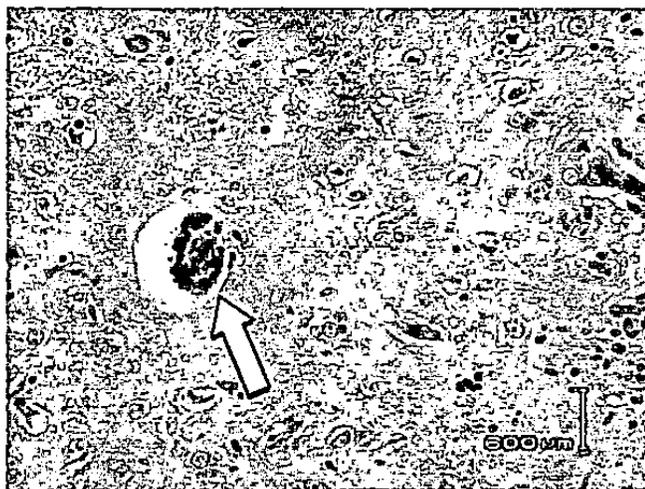
Hasil dari tabel uji *post hoc Tukey HSD* didapatkan bahwa : a). Antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif memiliki perbedaan yang tidak bermakna, dikarenakan memiliki nilai signifikansi 0,809.

($p > 0,05$); b). Antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang bermakna dikarenakan memiliki nilai signifikansi 0,025 ($p < 0,05$); c). Antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang bermakna dikarenakan memiliki nilai signifikansi 0,009 ($p < 0,05$).

2. Gambar Histologi

Berdasarkan hasil pengamatan preparat otak mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei* dengan menggunakan mikroskop cahaya, didapatkan gambaran *perivascular cuffing*, gambaran infark jaringan otak, gambaran persebaran parasit, dan gambaran jumlah mikroglia.

Gambaran histologi *perivascular cuffing* (Gambar 3) yaitu terdapatnya sel limfosit di ruangan sekitar pembuluh darah akibat terjadinya peradangan pada sistem syaraf pusat.



Gambar 3. *Perivascular cuffing* pada preparat kelompok kontrol negatif

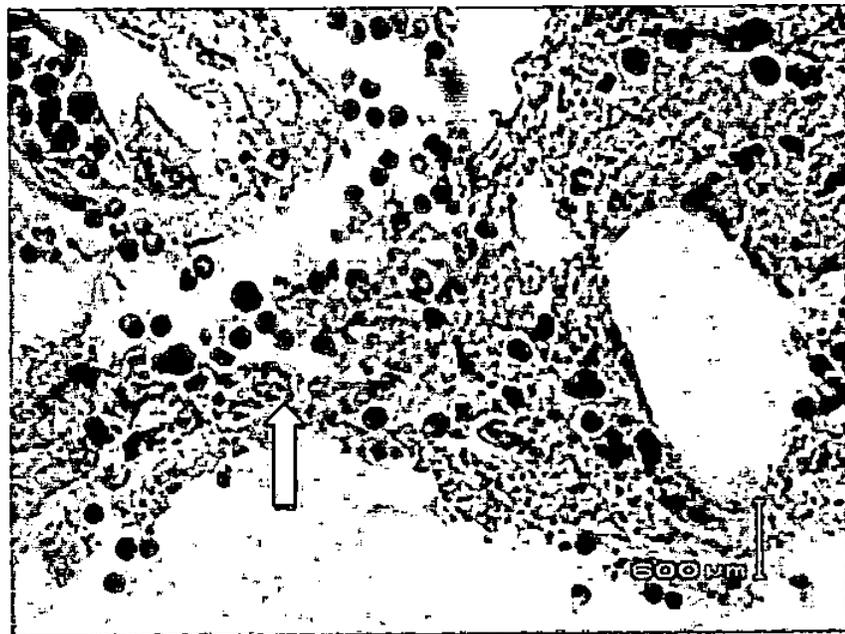
Terdapat gambaran infark (Gambar 4) pada jaringan otak mencit dari berbagai kelompok mencit sebagai akibat dari sumbatan pada pembuluh darah

yang disebabkan sitoadherensi eritrosit yang mengandung parasit pada endotel vaskuler.



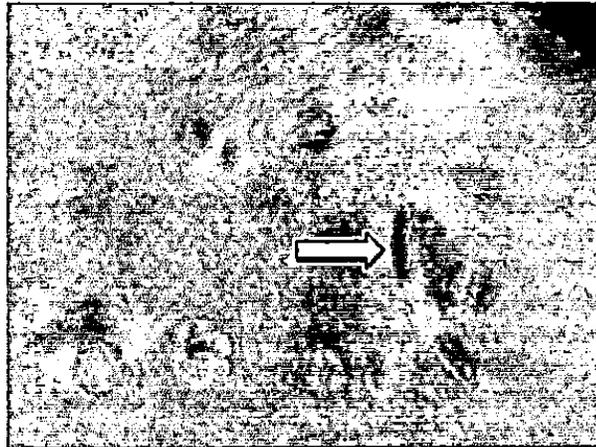
Gambar 4. Infark jaringan otak pada preparat kelompok perlakuan

Didapatkan juga persebaran parasit di otak mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei*, gambaran tersebut dapat dilihat pada Gambar 5.

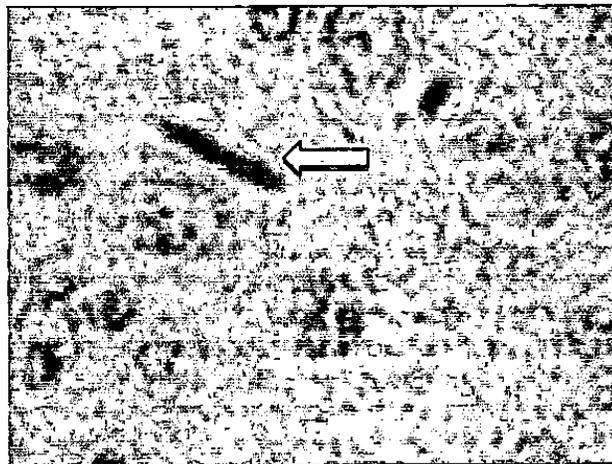


Gambar 5. Persebaran parasit *Plasmodium berghei* pada kelompok kontrol

Pada pengamatan preparat seluruh kelompok percobaan tampak gambaran mikroglia dengan perbesaran 400x sebagai respon imunitas terhadap adanya kerusakan jaringan dan parasit di otak mencit.



Gambar 6. Peningkatan aktivitas mikroglia pada preparat kontrol positif



Gambar 7. Peningkatan aktivitas mikroglia pada preparat kelompok perlakuan

B. PEMBAHASAN

Masing-masing kelompok mencit yang diinfeksi oleh *Plasmodium berghei* diperiksa persebaran parasit dan dihitung jumlah mikroglianya dengan cara

Hasil analisa *Kruskal Wallis* pada jumlah persebaran parasit menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan ($p > 0,05$), meskipun berdasarkan gambaran histologi terdapat jumlah persebaran parasit paling banyak dan merata pada kelompok kontrol negative. Hal ini disebabkan tidak ada pemberian terapi setelah mencit diinfeksi dengan *Plasmodium berghei* sehingga parasit dapat terus berkembang.

Pada kelompok kontrol positif didapatkan jumlah persebaran parasit yang paling sedikit. Hal tersebut berhubungan dengan pemberian terapi klorokuin dimana klorokuin memiliki mekanisme kerja dengan membentuk kompleks dengan *ferryprotoporphyrin* (FP IX) sehingga akan mengganggu permeabilitas membran parasit, meracuni vakuola sehingga dapat menghambat ambilan makanan pada parasit, dan meningkatkan pH sehingga metabolisme parasit terganggu (Syamsudin, 2005). Klorokuin sebagai obat skizontisidal dapat menurunkan densitas parasit pada fase eritrosit yang bekerja dengan menghambat pembentukan replikasi RNA parasit pada darah (Katzung, 1998), sehingga parasit sudah mulai berkurang pada saat fase intraeritrosit di pembuluh darah sebelum terjadi persebaran di jaringan otak.

Jumlah persebaran parasit pada kelompok terapi terdapat sedikit peningkatan dibandingkan kelompok kontrol positif. Hal ini disebabkan karena pada kelompok perlakuan diberikan tambahan kombinasi terapi dengan ekstrak *echinacea* yang memiliki fungsi sebagai *immunomodulator* (Raduner, et al., 2006), tanpa adanya penambahan dosis klorokuin yang diberikan.

Terapi kombinasi yang diberikan memberikan mekanisme kerja yang berbeda

dimana ekstrak echinacea memiliki fungsi kerja sebagai *immunomodulator* dibandingkan dengan klorokuin sebagai obat schizontisidal (Khanna, 2008).

Pada penghitungan jumlah mikroglia, didapatkan jumlah sel mikroglia terbanyak pada kelompok perlakuan. Mencit pada kelompok perlakuan ini diinfeksi oleh *Plasmodium berghei* dan diberikan terapi kombinasi ekstrak echinacea 6,5 mg selama lima hari dan klorokuin.

Berdasarkan hasil analisa statistik *post hoc Tukey HSD* untuk jumlah mikroglia didapatkan ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dan positif terhadap kelompok perlakuan. Peningkatan jumlah mikroglia tersebut kemungkinan dipengaruhi oleh pemberian terapi pada kelompok perlakuan, yaitu kombinasi klorokuin dengan ekstrak echinacea. Ekstrak echinacea memiliki aksi sebagai *immunomodulator* yang memiliki asam lemak tak jenuh N-alkylamide (Alkylamide) yang dapat memodulasi ekspresi TNF- α pada monosit manusia dan makrofag (M ϕ s) pada *in vitro* (Raduner, *et al.*, 2006), sehingga jumlah mikroglia di otak tampak lebih banyak. Selain itu *Echinacea angustifolia* memiliki efek pada produksi sitokin sel T, termasuk sitokin TH1 (IFN- γ dan IL-2) dan sitokin TH2 (IL-4 dan IL-10). Aktivasi sel TH1 akan mengaktifkan imunitas yang dimediasi sel, termasuk sel NK dan sel makrofag (Zhai Z., *et al.*, 2007).

Secara klinis diharapkan efek dari pemberian terapi kombinasi ini dapat menurunkan kejadian cerebral malaria. Namun demikian, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk membuktikan efek tersebut