

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Dari perhitungan angka kuman darah mencit Balb/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* diperoleh hasil seperti yang ditampilkan pada tabel berikut ini.

Tabel 2. Hasil analisis deskriptif rata-rata angka kuman darah mencit Balb/c yang diinfeksi *S. typhimurium* dengan berbagai perlakuan

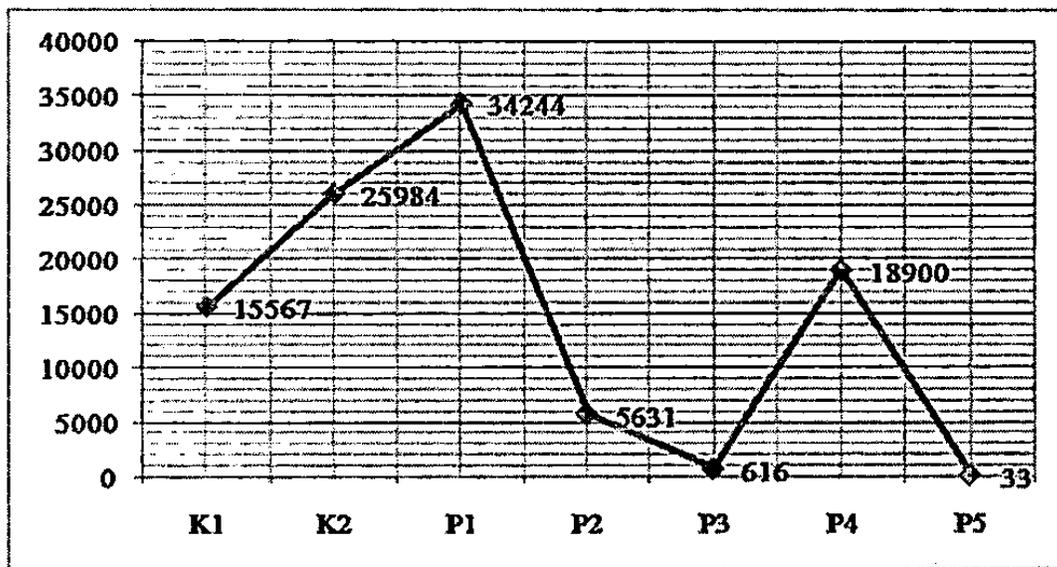
Nama Kelompok	N	Rata-rata ± SD (CFU/mL)
K1	3	15567 ± 26876
K2	3	25984 ± 20259
P1	3	34244 ± 59022
P2	3	5631 ± 9680
P3	3	616 ± 995
P4	3	18900 ± 28827
P5	3	33 ± 58

Keterangan: K1: tidak diberi perlakuan apapun (kontrol sehat); K2: diinfeksi *S. typhimurium* + diberi ekstrak *C. asiatica* 0 mg/kgBB; P1: diinfeksi *S. typhimurium* + diberi ekstrak *C. asiatica* 125 mg/kgBB; P2: diinfeksi *S. typhimurium* + diberi ekstrak *C. asiatica* 250 mg/kgBB; P3: diinfeksi *S. typhimurium* + diberi ekstrak *C. asiatica* 500 mg/kgBB; P4: diinfeksi *S. typhimurium* + diberi 1,3 mg kloramfenikol; P5: diinfeksi *S. typhimurium* + diberi ekstrak *C. asiatica* 125 mg/kgBB + 0,975 mg kloramfenikol.

Pada tabel 2 di atas, didapatkan rata-rata jumlah angka kuman darah

terdapat pada kelompok P1 sebesar 34244 CFU/mL. Jumlah angka kuman

darah terendah terdapat pada kelompok mencit Balb/c yang diberi 125 mg/kgBB ekstrak pegagan (*Centella asiatica* L. Urb) ditambah dengan 0,975 mg kloramfenikol dengan rata-rata jumlah angka kuman darah 33 CFU/mL. Pada kelompok K1 (kontrol sehat) yang tidak diberi *Salmonella typhimurium* menunjukkan adanya *Salmonella typhimurium* pada darah dengan rata-rata sebesar 15567 CFU/mL.



Gambar 8. Rata-rata angka kuman darah mencit Balb/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* dengan berbagai perlakuan

Pada gambar 8 di atas, terjadi penurunan angka kuman pada semua kelompok perlakuan kecuali kelompok P1, yaitu kelompok yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* dan diberi ekstrak pegagan (*Centella asiatica* L. Urb) 125 mg/kgBB. Hasil statistika menggunakan Kruskal Wallis menunjukkan nilai $p=0,461$ ($p>0,05$), artinya perbedaan derajat dosis pemberian ekstrak pegagan (*Centella asiatica* L. Urb) tidak menunjukkan

Apabila setiap kelompok perlakuan dengan dosis bervariasi dibandingkan dengan kelompok K2 (diinfeksi *S. typhimurium*+ ekstrak *C. asiatica* 0 mg/kgBB), maka hasil statistiknya sebagai berikut.

Tabel 3. Nilai p kelompok P1 – P4 terhadap kelompok K2 dengan menggunakan analisis statistik Mann-Whitney.

Kelompok	n	Nilai p terhadap kelompok K2
P1	3	0.513
P2	3	0.127
P3*	3	0.745
P4*	3	0.096
P5	3	0.046

*Kelompok P3 dan P5 menggunakan analisis uji independent t-test karena data variansi normal.

Pada tabel 2, terdapat dua kelompok perlakuan yang menunjukkan penurunan angka kuman bermakna dibandingkan dengan kelompok K2, yaitu kelompok P5. Kelompok P5 yaitu kelompok yang diberi ekstrak pegagan (*Centella asiatica* L. Urb) 125 mg/kgBB dan kloramfenikol 0,975 mg dengan nilai $p=0,046$ ($p \leq 0,05$).

B. Pembahasan

Penelitian ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak pegagan (*Centella asiatica*) tidak dapat menurunkan angka kuman darah pada mencit

Dilihat dari nilai p kelompok P5 terhadap kelompok K2 ($p=0,046$). Akan tetapi

diperoleh bahwa kombinasi kloramfenikol 0,975 mg dan ekstrak pegagan (*C. asiatica*) 125 mg/kgBB mampu menurunkan angka kuman darah secara signifikan dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberi ekstrak daun pegagan ($p=0,046$).

Pada penelitian perbandingan yang dilakukan oleh Mazzio (2009) dan Bhavna (2012), ditemukan bahwa ekstrak kloroform dari pegagan ternyata aktif melawan bakteri gram positif seperti *B. cereus*, *B. megaterium*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *Sarcina lutea*, serta bakteri gram negatif seperti *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. paratyphi*, *S. typhi*, *Shigella boydii*, *Vibrio mimicus*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio parahemolyticus*, dan jamur seperti *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae* dibandingkan dengan Kanamycin. Penelitian yang dilakukan oleh Mali *et al.* (2008) menemukan bahwa dengan peningkatan konsentrasi ekstrak *C. asiatica* misalnya dari 25 mg/ml ke 100 mg/ml, tidak hanya meningkatkan lokomosi neutrofil dan kemotaksis diobservasi tetapi juga meningkatkan ingesti dari *Candida albicans* oleh neutrofil.

Uji antibakteri terhadap jenis bakteri yang berbeda memberikan hasil yang berbeda pula. Hasil uji aktivitas antibakteri untuk semua konsentrasi ekstrak terhadap bakteri *Bacillus subtilis* mempunyai zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan bakteri *E. coli*. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus subtilis* lebih sensitif terhadap ekstrak dibandingkan *E. coli*. Perbedaan besarnya zona hambat dapat disebabkan karena *E. coli* merupakan

bakteri Gram negatif yang memiliki struktur membran yang berlapis-lapis di

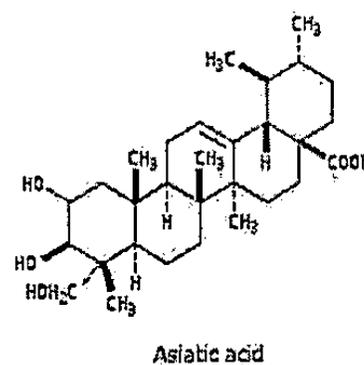
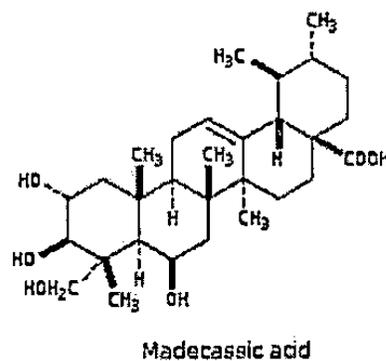
mana membran luar dari bakteri ini dapat menghalangi penembusan senyawa antibakteri yang menyebabkan sulitnya senyawa antibakteri masuk ke dalam sel. Sedangkan *Bacillus subtilis* merupakan bakteri Gram positif yang memiliki struktur membran yang sederhana, struktur membran yang sederhana ini akan memudahkan senyawa antibakteri masuk ke dalam sel (Pelczar dan Chan, 1986).

Salmonella typhimurium masuk melalui rute oral. Setelah masuk, tubuh mengadakan perlawanan dengan berbagai cara antara lain asam lambung berusaha membunuh bakteri disertai gerakan lambung untuk mengeluarkan bakteri (Barak, 2009). *Salmonella typhimurium* merupakan imunogen yang bersifat fakultatif intraselular, sehingga respon imun yang berperan adalah respon imun selular (*cell-mediated immunity*) yang diperankan oleh makrofag (Brooks, 2005; Kayser, 2005). Bakteri intraseluler ini akan menstimulasi makrofag untuk memproduksi IL-12 yang akan mengaktifkan sel *Natural Killer* dan mengubah sel Th0 menjadi Th1, yang kemudian akan mensekresikan IFN- γ yang memacu pembunuhan mikroba dan lisis sel terinfeksi oleh CD8+. Makrofag akan saling mengaktivasi satu sama lain dengan cara memproduksi TNF- α (Alwi, 2006; Baratawidjaja, 2006; Gasem; 2001).

Pada minggu pertama gejala klinis demam tifoid ditemukan keluhan dan gejala serupa dengan penyakit infeksi akut pada umumnya yaitu demam, nyeri kepala, pusing, nyeri otot, anoreksia, mual, muntah, dan perubahan pola defekasi. Dalam minggu kedua gejala menjadi lebih jelas berupa demam

lidah berselaput, hepatomegali, splenomegali, dan gangguan kesadaran. Kerusakan organ yang terjadi pada demam tifoid diantaranya kerusakan hepar, kerusakan saluran cerna, gangguan sistem pertahanan tubuh terutama makrofag, serta gangguan kesadaran.

Secara umum, mekanisme kerja dari *Centella asiatica* adalah menghambat sintesis protein bakteri *S. typhi*, dinding sel *S. typhi* yang terdiri dari protein lipopolisakarida dan lipid. Dengan terhambatnya sintesis protein menyebabkan rusaknya dinding sel, sedangkan dinding sel berfungsi sebagai tempat masuknya bahan-bahan dari luar ke dalam sel. Rusaknya dinding sel menyebabkan proses masuknya bahan-bahan dari luar terhambat sehingga menyebabkan bakteri mati (Dzen, 2003). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian dari Sulistyowati (2008) yang menemukan bahwa pada konsentrasi 5% ekstrak *C. asiatica* sudah dapat mengakibatkan kematian bakteri *Salmonella typhi* dalam jumlah yang sama dengan konsentrasi 6%, 7%, dan 8%.



Pegagan (*Centella asiatica* Urb) mengandung berbagai bahan aktif meliputi: 1) *triterpenoid saponin*, 2) *triterpenoid genin*, 3) minyak essensial, 4) *flavonoid*, 5) fitosterol, dan bahan aktif lainnya (Jagtap, 2009). Menurut Depadua (2000), pegagan mengandung tidak lebih dari 6,0 % turunan triterpenoid. Kandungan bahan aktif yang terpenting dari *triterpenoid saponin* meliputi: 1) asiatikosida, 2) centellosida, 3) madekossida, 4) dan asam asiatik (Lenny, 2006; Winarto, 2003; Satake *et al*, 2001).

Bahan aktif *triterpenoid saponin* berfungsi untuk meningkatkan aktivasi makrofag yang menyebabkan meningkatnya fagositosis dan sekresi interleukin (Utami, *et al.*, 2011; Yu *et al*, 2006). Jayathirtha dan Mishra (2004) menemukan bahwa pemberian ekstrak *C. asiatica* 100-500 mg/kgBB pada mencit mampu meningkatkan secara nyata total sel darah putih (*White Blood Cells/WBC*) dan meningkatkan kemampuan aktivasi dan fagositosis makrofag. Sekresi interleukin ini akan memacu sel β untuk menghasilkan antibodi (Besung, 2009).

Secara umum, ekstrak titrasi dari *C. asiatica* mengarah pada perubahan di ekspresi hyaladherin dan sitokin yang dapat menurunkan laju proteolisis pada matriks ekstraselular. Dengan demikian mendukung akumulasi kolagen dan fibronectin. Tidak ada perubahan pada tingkat ekspresi gen yang mengkode fibronectin dan kolagen, mengindikasikan aksi indireknya (Coldren, 2003). *Triterpenoid saponin* mampu memacu produksi kolagen I, yaitu protein pemacu proses penyembuhan luka (Coldren, 2003;

Wang, 2002). Selain itu, bahan aktif asiatikosida diketahui mempercepat

penyembuhan luka dengan jalan meningkatkan kandungan hidroksiplorin dan mukopolisakarida yang merupakan bahan untuk mensintesis matriks ekstraseluler (Annisa, 2006). Madekossida juga berperan penting karena mampu memperbaiki kerusakan sel dengan sintesis kolagen (Selfitri, 2008).

Asiatikosida adalah senyawa golongan triterpenoid, yang mengandung molekul gula yang terdiri dari satu molekul ramnosa dan dua molekul glukosa. Aglikon triterpen dari asiatikosida ini disebut asam asiatikat yang mempunyai gugus alcohol primer, glikol, dan satu buah karboksilat teresterifikasi dengan gugus gula (Pramono, 1992). Senyawa asiatikosida bersifat polar karena adanya ikatan glikosida antara molekul gula dengan gugus benzene dan mempunyai berat molekul (BM) 959,15 (Pramono, 1992). Menurut Widowati (1992), senyawa asiatikosida yang terkandung dalam pegagan mempunyai khasiat sebagai antibiotik, di mana asiatikosida aktif dapat melawan basil penyebab penyakit tuberkulosis.

Asiatikosida mampu bekerja dalam detoksifikasi pada hati dan merupakan marker dalam penentuan standar baku pada pegagan (*Centella asiatica* Urb). Penelitian menemukan bahwa infuse pegagan dosis 0,027; 0,054; 0,108; 0,216 g/kgBB mempunyai efek hepatoprotektif pada tikus putih yang diinduksi dengan asetaminofen, dengan persentase 34,19%; 62,525; 78,62%; 85,69%. Dan hasil dari analisis kualitatif dengan metode histologi menunjukkan bahwa pegagan mempunyai efek hepatoprotektif (Rahayu

Pada penelitian ini, diperoleh data pada kelompok kontrol sehat yaitu kontrol yang tidak diinfeksi *Salmonella typhimurium* menunjukkan adanya kuman darah, padahal seharusnya bernilai nol. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh kontaminan *Salmonella typhimurium* yang berasal dari lingkungan sekitar seperti kandang mencit Balb/c, pakan, air minum, atau dari kelompok perlakuan lain. Standar deviasi yang sangat besar pada kelompok perlakuan juga kemungkinan disebabkan karena kontaminasi dari kelompok lain serta jumlah sampel yang minimal. Keterbatasan peneliti dalam mengamati angka kuman darah pada media agar MacConkey juga dapat mempengaruhi hasil penelitian ini.