

**PERANAN VITAMIN C PADA AKTIFITAS FAGOSITOSIS MAKROFAG
TERHADAP *Candida albicans* PADA MUKOSA VAGINA WANITA HAMIL
SECARA IN-VITRO**

Roslaili Rasyid

Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas

ABSTRAK

Berbagai penelitian melaporkan Vitamin-C mampu meningkatkan respon imun tubuh. Penelitian terhadap respon fagositosis makrofag terhadap bakteri dan virus juga sudah ada dilaporkan. Akan tetapi belum banyak yang meneliti tentang peranan vitamin-C terhadap respon fagositosis sel makrofag terhadap jamur terutama blastospora *Candida albicans*. Vitamin C merupakan antioksidan poten yang telah banyak terbukti mempunyai peranan meningkatkan respon imun seluler baik pada proses perlekatan (*adherence*), kemotaksis, fagositosis maupun produksi anion superoksida dengan melalui respon proliferasi limfosit, stimulasi proses fagositosis makrofag.

Semula penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peranan vitamin-C pada aktivitas fagositosis sel makrofag yang diambil dari bilasan vagina wanita. Akan tetapi setelah dilakukan penelitian, ternyata sangat sulit untuk mendapatkan biakan murni dari sel makrofag murni yang berasal dari mukosa vagina, sehingga diputuskan untuk mengambil sel makrofag yang terdapat pada cairan peritonium mencit. Setelah diberikan tambahan Vitamin C dengan berbagai dosis yang berbeda secara oral selama 7 hari berturut-turut, kemudian diukur daya fagositnya terhadap blastospora *C. albicans*.

Penelitian ini merupakan penelitian laboratorium yang bersifat eksperimental murni dan semua variabel yang mempengaruhi dapat dikendalikan. 12 ekor mencit putih betina galur Swiss yang berumur 4 – 6 minggu dengan berat badan lebih kurang 20 gram yang dibagi atas kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Perinciannya tiga ekor mencit sebagai kontrol, tiga mencit diberikan Vitamin C dosis 0,26 mg (setara dengan 100 mg dosis manusia), tiga ekor diberikan Vitamin C dosis 0,52 mg (setara dengan 200 mg dosis manusia) dan 3 ekor lagi diberi Vitamin C dosis 0,78 mg (setara dengan 300 mg dosis manusia).

Hasil penelitian yang didapat menunjukkan perbedaan yang jelas antara kelompok kontrol dengan kelompok yang mendapat perlakuan tambahan Vitamin C. Kelompok kontrol terlihat memfagosit lebih sedikit blastospora dibandingkan dengan kelompok perlakuan dengan tambahan Vitamin C dosis 0,52 mg dan 1,04 mg. Akan tetapi pada kelompok yang mendapat tambahan dosis Vitamin C 0,26 mg tampak rerata sel makrofag yang memfagosit blastospora lebih rendah dari kelompok kontrol. Hasil analisis statistik dengan *One Way Anova* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0.05$) antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan tambahan Vitamin C dosis 0,78 mg atau setara dengan Vitamin C dosis 300 mg pada manusia. Hal ini sesuai dengan yang didapatkan oleh Melok dkk (2004) dalam penelitiannya tentang peranan vitamin C dalam peningkatan aktivitas sel monosit pada darah orang sehat mendapatkan konsentrasi Vitamin C terbaik yang dapat meningkatkan aktivitas fagositosis sel mononuklear (monosit) itu adalah pada konsentrasi 200mg/ml.

PENDAHULUAN

Makrofag merupakan fagosit profesional yang penting dalam pertahanan vagina. Dalam fungsinya menfagositosis dan *intracellular killing*, makrofag melepaskan berbagai metabolit oksigen, melekat dan menghancurkan target dengan perantaraan limfosit T atau limfosit B untuk menghancurkan virus, bakteri, jamur dan sel tumor. Untuk membunuh blastospora dan hifa dari jamur *Candida albicans*, makrofag menggunakan amat banyak rangkaian mekanisme oksidatif (aerob) dan non oksidatif (anaerob). Berbagai penelitian membuktikan bahwa makrofag memiliki aktivitas kandidisidal lebih besar pada suasana aerob dibandingkan dengan anaerob yang mengindikasikan bahwa makrofag membunuh *Candida albicans* dengan mekanisme yang terutama melibatkan *respiratory burst*. Sistem MPO (*myeloperoxidase*) dan *reaktive nitrogen intermediate* (RNI), hidrogen peroksida dan *reaktive oxygen species* (ROS) penting sebagai *oxidative killing* makrofag.

Salah satu species *Candida* yang sering dijumpai sebagai penyebab infeksi pada mukosa vagina adalah *Candida albicans*. Penyakit *Vulvovaginal Candidiasis* (VVC) sering terjadi pada wanita usia reproduktif. Sekitar 75% wanita di usia reproduktif pernah menderita VVC semasa hidupnya. VVC diperkirakan dialami lebih dari 10 juta wanita di seluruh dunia setiap tahunnya dan merupakan salah satu masalah terbesar pada bidang Obstetri dan Ginekologi hingga saat ini.

Jumlah penderita VVC dalam kehamilan biasanya lebih tinggi. Hal ini disebabkan karena peningkatan hormon estrogen yang dapat meningkatkan pertumbuhan *Candida albicans*. Gejala VVC meningkat sekitar 10% pada wanita dalam kehamilan trimester pertama, dan terus meningkat sampai mencapai 36-55% pada wanita dalam kehamilan trimester ketiga (Sobel *et al.*, 1998). Pada trimester ketiga peningkatan estrogen mencapai puncaknya yang menyebabkan kelebihan glikogen pada epitel vagina. Estrogen meningkatkan eksposur *glycoprotein complexes acting* sebagai reseptor perlekatan blastospora, sehingga VVC jarang ditemukan pada keadaan hypoestrogenemia seperti pada *premenarche* dan *postmenopause*. Biasanya keluhan berkurang atau hilang setelah bayi lahir. Pada pemeriksaan beberapa hari sampai 6 minggu setelah persalinan ditemukan frekuensi VVC positif hanya sekitar 5,4% saja (Sobel *et al* 1998, Fidel *et al* 1998, Ringdahl 2000).

Fuente *et al* (2000) telah membuktikan bahwa pada pemberian vitamin C dapat menstimulasi proses fagositosis makrofag, melalui pelepasan sitokin terutama IFN- γ , dengan cara meregulasi sistem imun sehingga terjadi perbaikan respon imun. Melok dkk (2004) dalam penelitiannya tentang peranan vitamin C dalam peningkatan aktivitas sel monosit pada darah orang sehat mendapatkan konsentrasi Vitamin C terbaik yang dapat meningkatkan aktivitas fagositosis sel mononuklear itu adalah pada konsentrasi 200mg/ml.

Berkaitan dengan latar belakang di atas, dilakukan penelitian secara *in vitro* dengan menggunakan kultur atau biakan makrofag yang diambil dari bilasan cairan vagina wanita hamil dan melihat pengaruh aktifitas fagositosisnya terhadap *Candida albicans* dengan penambahan vitamin C dengan berbagai perbedaan konsentrasi.

Rumusan Masalah

Penyakit *Vulvovaginal Candidiasis* merupakan suatu infeksi oleh jamur *Candida albicans* pada vagina. Infeksi ini sering ditemukan pada wanita usia produktif. Prevalensinya meningkat pada kehamilan terutama pada trimester ketiga. Hal ini disebabkan karena terjadinya peningkatan hormon estrogen pada wanita hamil dan menyebabkan peningkatan eksposur *glycoprotein complexes acting* di mukosa vagina. Glikogen inilah yang berfungsi sebagai reseptor perlekatan blastospora dari jamur *Candida albicans* sehingga memudahkan timbulnya infeksi. Imunitas lokal di vagina terutama makrofag tidak sanggup menetralkan peningkatan jumlah ini. Vitamin C merupakan suatu antioksidan yang poten dan diduga dapat meningkatkan aktifitas fagositosis makrofag.

Berdasarkan latar belakang masalah penelitian, dapat dibuat perumusan masalah sebagai berikut :

- Adakah pengaruh pemberian Vitamin C terhadap peningkatan aktifitas fagositosis makrofag secara *in vitro* terhadap *Candida albicans* yang diambil dari mukosa vagina wanita hamil yang menderita *Vulvovaginal Candidiasis* ?
- Berapakah dosis maksimal Vitamin C yang dibutuhkan untuk dapat mencapai aktifitas fagositosis tertinggi dari makrofag terhadap *Candida albicans* yang diambil dari mukosa vagina wanita hamil yang menderita *Vulvovaginal Candidiasis*?

Hipotesis penelitian

Pada penelitian ini terdapat 2 (dua) hipotesis, yaitu terdapat peningkatan jumlah makrofag yang menfagositosis *Candida albicans* dalam kultur makrofag yang diambil dari mukosa vagina wanita hamil setelah penambahan vitamin C dan terdapat peningkatan jumlah *Candida albicans* yang dalam tiap makrofag yang teraktivasi setelah penambahan vitamin C kedalam kultur makrofag yang diambil dari mukosa vagina wanita hamil.

Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui kemampuan aktifitas fagositosis sel makrofag yang diambil dari mukosa vagina wanita hamil yang menderita *Vulvovaginal Candidiasis*, terhadap *Candida albicans* secara *in vitro* sebelum dan sesudah pemberian vitamin C

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan *Case Control Study* yang bersifat eksperimental murni dan semua variabel yang mempengaruhi dapat dikendalikan.

Populasi dan sampel

Populasi penelitian adalah seluruh wanita hamil yang didiagnosis menderita *Vulvovaginal candidiasis* yang bersedia diambil cairan vagina.

Sampel diambil dengan cara *consecutive* dari populasi yang ada.

Alat dan bahan

Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian ini bilasan (*lavage*) cairan vagina wanita hamil yang menderita *Vulvovaginal Candidiasis*. Amonium Chlorida, RPMI 1640, Vitamin C, Suspensi Candida dengan kepadatan 2.5×10^7 sel/ml, Saboraud agar, PBS (Phosphat Buffer Saline) pH 7.2, methanol, Giemsa, RPMI Compleat medium (campuran RPMI, PBS, Penstrep, Fungizon), Aquadest

Alat-alat yang digunakan untuk penelitian ini : Mikroskop, laminar air flow, sentrifuge, Incubator CO₂ 5%, sumuran kultur *microplate* 24, Nun TC *Cover slips* 174950 Thermanox diameter 13 mm.

Cara Kerja

Isolasi dan kultur Makrofag

20ml cairan RPMI dingin ditambahkan ke cairan bilasan vagina, ditunggu 3 – 5 menit, lalu diaspirasi cairan yang ada dengan menggunakan spuit injeksi. Aspirat yang didapat dimasukkan ke dalam tabung sentrifus dan disentrifus pada 1200 rpm, 4°C, selama 10 menit. Supernatatan dibuang dan tambahkan 3 ml medium RPMI komplet pada pellet yang didapatkan. Jumlah sel yang didapat dihitung dengan menggunakan hemositometer, diresuspensi hingga didapatkan kepadatan 2.5×10^6 sel/ml. Suspensi sel yang didapat dikultur pada sumuran *microplate* 24 yang telah diberi *cover slips* bulat, setiap sumuran 200 µl (5×10^5 sel/ml). Lalu diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5%, 37°C selama 30 menit kemudian tambahkan medium RPMI komplet 1 ml/sumuran. Sumuran ditambahkan dengan Vitamin C (konsentrasi 100mg/ml, 150mg/ml, 200mg/ml, 250mg/ml, 300mg/ml) masing-masing sebanyak 0,5 ml/sumuran. Diinkubasi dilanjutkan hingga 24 jam

Uji Fagositosis Makrofag

Makrofag sekarang yang berada dalam sumuran terdiri atas 2 (dua) kelompok, yaitu yang mendapat Vitamin C dan yang tidak mendapat Vitamin C. Perlakuan lanjutan untuk kedua makrofag tersebut sama. Makrofag yang sudah dikultur dibilas dengan RPMI 2 x. Ditambahkan suspensi candida dalam PBS sebanyak 200 µl dengan kepadatan 2.5×10^7 sel/ml. Lalu diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5%, 37°C selama 30 menit. dicuci dengan PBS 3 kali. Dikeringkan pada suhu ruangan dan difiksasi dengan metanol selama 30 detik. Setelah 30 detik methanol dibuang, ditunggu sampai kering. Dicat dengan *giemsa* 20% selama 30 menit. Dicuci dengan aquadest, dan diangkat dari sumuran dan dikeringkan pada suhu ruangan. Diperiksa dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x

Pengumpulan dan analisis data

SPSS 11.0. Evaluasi awal dan akhir menggunakan t test berpasangan dan perbandingan antara kemampuan fagositosis makrofag terhadap *Candida albicans* sebelum dengan sesudah pemberian vitamin C dilakukan dengan independent t test.

HASIL DAN PEMBAHASAN

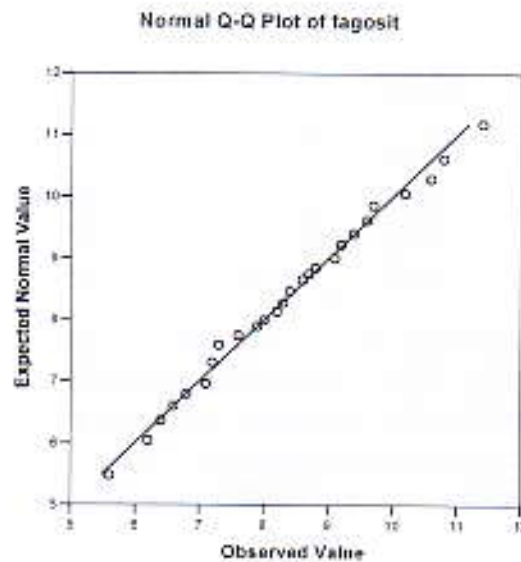
Pada dasarnya penelitian ini mengalami perubahan yang cukup mendasar mengingat situasi dan kondisi yang sangat tidak memungkinkan. Pada awalnya penelitian menggunakan sel makrofag dari bilasan vagina, namun setelah dilakukan pengujian ternyata tidak berhasil untuk mendapatkan sel makrofag secara murni. Pada bilasan vagina terdapat sangat banyak kuman-kuman sebagai flora normal yang menetap. Kuman-kuman flora normal ini sangat berguna untuk mempertahankan keasaman vagina, guna menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Pada waktu pembiakan sel makrofag yang diambil dari bilasan cairan vagina, ternyata terdapat pertumbuhan kuman-kuman ini sehingga tidak dapat dihasilkan biakan murni dari sel makrofag vagina.

Setelah dilakukan sejumlah diskusi yang intensif dengan pembimbing dari FK UGM bagian *Tropical Medicine*, diketahui bahwa akan sangat banyak faktor yang mempengaruhi kualitas makrofag vagina, sehingga tidak akan didapatkan makrofag yang masih murni. Untuk mendapatkan sel makrofag dari tubuh manusia sebenarnya dapat diambil dari tempat-tempat lain seperti di paru-paru sebagai makrofag alveolar, di hati sebagai sel Kupfer, melapisi sinusoid limpa dan kelenjar limfe, sebagai sel mesangial dalam glomerulus, sel mikroglia di otak dan sel osteoklast dalam tulang. Didalam cairan tubuh banyak dijumpai pada cairan pleura dan cairan peritoneum. Akan tetapi untuk mendapatkan sel makrofag dari tempat-tempat tersebut sangat sulit karena meng invasi tubuh manusia. Berkenaan dengan pertimbangan tersebut, maka dilakukan pengambilan sel makrofag dari bilasan peritoneal tikus putih galur swiss yang dinilai lebih murni dengan risiko kontaminasi sangat minimal.

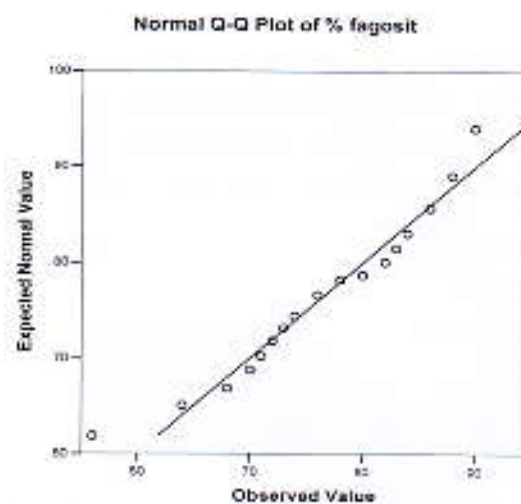
Pada penelitian ini telah dilakukan pemeriksaan pengaruh pemberian Vitamin C terhadap aktifitas sel makrofag peritonium mencit dalam menfagosit blastospora *Candida albicans* pada 12 ekor mencit putih betina galur Swiss yang berumur 4 – 6 minggu dengan berat badan lebih kurang 20 gram yang dibagi atas kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Perinciannya tiga ekor mencit sebagai kontrol, tiga mencit diberikan Vitamin C 0,26 mg (setara dengan 100 mg dosis manusia), tiga ekor diberikan Vitamin C 0,52 mg (setara dengan 200 mg dosis manusia) dan 3 ekor lagi diberi Vitamin C 0,78 mg (setara dengan 300 mg dosis manusia).

Sebelum dilakukan analisis data, maka terlebih dahulu dilakukan pengujian distribusi data. Hasil perhitungan menunjukkan distribusi data dalam

penelitian ini normal. Baik data tentang jumlah sel yang difagosit oleh makrofag maupun persentase makrofag yang memfagosit blastospora *Candida albicans*.



Gambar 6.1. Normalitas data jumlah blastospora yang difagosit oleh tiap sel makrofag



Gambar 6.2. Normalitas data persentase makrofag yang memfagosit blastospora *Candida albicans* per 100 sel makrofag

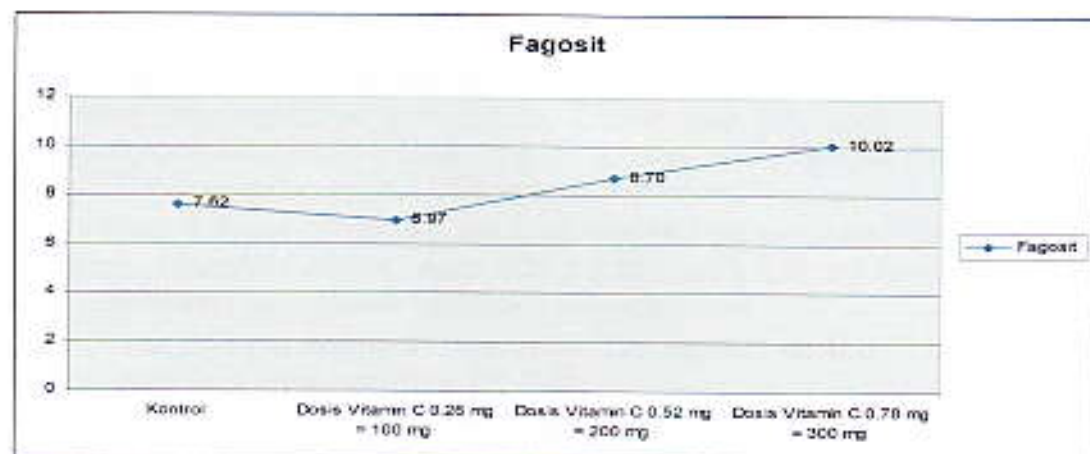
Jumlah blastospora yang difagosit oleh setiap makrofag

Jumlah blastospora yang dapat difagosit oleh tiap sel makrofag, dibandingkan antara kelompok kontrol dengan kelompok yang mendapat tambahan Vitamin C dengan berbagai dosis, dapat dilihat pada tabel 6.1 berikut ini.

Tabel 6.1. Perbandingan jumlah blastospora yang difagosit oleh tiap sel makrofag dari kelompok kontrol dengan kelompok yang dapat tambahan Vitamin C peroral

Perlakuan	N	Rerata	SD
Kontrol	9	7,52	0,73
Dosis 0,26 mg	9	6,97	0,74
Dosis 0,52 mg	9	8,70	0,49
Dosis 0,78 mg	9	10,02	0,78

Pada tabel 6.1 terlihat bahwa rata-rata jumlah blastospora yang difagosit oleh tiap sel makrofag menunjukkan perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok yang mendapat perlakuan tambahan Vitamin C. Kelompok kontrol terlihat memfagosit lebih sedikit blastospora dibandingkan dengan kelompok perlakuan dengan tambahan dosis Vitamin C 0,52 mg dan 1,04 mg. Akan tetapi pada kelompok yang mendapat tambahan dosis Vitamin C 0,26 mg tampak rerata sel makrofag yang memfagosit blastospora lebih rendah dari kelompok kontrol. Pada kelompok kontrol, jumlah rata-rata tiap sel makrofag mampu memfagosit $7,52 \pm 0,73$ blastospora, sedangkan pada mencit kelompok perlakuan yang mendapat dosis Vitamin C 0,26 mg peroral selama 7 hari, sel makrofagnya hanya mampu rata-rata memfagosit $6,97 \pm 0,74$ blastospora, kelompok perlakuan yang mendapat dosis Vitamin C 0,52 mg, sel makrofagnya juga hanya mampu rata-rata memfagosit $8,70 \pm 0,49$ blastospora dan kelompok perlakuan yang mendapat dosis vitamin C 0,78 mg, sel makrofagnya rata-rata memfagosit jauh lebih sedikit yaitu $10,02 \pm 0,78$ blastospora. Lebih jelas terlihat pada gambar 6.3 di bawah ini.



Gambar 6.3 : Rerata blastospora yang difagosit oleh setiap sel makrofag

Hasil analisis statistik dengan *One Way Anova* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan tambahan Vitamin C dosis 0,78 mg. Uji lanjutan dengan

LSD 50 menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok dosis Vitamin C 0,26 mg dengan dosis 0,78 mg. Secara lengkap dapat dilihat pada tabel analisis Post Hoc dengan LSD 50 terhadap jumlah blastospora yang dapat difagosit oleh sel makrofag kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan di bawah ini.

Tabel 6.2. Analisis Post Hoc dengan LSD 50 terhadap seluruh komponen penelitian tentang jumlah blastospora yang difagosit oleh tiap sel makrofag

(I) Kelompok	(J) Kelompok	P
Kontrol	Dosis 0,26 mg	,064
	Dosis 0,52 mg	,020
	Dosis 0,78mg	,000
Dosis 0,26mg	Kontrol	,064
	Dosis 0,52mg	,000
	Dosis 0,78mg	,000
Dosis 0,52 mg	Kontrol	,020
	Dosis 0,26 mg	,000
	Dosis 0,78mg	,000
Dosis 0,78 mg	Kontrol	,000
	Dosis 0,26mg	,000
	Dosis 0,52 mg	,000

Pada tabel di atas dapat ditarik kesimpulan bahwa :

- Antara mencit kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) , kecuali pada kelompok yang mendapat tambahan vitamin C dosis 0,26mg atau setara dengan dosis Vitamin C 100mg pada manusia tidak tampak perbedaan.
- Antara dosis 0,26 mg dengan kontrol tidak ada terdapat perbedaan yang signifikan, sedangkan dengan dosis 0,26 mg dan dosis 0,78 mg tampak adanya perbedaan peningkatan fagositosis yang signifikan.
- Antara dosis 0,52 mg dengan kontrol, dosis 0,26 mg dan dosis 0,78 mg terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)
- Antara dosis 0,78 mg dengan kelompok kontrol, kelompok dosis 0,26 mg, kelompok dosis 0,52 mg terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

Persentase tiap 100 sel makrofag yang menfagosit blastospora

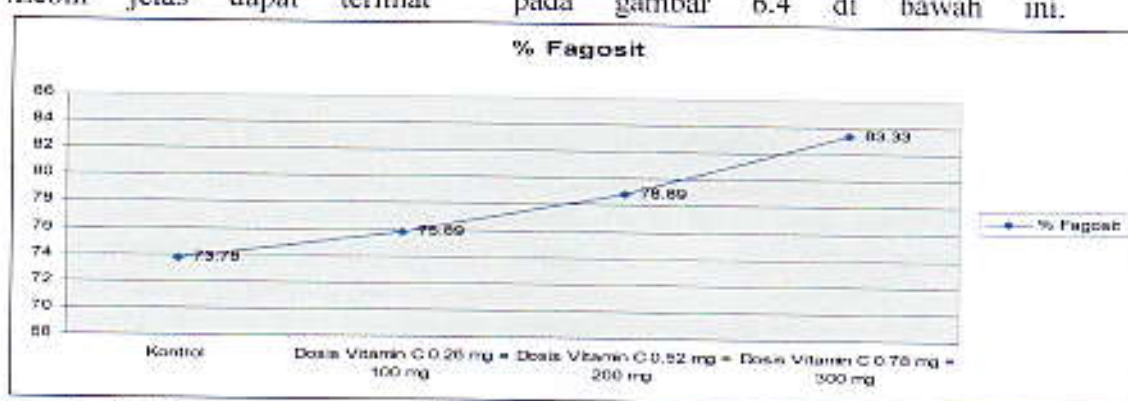
Persentase tiap 100 sel makrofag yang menfagosit blastospora menunjukkan pola yang hampir sama dengan tabel dan grafik di atas. Jumlah

blastospora yang difagosit pada kelompok kontrol rata-rata dari 100 sel makrofag dapat menfagosit blastospora lebih banyak dari kelompok perlakuan yang mendapat tambahan Vitamin C. Secara lengkap dapat dilihat pada tabel 6.3 di bawah ini.

Tabel 6.3 : Perbandingan persentase tiap 100 sel makrofag yang menfagosit blastospora dari kelompok kontrol dengan kelompok yang dapat tambahan Vitamin C

Perlakuan	N	Rerata	SD
Kontrol	9	73,78	9,57
Dosis 0,26 mg	9	75,88	6,33
Dosis 0,52 mg	9	78,89	5,20
Dosis 0,78 mg	9	83,33	6,08

Pada tabel 6.3 di atas pada kelompok kontrol terdapat rata-rata $73,78 \% \pm 9,57$ sel makrofag yang menfagosit blastospora dengan jumlah yang berbeda tiap selnya. Sedangkan pada kelompok perlakuan yang mendapat Vitamin C dosis 0,26 mg peroral selama 7 hari rata-rata dari 100 sel makrofag $75,88 \% \pm 6,33 \%$ yang dapat menfagosit blastospora. Kelompok mencit yang mendapat dosis Vitamin C dosis 0,52mg, rata-rata $78,89 \% \pm 5,20 \%$ makrofag yang menfagosit blastospora dan kelompok mencit yang mendapat Vitamin C dosis 0,78 mg, rata-ratanya yaitu $83,33 \% \pm 6,08 \%$ makrofag yang mampu menfagosit blastospora. Lebih jelas dapat terlihat pada gambar 6.4 di bawah ini.



Gambar 6.4 Rerata persentase dari 100 sel makrofag yang dapat menfagosit blastospora

Berdasarkan hasil tabel 6.3 dan gambar 6.4 di atas, terlihat kenaikan persentase sel makrofag yang dapat memfagosit blastospora karena pemberian Vitamin C. Hasil analisa statistik dengan menggunakan uji *One Way Anova* memperlihatkan perbedaan yang bermakna secara signifikan ($p < 0.05$). Analisa lanjutan dengan LSD 50 memperlihatkan bahwa perbedaan ditemukan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dosis 0,78 mg dan antara kelompok dosis 0,26 mg dengan kelompok 0,78 mg. Namun tidak ditemukan perbedaan antara kelompok 0,26mg dengan 0,52 mg. Secara lengkap dapat dilihat

pada tabel analisis Post Hoc dengan LSD 50 terhadap persentase sel makrofag yang dapat menfagosit blastospora pada tabel 6.4 di bawah ini

Tabel 6.4. Analisis Post Hoc dengan LSD 50 terhadap persentase sel makrofag yang dapat menfagosit blastospora

(I) Kelompok	(J) Kelompok	P
Kontrol	Dosis 0.26 mg	.527
	Dosis 0.52 mg	.131
	Dosis 0,78mg	.007
Dosis 0,26 mg	Kontrol	.527
	Dosis 0,52mg	.370
	Dosis 0,78 mg	.031
Dosis 0,52 mg	Kontrol	.131
	Dosis 0.26mg	.370
	Dosis 0,78 mg	.187
Dosis 0,78 mg	Kontrol	.007
	Dosis 0.26 mg	.031
	Dosis 0,52 mg	.187

Pada tabel di atas dapat ditarik kesimpulan bahwa :

- Antara mencit kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan hanya terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok yang mendapat tambahan vitamin C dosis 0,78 mg atau setara dengan dosis Vitamin C 300 mg pada manusia.
- Antara dosis 0.52 mg dengan kontrol , dosis 0,26 mg dan dosis 0,78 mg tidak ada terdapat perbedaan yang signifikan
- Antara dosis 0,26 mg dengan kontrol dan dosis 0,52 mg tidak terdapat perbedaan yang signifikan, sedangkan dengan dosis 0,78 mg terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)
- Antara dosis 0,78 mg dengan kelompok kontrol dan kelompok dosis 0,26 mg terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$), sedangkan dengan kelompok dosis 0,52 tidak terdapat perbedaan.

Gambar-gambar berikut ini menunjukkan perbedaan jumlah blastospora *Candida albicans* yang mampu difagosit oleh sel makrofag dari mencit kelompok kontrol (mencit yang tidak mendapat tambahan Vitamin C, dengan kelompok perlakuan (mencit yang mendapat tambahan Vitamin C dengan perbedaan dosis) .



Gambar 6.5 : Gambar sel makrofag menfagosit blastospora dari kelompok kontrol



Gambar 6.6 Sel makrofag menfagosit blastospora dari kelompok perlakuan diberi Vitamin C dosis 0,52 mg



Gambar 6.7: Gambar sel makrofag menfagosit blastospora dari kelompok perlakuan diberi Vitamin C dosis 0,78 mg

Pada gambar 6.5 , 6.7 dan 6.8 tampak bahwa pada kelompok makrofag yang mendapat perlakuan dengan tambahan Vitamin C peroral selama 7 hari berturut-turut rata-rata baik jumlah blastospora yang di fagosit oleh tiap makrofag maupun persentase tiap 100 sel makrofag yang mampu menfagosit blastospora terjadi peningkatan yang nyata bila dibandingkan dengan kontrol. Akan tetapi dari perbedaan dosis Vitamin C yang diberikan, tidak tampak perbedaan yang nyata secara mikroskopis, hanya setelah dihitung sampai 100 sel makrofag secara mikroskopis, terdapat perbedaan rata-rata baik dalam jumlah sel yang mampu di fagosit oleh tiap makrofag maupun persentase tiap 100 sel makrofag yang menfagosit blastospora.

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan 4 kelompok mencit putih galur Swiss dengan 1 kelompok untuk kontrol, tiga kelompok lainnya diberi perlakuan tambahan Vitamin C secara oral dengan perbedaan konsentrasi yaitu yang setara dengan dosis 100 mg, 200 mg dan 300 mg pada manusia. Setelah 7 hari berturut-turut, maka masing-masing dipanen makrofag peritoniumnya, untuk diuji kemampuan aktifitasnya terhadap blastospora *Candida albicans*. Dilakukan pengujian terhadap jumlah blastospora yang mampu difagosit oleh tiap sel makrofag dari kelompok kontrol dengan makrofag dari kelompok mencit yang mendapat tambahan Vitamin C peroral.

Hasil penelitian yang didapat menunjukkan perbedaan yang jelas antara kelompok kontrol dengan kelompok yang mendapat perlakuan tambahan Vitamin C. Kelompok kontrol terlihat memfagosit lebih sedikit blastospora dibandingkan dengan kelompok perlakuan dengan tambahan dosis Vitamin C 0,52 mg dan 1,04 mg. Akan tetapi pada kelompok yang mendapat tambahan dosis Vitamin C 0,26 mg tampak rerata sel makrofag yang memfagosit blastospora lebih rendah dari kelompok kontrol. Hasil analisis statistik dengan *One Way Anova* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0.05$) antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan tambahan Vitamin C dosis 0,78 mg. Uji lanjutan dengan LSD 50 menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok dosis Vitamin C 0,26 mg dengan dosis 0,78 mg. Pada penelitian Hans (2004) telah diketahui bahwa vitamin C mempunyai efek imunoregulasi dan efek antiviral sehingga mengurangi gejala virus influenza dan juga dapat menghambat patomekanisme penyakit. Pemberian vitamin C dapat menyebabkan peningkatan respon imun melalui peningkatan produksi sitokin dan aktifitas fagositosis.

Antara kelompok mencit kontrol dengan kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$), kecuali pada kelompok yang mendapat tambahan vitamin C dosis 0,26mg atau setara dengan dosis Vitamin C 100mg pada manusia tidak tampak perbedaan. Antara dosis 0,26 mg dengan kontrol tidak ada terdapat perbedaan yang signifikan, sedangkan dengan dosis 0,26 mg dan dosis 0,78 mg tampak adanya perbedaan peningkatan fagositosis yang signifikan. Antara dosis 0,52 mg dengan kontrol, dosis 0,26 mg dan dosis 0,78 mg terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Antara dosis 0,78 mg dengan kelompok kontrol, kelompok dosis 0,26 mg, kelompok dosis 0,52 mg terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Fuente *et al* (2000) telah membuktikan bahwa pada pemberian vitamin C dapat menstimulasi proses fagositosis makrofag, melalui pelepasan sitokin terutama IFN- γ , dengan cara meregulasi sistem imun sehingga terjadi perbaikan respon imun.

Persentase tiap 100 sel makrofag yang memfagosit blastospora menunjukkan pola yang hampir sama dengan tabel dan grafik di atas. Jumlah blastospora yang difagosit pada kelompok kontrol rata-rata dari 100 sel makrofag dapat memfagosit blastospora lebih banyak dari kelompok perlakuan yang mendapat tambahan Vitamin C. Hasil analisis statistik dengan *One Way Anova* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0.05$) antara

kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan tambahan Vitamin C dosis 0,78 mg. Uji lanjutan dengan LSD 50 menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok dosis Vitamin C 0,26 mg dengan dosis 0,78 mg.

Antara mencit kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan hanya terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok yang mendapat tambahan vitamin C dosis 0,78 mg atau setara dengan dosis Vitamin C 300 mg pada manusia. Antara dosis 0,52 mg dengan kontrol, dosis 0,26 mg dan dosis 0,78 mg tidak ada terdapat perbedaan yang signifikan. Antara dosis 0,26 mg dengan kontrol dan dosis 0,52 mg tidak terdapat perbedaan yang signifikan, sedangkan dengan dosis 0,78 mg terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Antara dosis 0,78 mg dengan kelompok kontrol dan kelompok dosis 0,26 mg terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$), sedangkan dengan kelompok dosis 0,52 mg tidak terdapat perbedaan. Melok dkk (2004) dalam penelitiannya tentang peranan vitamin C dalam peningkatan aktivitas sel monosit pada darah orang sehat mendapatkan konsentrasi Vitamin C terbaik yang dapat meningkatkan aktivitas fagositosis sel mononuklear (monosit) itu adalah pada konsentrasi 200mg/ml

Kesimpulan

1. Pemberian Vitamin C dapat meningkatkan aktifitas sel makrofag dalam menfagosit blastospora *Candida albicans*.
2. Terdapat perbedaan yang bermakna dalam persentase tiap 100 sel makrofag yang menfagosit blastospora *Candida albicans* antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi Vitamin C dosis tinggi

Saran :

1. Dianjurkan untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai enzim-enzim yang berpengaruh dalam rangkaian mekanisme oksidatif dalam sel makrofag, terutama dalam pembentukan bahan radikal oksidatif yang sampai saat ini masih diyakini sebagai mekanisme eliminasi makrofag yang efektif untuk jamur terutama *Candida albicans*.
2. Dalam penggunaan sebagai suplemen, Vitamin C dianjurkan untuk dikonsumsi dalam rangka meningkatkan aktifitas sel makrofagnya terutama bagi wanita hamil yang sering menderita *Vulvovaginal Candidiasis* sewaktu hamil, yang mana hal ini disebut akibat peningkatan hormon estrogen.

DAFTAR PUSTAKA

- Arici A , Levent M, 1999. Regulation of Monocyte Chemotactic Protein-1 expression in Human endometrial stromal cell by Estrogen and progesteron. *Biology of Reproduction* 61,85-90.
- Ashman, Robert ,1995. Production and function of cytokines in natural and acquired immunity to *Candida albicans* Infection. *Microbiological Review* ,4,646-672
- Brown, A. J. P., Gow, N. A. R. ,1999 : Regulatory networks controlling *Candida albicans* morphogenesis *Trends Microbiol* 7,333-338[Medline]
- Calderone RA,CihlarRL, 2002 : Fungal Pathogenesis Principles and Clinical Application. Marcel Deccer Inc. New York.
- Chaffin WL, Lopez-Ribot JL, Casanova M, et al,1998. Cell Wall and Secreted Proteins of *Candida albicans*: identification, function, and expression. *Microbiol and Mol Biol Rev*, 62: 130-80.
- Catherine M, 2001. Individualized hormone replacement therapy. *New England Journal Med* 345;17
- Fidel PL, Sobel JD,1996. Immunopathogenesis of reccurent vulvovaginal candidiasis. *Clin Microbiol Rev*; 8: 335-48.
- Joan E, 2001. Postmenopausal Hormone Replacement Therapy, *New England Journal Medicine* ,vol 345 No 1
- Gil Mor ; 2003 . Interaction of Receptors with the Fas Ligand Promoter in Human Monocytes; *The American Assosiation of Immunologist*.
- Giorgio Santoni,2002 . Immune cell-mediated protection against Vaginal Candidiasis : *Am Society for Microbiology*, 9th ;4791-4797
- Klenner FR. *Vitamin C as a Fundamental Medicine*, 2005
- Melok Tin H, 2005. Peranan Vitamin C dalam meningkatkan aktifitas sel monosit . *Berkala Ilmu Kedokteran* Vol 37 No 2.
- Vazquez-Torres A, Balish E. , 1997 .Macrophage in resistance to candidiasis. *Microbiol and Mol Biol Rev*.; 61: 170-92
- Wozniak,KL ,2002 : *Candida* specific antibodies during experimental Vaginal Candidiasis *Infect Immun* ;70;5790-5799