

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kardiovaskular merupakan kondisi yang paling umum mengakibatkan kematian di seluruh dunia dan menjadi ancaman global yang signifikan (*global threat*). Menurut data Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) tahun 2021, terdapat 17,8 juta kematian akibat penyakit jantung, atau diperkirakan bahwa penyakit kardiovaskular menjadi penyebab sekitar 33% dari jumlah kematian global (WHO, 2021). Data dari RISKESDAS (Riset Kesehatan Dasar) menunjukkan adanya peningkatan signifikan dalam prevalensi penyakit kardiovaskular seperti hipertensi dari tahun 2013 hingga 2018, yaitu dari 25,8% menjadi 34,1%. Prevalensi stroke turun dari 12,1 per mil pada tahun 2013 menjadi 10,9 per mil di tahun 2018, sementara jantung koroner tetap sekitar 1,5% dari tahun 2013 hingga 2018. Prevalensi gagal ginjal kronis juga mengalami peningkatan dari 0,2% menjadi 0,38% selama tahun 2013 hingga 2018

*Hypercholesterolemia* adalah suatu faktor risiko penting yang terkait dengan perkembangan penyakit jantung koroner. Kondisi ini ditandai oleh peningkatan kadar kolesterol darah lebih tinggi dari tingkat yang dibutuhkan untuk fungsi tubuh yang optimal. Batas normal untuk kadar kolesterol total pada plasma adalah kurang dari atau sama dengan 240 mg/dL. Hiperkolesterolemia berkaitan erat dengan sistem peredaran darah, karena kolesterol (*lipid*) akan beredar di seluruh tubuh melewati jantung sebagai regulator darah dari dan ke seluruh tubuh. Kenaikan kadar kolesterol dalam aliran darah menjadi faktor signifikan dalam perkembangan aterosklerosis, yang pada gilirannya berkontribusi terhadap penyakit arteri koroner dan masalah kardiovaskular (Tandi et al., 2018)

Suatu kondisi metabolisme lipid yang disebut *dislipidemia* ditandai dengan tingginya kadar trigliserida, *Low-Density Lipoprotein* (LDL), dan kolesterol total, serta rendahnya kadar *High-Density Lipoprotein* (HDL). Kondisi ini dipengaruhi

oleh sejumlah faktor, seperti faktor genetik, jenis kelamin, usia, dan kebiasaan gaya hidup. Pola hidup tidak sehat, seperti mengonsumsi terlalu banyak lemak jenuh dan kurang beraktivitas fisik, dapat mengakibatkan penumpukan lemak dalam jaringan lemak, yang kemudian memicu pembebasan sitokin seperti *Tumor Necrosis Factor-Alpha* (TNF- $\alpha$ ) (Trisnadi et al., 2021).

Sitokin yang disebut *Tumor Necrosis Factor-Alpha* (TNF-  $\alpha$ ) sangat penting dalam reaksi inflamasi akut terhadap bakteri patogen serta mikroorganisme lainnya (Supit et al., 2015). Inflamasi adalah respons kekebalan tubuh yang dicirikan oleh aktivasi sistem kekebalan untuk melawan zat-zat yang berpotensi merusak sel-sel di daerah yang mengalami cedera. Respon ini dapat bersifat spesifik atau non-spesifik (Latha et al., 2017). Inflamasi, baik yang terjadi secara lokal maupun menyebar ke seluruh tubuh, ditandai oleh gejala seperti pembengkakan, iritasi, peningkatan suhu, rasa sakit, dan gangguan fungsi (Fristiyohadi et al., 2019).

Fagosit mononuklear, sel T yang diaktifkan oleh antigen, sel *Natural Killer* (NK), dan sel mast adalah produsen utama TNF- $\alpha$ . Lipopolisakarida (LPS) adalah rangsangan yang kuat yang memicu produksi TNF- $\alpha$  oleh makrofag. Interferon gamma (IFN- $\gamma$ ), yang juga berperan dalam aktivasi makrofag dan meningkatkan produksi TNF- $\alpha$ , kemudian dihasilkan oleh sel NK dan T (Supit et al., 2015). Pencegahan penyakit Jantung Koroner (PJK) dapat dilakukan dengan menghambat kerja enzim HMG-CoA karena statin memiliki gugus yang mirip dengan bagian HMG dari substrat sehingga statin dapat menurunkan sintesis kolesterol untuk mencegah aterosklerosis (Zhang et al., 2020).

Hiperkolesterolemia dapat memicu perkembangan aterosklerosis, sebuah kondisi patologis yang dicirikan oleh peningkatan respons sistem kekebalan tubuh. Dalam proses ini, respon imun memainkan peran kunci pada berbagai tahap. Faktor yang mengatur aktivasi molekul adhesi seperti ICAM-1 selama perkembangan aterosklerosis melibatkan *nuclear factor* (NF- $\kappa$ B) dan pelepasan sitokin proinflamasi termasuk *Tumor Necrosis Factor - alpha* (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 (IL-1), serta interleukin-6 (IL-6) (Reverentia et al., 2012).

Peradangan sering kali diobati dengan obat farmakologis yang dikenal sebagai obat *antiinflamasi nonsteroid* (NSAID). Kemampuan NSAID untuk menekan

aktivitas siklooksigenase 1 dan 2 mengakibatkan penurunan sintesis prostaglandin E2 (PGE2) dan prostasiklin, yang dapat menghasilkan vasokonstriksi sebagai mediator inflamasi (Idacahyati et al., 2019). Obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID) umumnya digunakan untuk mengobati peradangan dan pembengkakan, termasuk indometasin dan aspirin. Namun, penggunaan dosis tinggi obat ini dapat berpotensi menyebabkan efek samping seperti resistensi terhadap obat, *hyponatremia*, masalah gastrointestinal, dan meningkatkan risiko perkembangan ulkus (Malik & Yulianti, 2022).

Terdapat beberapa tanaman yang dapat digunakan sebagai obat penurun kolesterol seperti pakcoy, nanas, dan seledri. Pakcoy (*Brassica rapa* L.) merupakan antioksidan kategori kuat yang bekerja dengan menghambat HMG-CoA dan meningkatkan HDL serum, tanaman ini juga mengandung betakarotene yang dapat mengikat asam empedu penyebab kolesterol (Mutryany & Lidar, 2018). Nanas (*Ananas comosus* L.) mengandung senyawa polifenol yaitu flavonoid yang terdiri dari *myciretin* yang dapat memperbaiki profil lipid (Sanggih et al., 2019). Selain itu, nanas mengandung enzim bromelain yang dapat menurunkan kadar kolesterol dengan melarutkan *lipid* dalam sistem pencernaan dan membantu pembersihan saluran pencernaan (Zuhrawati, 2014). Di sisi lain, seledri (*Apium graveolens* L.) mengandung vitamin C dan fitosterol yang dapat mencegah aterosklerosis serta menurunkan tingkat kolesterol (Saputra & Fitria, 2016).

Berdasarkan hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa banyak sekali tanaman yang dapat digunakan dalam pengobatan kolesterol, sehingga peneliti tertarik dalam melakukan kombinasi ketiga tanaman yakni pakcoy, nanas, dan seledri untuk diteliti kembali tentang pemberian kombinasi pakcoy, nanas, dan seledri terhadap kadar *Tumor Necrosis Factor-Alpha* (TNF- $\alpha$ ) dalam mencit hiperkolesterolemia.

## 1.2 Rumusan Masalah

Dengan latar belakang diatas, dapat diformulasikan pertanyaan atau permasalahan berikut “apakah terdapat aktivitas pemberian kombinasi pakcoy,

nanas, dan seledri terhadap kadar *Tumor Necrosis Factor-Alpha* (TNF- $\alpha$ ) pada mencit hiperkolesterolemia?”.

### **1.3 Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1 Tujuan umum**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi dari pakcoy, nanas, dan seledri terhadap reaksi inflamasi yang disebabkan oleh kondisi hiperkolesterolemia pada mencit (*Mus musculus*).

#### **1.3.2 Tujuan khusus**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat aktivitas pemberian kombinasi pakcoy, nanas, dan seledri terhadap kadar *Tumor Necrosis Factor-Alpha* (TNF- $\alpha$ ) pada mencit hiperkolesterolemia.

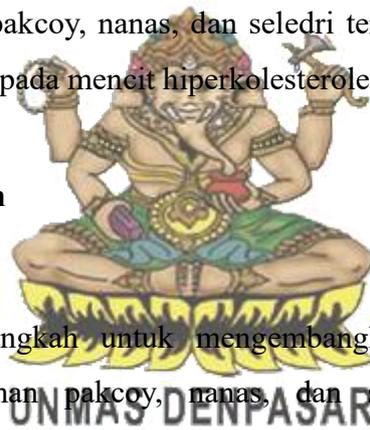
### **1.4 Manfaat Penelitian**

#### **1.4.1 Manfaat teoritis**

Penelitian ini langkah untuk mengembangkan teori antiinflamasi dari kombinasi dari tanaman pakcoy, nanas, dan seledri pada model mencit hiperkolesterolemia.

#### **1.4.2 Manfaat praktis**

Penelitian ini diharapkan dapat membuktikan manfaat aktivitas kombinasi pakcoy, nanas, dan seledri dalam mencegah hiperkolesterolemia melalui penurunan kadar *Tumor Necrosis Factor-Alpha* (TNF- $\alpha$ ).



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Inflamasi**

##### **2.1.1. Definisi inflamasi**

Salah satu reaksi mekanisme kekebalan tubuh terhadap invasi organisme asing atau penyakit lainnya adalah inflamasi yang merupakan reaksi jaringan hidup untuk melawan berbagai rangsangan (Arie Praherda et al., 2023). Kerusakan mikrovaskular, peningkatan permeabilitas kapiler, serta aliran leukosit menuju jaringan yang mengalami peradangan semua terjadi sepanjang proses inflamasi. Tanda-tanda peradangan meliputi kemerahan, peningkatan suhu, pembengkakan, rasa sakit, dan hilangnya fungsi di area yang terkena (Lister, 2020).

##### **2.2.1. Klasifikasi inflamasi**

Inflamasi dapat dibedakan antara bentuk akut dan kronis. Peradangan akut, sering disebut sebagai peradangan tipe akut, berkembang dengan cepat dan dicirikan oleh penumpukan cairan dan protein plasma, serta kenaikan yang substansial dalam jumlah sel darah putih neutrofil. Sementara itu, peradangan kronik adalah jenis peradangan yang berlangsung dalam jangka waktu lebih lama, bahkan dapat berlangsung dari hari hingga tahun. Peradangan kronik ditandai oleh masuknya limfosit dan makrofag ke dalam jaringan yang meradang, disertai dengan pertumbuhan pembuluh darah dan pembentukan jaringan baru (Fachri, 2019).

##### **2.1.2.1 Peradangan akut**

Peradangan akut adalah respon segera terhadap cedera yang bertujuan mengarahkan leukosit ke area yang terluka. Setelah mencapai area tersebut, leukosit bekerja untuk menghilangkan mikroba yang bisa menyebabkan infeksi dan mulai mendegradasi jaringan mati. Proses ini terbagi menjadi dua, yakni:

1. Perubahan pada struktur pembuluh darah: Vasodilatasi, yang merupakan pelebaran kapiler, mengakibatkan peningkatan aliran darah, sementara

peningkatan permeabilitas pembuluh darah, atau pelebaran kapiler, memungkinkan protein plasma keluar dari aliran darah

2. Terdapat sejumlah perubahan yang terjadi dalam sel: Dalam proses yang dikenal sebagai rekrutmen dan aktivasi sel, leukosit bermigrasi dari mikrosirkulasi dan berkumpul di area cedera.

Urutan peristiwa dalam peradangan akut disinkronkan oleh pelepasan mediator kimia pada tingkat lokal. Tiga dari lima gejala utama peradangan akut yang terlokalisasi, yaitu panas (*kalor*), kemerahan (*rubor*), dan pembengkakan (*tumor*), adalah hasil dari perubahan dalam pembuluh darah dan rekrutmen sel. Pelepasan mediator dan kerusakan yang disebabkan oleh leukosit adalah dua ciri penting tambahan dalam peradangan akut, yang juga mencakup nyeri (*dolor*) dan gangguan fungsi (*functio laesa*) (Fachri, 2019).

#### 2.1.2.2 Peradangan kronik

Peradangan kronis adalah peradangan yang berlangsung dan terjadi dalam jangka waktu yang lama, peradangan aktif, kerusakan jaringan dan penyembuhan pada saat bersamaan. Jika kita membandingkannya dengan peradangan akut yang ditandai oleh perubahan pada pembuluh darah, pembengkakan, dan peningkatan neutrofil yang signifikan, peradangan kronik memiliki ciri-ciri berikut:

- a. Sel mononuklear menginfiltrasi jaringan yang mengalami peradangan kronis, dan ini melibatkan sel-sel seperti makrofag, limfosit, serta sel plasma
- b. Kerusakan jaringan yang terjadi, yang kebanyakan terkait dengan proses peradangan itu sendiri
- c. Upaya perbaikan, yang melibatkan pembentukan pembuluh darah baru (*angiogenesis*) dan pembentukan jaringan parut (*fibrosis*) (Fachri, 2019).

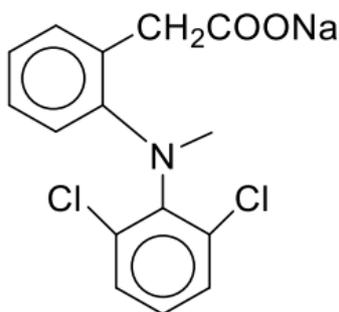
## 2.2 Uraian Obat

Obat antiinflamasi merujuk pada bahan aktif atau obat yang bertujuan untuk menghambat atau mengurangi proses inflamasi. Dengan menghambat aktivitas enzim siklooksigenase yang terlibat dalam pembentukan prostaglandin, obat antiinflamasi bertujuan untuk menghentikan proses inflamasi. Terdapat dua

kelompok obat antiinflamasi utama: steroid, yang mencegah prostaglandin dilepaskan dari sel tempatnya diproduksi, serta non-steroid, yang menghambat enzim siklooksigenase yang diperlukan untuk produksi prostaglandin. Terapi antiinflamasi memiliki dua tujuan utama, yakni meredakan nyeri sebagai gejala utama yang sering dirasakan oleh pasien dan mengurangi atau membatasi kerusakan jaringan yang dapat terjadi selama proses inflamasi (Mamarimbing et al., 2022). Obat *antiinflamasi steroid* meliputi kortison asetat, prednison, hidrokortison, *dexamethasone*, betamethason, dan sejenisnya. Contoh dari obat *antiinflamasi nonsteroid* (NSAID) meliputi asam asetil salisilat, indometasin, natrium diklofenak, fenilbutason, dan sejenisnya.

### 2.2.1 Uraian kimia

Nama Resmi	: Diclofenak sodium
Nama Lain	: Natrium Diklofenak
Rumus Kimia	: 2-[(2,6-dichlorophenyl)amino] acid monosodium salt, 2-[(2,6-dichlorophenyl)amino] asetic acid sodium salt, sodium 2- [(2,6-dichlorophenyl)amino] phenyl acetat GP 458450, Volteran, Voltarol.
Rumus Molekul	: $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$
Berat Molekul	: 318,13
Rumus Bangun	:



(Fitri Yani, 2021)

Kelarutan	: Mengkristal dalam air
Penggunaan	: Antiinflamasi

### 2.2.2 Mekanisme kerja

Enzim fosfolipase akan diaktifkan ketika membran sel mengalami kerusakan akibat pengaruh kimia, fisik, atau mekanik. Kemudian, enzim siklooksigenase akan mengubah sebagian dari asam lemak tak jenuh ganda ini menjadi endoperoksida, yang selanjutnya akan diubah menjadi prostaglandin (Parhan & Gulo, 2019). Ada dua isoenzim yang membentuk siklooksigenase, yakni COX-1 yang menghasilkan tromboksan & prostasiklin serta COX-2 yang menghasilkan prostaglandin. Sebagian besar COX-1 terletak di arteri darah, ginjal, saluran pencernaan, dan bagian tubuh lainnya. Sementara COX-2 biasanya tidak hadir di organ-organ ini, namun diproduksi oleh sel-sel inflamasi selama infeksi. Obat *antiinflamasi nonsteroid* (NSAID), idealnya tidak menghambat COX-1 (karena membantu menjaga mukosa lambung), tetapi menghambat COX-2, yang terkait dengan peradangan. Oleh karena itu, efek antiinflamasi NSAID terjadi karena penghambatan COX-2.



## 2.3 Uraian Tanaman

### 2.3.1 Pakcoy (*Brassica rapa* L.)



Sumber: Dokumentasi Pribadi (2023, 2.1)

**Gambar 2.1 Tanaman Pakcoy**

Tanaman sayuran yang dikenal dengan sebutan Pakcoy (*Brassica rapa* L.) adalah bagian dari keluarga Brassicaceae. Karena kaya akan berbagai vitamin dan

mineral yang esensial, pakcoy memiliki peran yang signifikan dalam memenuhi kebutuhan gizi manusia (Damayanti et al., 2019). Di samping itu, pakcoy memiliki kesamaan genetik dengan sawi. Pakcoy memiliki kemiripan dalam bentuk dengan sawi, tetapi ia lebih kecil, padat, dan memiliki batang daun yang lebih besar dan kuat (Suarsana et al., 2019).

#### 2.3.1.1 Klasifikasi tanaman pakcoy (*Brassica rapa* L.)

Secara taksonomi tumbuhan, klasifikasi pakcoy yakni:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Rheodales
Family	: Brassicaceae
Genus	: Brassica
Spesies	: <i>Brassica chinensis</i> L.



(Juliarti, 2021)

#### 2.3.1.2 Kandungan tanaman pakcoy (*Brassica rapa* L.)

Pakcoy termasuk dalam kelompok sayuran yang memiliki kandungan senyawa fenolik, tembaga, kalsium, serat, fosfor, protein, serta vitamin C, B2, B6, B, dan A yang tinggi. Senyawa-senyawa ini memiliki potensi sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan agen antimikroba (Aliwinarjo et al., 2022; Santoso & Widyawati, 2020). Banyak metabolit sekunder, termasuk flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan steroid, dapat ditemukan di Pakcoy. Beberapa di antaranya mempunyai gugus karbonil yang dapat berinteraksi dengan gugus hidroksil pada kolesterol, menghasilkan penurunan kadar kolesterol. Terlebih lagi, efek antioksidan yang menghambat aktivitas enzim HMG-CoA reduktase, yang mempercepat produksi kolesterol, dan meningkatkan fungsi lesitin asilkolesterol, menghasilkan penurunan kadar kolesterol. Peningkatan kadar HDL juga terjadi karena konversi lesitin dari kolesterol bebas menjadi ester yang berikatan dengan inti lipoprotein (Andriani & Anggraini, 2023).

Berdasarkan penelitian Andriani dan Anggraini tahun 2023 menyatakan bahwa ekstrak sawi pakcoy (*Brassica chinesis*) memiliki potensi sebagai antikolesterol. Hasil penelitian mengungkapkan bahwa nilai  $EC_{50}$  untuk ekstrak pakcoy yang diekstraksi dengan etanol 70% adalah sekitar 20,76 ppm, sedangkan untuk ekstrak yang diekstraksi dengan etanol 96%, nilainya adalah sekitar 29,10 ppm. Dengan demikian, dapat dikatakan jika dibandingkan dengan ekstrak etanol 96%, ekstrak etanol 70% mempunyai dampak anti kolesterol yang lebih besar.

### 2.3.2 Nanas (*Ananas comosus* L.)



Sumber: Dokumentasi Pribadi (2023, 2.2)

**UNMAS DENPASAR**  
**Gambar 2.2 Buah Nanas**

Nanas memiliki asal-usulnya dari Brasil di Amerika Selatan, di mana mereka tumbuh dengan baik di daerah beriklim panas dengan paparan sinar matahari yang cukup, terutama pada ketinggian 500 meter atau lebih di atas permukaan laut. Daun nanas mempunyai bentuk seperti taji serta memiliki duri pada tepi beberapa daun, meskipun ada yang tidak memiliki duri tetapi memiliki serat sebagai tangkai. Buah nanas berbentuk bulat panjang dengan isi berwarna kuning muda (Ardi et al., 2019).

#### 2.3.2.1 Klasifikasi tanaman nanas (*Ananas comosus* L.)

Secara taksonomi tumbuhan, klasifikasi nanas yaitu:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyte

Kelas	: Angiospermae
Sub kelas	: Monocotyledonae
Ordo	: Farinosae
Family	: Bromeliaceae
Genus	: Ananas
Spesies	: <i>Ananas Comosus</i> (L.) Merr

(Ardi et al., 2019).

### 2.3.2.2 Kandungan tanaman nanas (*Ananas comosus* L..)

Nanas mengandung senyawa polifenol, khususnya flavonoid, yang memiliki kemampuan untuk memperbaiki profil lipid dengan menghambat penyerapan lemak. Selain efeknya dalam mengatasi dislipidemia, flavonoid juga memiliki sifat antihistamin, antikarsinogenik, dan melindungi jantung. Flavonoid ini terdiri dari berbagai jenis, seperti myricetin, kaempferol, luteolin, apigenin, serta quercetin. Sebagai contoh, myricetin yang terdapat dalam nanas mampu memengaruhi penyerapan hati, sintesis trigliserida, dan pemrosesan lipoprotein plasma, sehingga berkontribusi pada perbaikan profil lipid. Selain myricetin, polifenol nanas dapat meningkatkan kadar HDL melalui peningkatan aktivitas enzim paraoxonase, yang pada gilirannya meningkatkan kinerja HDL. Selain itu, vitamin C dan niasin adalah dua zat lain yang dapat memengaruhi profil lipid dengan merangsang produksi empedu, yang membantu dalam pengeluaran kolesterol ekstrahepatik. Meskipun demikian, niasin diakui karena kemampuannya menghambat perpindahan lemak ke hati serta mengurangi produksi trigliserida. Oleh karena itu, niasin dianggap sebagai terapi yang efektif untuk kondisi dislipidemia, yang dapat mengakibatkan penurunan kadar kolesterol darah dan asam lemak bebas (Sanggih et al., 2019). Nanas juga mengandung enzim bromelin yang berfungsi sebagai agen antiinflamasi. Enzim bromelin ini merupakan enzim proteolitik dari tanaman *Ananas comosus* L.. Enzim ini berfungsi untuk menghambat produksi PGE<sub>2</sub> melalui hambatannya terutama pada aktivitas COX-2 (Amalia et al., 2017).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, pemberian jus nanas kepada kelinci yang menderita hiperkolesterolemia selama 10 hari secara berkesinambungan telah terbukti berkhasiat dalam mengurangi jumlah kolesterol total dalam sirkulasi darah. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pengobatan ini memiliki efek yang nyata ( $P < 0,05$ ). Penurunan jumlah kolesterol ini dapat dijelaskan oleh kandungan vitamin C, enzim bromelain, dan tingginya serat dalam nanas. Kecepatan pelepasan kolesterol sebagai asam empedu, yang pada akhirnya dikeluarkan melalui usus kecil, dipercepat oleh vitamin C. Enzim bromelin berfungsi dengan memecah lemak dalam usus, yang pada gilirannya dapat menurunkan kadar kolesterol. Sementara serat dalam nanas membantu mengurangi waktu retensi makanan dalam saluran pencernaan, yang kemudian diekskresikan dalam tinja dan membantu dalam penurunan kadar kolesterol (Zuhrawati, 2014).

### 2.3.3 Seledri (*Apium graveolens* L.)



Sumber: Dokumentasi Pribadi (2023, 2.3)

#### **Gambar 2.3 Tanaman Seledri**

Seledri (*Apium graveolens* L.) adalah tumbuhan yang dapat berkembang dengan baik di beragam ketinggian, termasuk dataran tinggi dan dataran rendah, dan sering digunakan sebagai tambahan dalam masakan (Fish et al., 2019). Tanaman seledri memiliki batang yang tidak berlignin, licin, bercabang, berwarna hijau, dan dapat tumbuh hingga mencapai satu meter. Daun-daunnya yang tipis dan

kompleks memiliki tangkai, dengan panjang tangkai daun biasanya berkisar antara 1 - 2,7 cm. Bunganya tunggal dengan tangkai yang nyata, dan kelopaknya tersembunyi. Sistem akar seledri adalah jenis akar tanggung dengan serat yang mencapai kedalaman hingga 30 cm di bawah tanah dan merambat ke samping (Binti et al., 2018).

### 2.3.3.1 Klasifikasi tanaman seledri (*Apium graveolens* L.)

Secara taksonomi tumbuhan, klasifikasi seledri sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Apiales
Family	: Apiaceae
Genus	: <i>Apium</i> L.
Spesies	: <i>Apium graveolens</i> L..



(Binti et al., 2018)

UNMAS DENPASAR

### 2.3.2.3 Kandungan tanaman seledri (*Apium graveolens* L.)

Tanaman ini mengandung senyawa seperti tanin, minyak atsiri, flavonoid, serta saponin (Fish et al., 2019). Selain itu, seledri juga mengandung fenol, kumarin, serta steroid. Steroid adalah lipid terpenoid yang memiliki empat cincin karbon dalam strukturnya. Gugus fungsi yang terhubung ke cincin yang telah mengalami oksidasi dan perubahan oksidatif pada cincin karbon menyebabkan perubahan struktural yang signifikan pada molekul steroid (Arsita Dewi & Mulya, 2019). Berdasarkan penelitian sebelumnya, dapat disimpulkan bahwa selain flavonoid, kalsium, zat besi, vitamin A, vitamin B1, vitamin C, fosfor, glikosida, apin, dan apiol merupakan salah satu bahan kimia metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman ini. Sering ditemukan pada tumbuhan, flavonoid merupakan golongan molekul metabolit sekunder dengan sifat polar dan larut dalam air.

Senyawa ini juga dikenal memiliki aktivitas antiinflamasi yang efektif (Juliarti, 2021).

Pada tanaman seledri mengandung senyawa flavonoid, 3-*n* butylphtalide (3nB), apigenin, apiin, tannin, dan saponin. Senyawa apigenin diketahui dapat berfungsi sebagai antiinflamasi yang bekerja sebagai penghambat angiogenesis yang poten melalui efek penghambatan sitokin inflamasi IL-6 jalur STAT3 (Lestari et al., 2018). Dari hasil penelitian sebelumnya, diketahui bahwa ekstrak seledri mengandung beragam senyawa flavonoid glikosida serta aglikon yang mempunyai sifat anti-inflamasi. Cara kerjanya melibatkan penghambatan aktivitas transkripsi faktor nuklir kappa B (NF-B) dan mengurangi produksi faktor nekrosis tumor (TNF) (Rusdiana, 2018).

## 2.4 Uraian Hewan Uji Mencit (*Mus musculus*)

### 2.4.1 Klasifikasi mencit (*Mus musculus*)



Sumber: Dokumentasi Pribadi (2023, 2.4)

**Gambar 2. 4 Hewan Mencit**

Kingdom	: Anamalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: Mus
Spesies	: <i>Mus musculus</i>

(Kartika et al., 2013)

### 2.4.2 Karakteristik mencit (*Mus musculus*)

Mencit (*Mus musculus*) merupakan salah satu hewan yang sering dimanfaatkan dalam penelitian ilmiah. Biasanya tubuh hewan ini berwarna putih atau keabu-abuan, dengan perut berwarna terang. Mencit dapat hidup hingga tiga tahun, meskipun masa hidup mereka biasanya hanya sekitar satu hingga dua tahun. Mencit sering kali siap kawin pada usia delapan minggu, terutama jika betina memiliki siklus estrus yang berlangsung selama empat hingga lima hari dan masa kehamilan sekitar 19 hingga 21 hari. Tipikal mencit dewasa memiliki berat antara 20 dan 40 gram untuk jantan dan antara 25 dan 40 gram untuk betina. Mencit merupakan makhluk nokturnal, artinya lebih aktif pada malam hari (Rejeki et al., 2018)



### 2.5 Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- $\alpha$ )

*Tumor Necrosis Factor-Alpha* (TNF- $\alpha$ ) adalah sitokin yang berperan penting dalam respon inflamasi akut terhadap bakteri gram negatif dan patogen lainnya. TNF- $\alpha$  dapat dihasilkan dalam jumlah besar sebagai tanggapan terhadap infeksi yang parah, yang kemudian dapat memicu reaksi sistemik. Untuk membedakan TNF- $\alpha$  dari varian lain seperti TNF- $\beta$  atau limfotoksin, sering kali TNF- $\alpha$  disebut juga sebagai sitotoksin. Fagosit mononuklear, sel T yang telah diaktifasi oleh antigen, sel NK, serta sel mastosit adalah produsen utama TNF- $\alpha$ . Lipopolisakarida, yang memiliki kemampuan tinggi untuk mengaktifkan makrofag, merupakan pemicu kuat pelepasan TNF. *Interferon gamma* (IFN- $\gamma$ ) yang diproduksi oleh sel T dan sel NK juga berperan dalam merangsang makrofag, meningkatkan produksi TNF, aktivitas makrofag, dan respon imun dalam jaringan dengan merangsang faktor pertumbuhan dan sitokin lain yang penting untuk mengendalikan hematopoiesis. Aktivitas sel T, sel B, aktivitas neutrofil dan makrofag. Respon imun tubuh terhadap invasi bakteri, virus, jamur, dan parasit juga dipengaruhi secara signifikan oleh TNF- $\alpha$  (Supit et al., 2015).

TNF-  $\alpha$  telah diidentifikasi sebagai regulator kunci dalam respon inflamasi dan memiliki peran dalam perkembangan penyakit inflamasi dan autoimun. TNF- $\alpha$

diproduksi oleh sel-sel seperti makrofag yang telah diaktifasi, limfosit T, dan sel pembunuh alami. Sitokin ini memiliki struktur protein homotrimer dan terdiri dari 157 asam amino. Dalam hal fungsinya, TNF-  $\alpha$  memicu berbagai molekul inflamasi, termasuk sitokin dan kemokin. TNF-  $\alpha$  terlibat dalam berbagai kondisi inflamasi, baik yang bersifat akut, kronis, maupun autoimun, termasuk *rheumatoid arthritis* (RA), *psoriatic arthritis* (PsA), penyakit radang usus (IBD), serta psoriasis (Jang et al., 2021). Kenaikan tingkat TNF-  $\alpha$  bisa disebabkan oleh sejumlah faktor, termasuk:

1. Faktor usia menjadi salah satu penyebab kenaikan kadar TNF-  $\alpha$ , dikarenakan peningkatan sinyal apoptosis dan penurunan sinyal kelangsungan hidup (Supit et al., 2015).
2. Stress dapat memicu terjadinya reaksi inflamasi sistem imun akibat dari hormon glukokortikoid dan kortisol sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan kadar TNF-  $\alpha$  (Supit et al., 2015)
3. Kurangnya aktivitas fisik dapat menyebabkan penurunan kadar lemak dalam tubuh sehingga meningkatkan prevalensi kadar TNF-  $\alpha$  (Yuniarti, 2017)



## 2.6 Hubungan Dislipidemia dengan Inflamasi

Peradangan merupakan respons terhadap cedera pada jaringan hidup yang memiliki vaskularisasi yang dimulai dengan adanya berbagai rangsangan endogen dan eksogen sehingga menyebabkan cedera pada jaringan vaskularisasi. Reaksi ini mungkin disebabkan oleh jaringan nekrotik dinding vaskular dan inflamasi. Reaksi inflamasi yang terjadi diikuti dengan suatu proses endotelium, dimana endotel merupakan bagian terpenting pada pembuluh darah yang berperan dalam proses arteriosklerosis. Akibat adanya faktor dislipidemia menjadikan endotelium sebagai target kerusakan secara mekanis dan kimia (Bakti, 2017). Aterosklerosis merupakan reaksi inflamasi kronik dari dinding pembuluh darah yang disebabkan oleh adanya gangguan endotel yaitu dengan adanya penarikan leukosit dengan aktivasi sel vaskular. Aliran darah yang turbulenta menyebabkan disfungsi endotel dan merangsang produksi sitokin pro-inflamasi (Candra & Wijaya, 2021).

Endotelium disebabkan oleh LDL yang teroksidasi sehingga dapat masuk ke dalam dinding pembuluh darah dan tunika intima. Oksidasi LDL dapat merangsang molekul adhesi sel vaskular-1 (VCAM-1) dan kemotaktik monosit protein-1 (MCP-1), yang menarik monosit ke dinding arteri dan monosit berdiferensiasi menjadi makrofag. Sehingga nantinya akan terjadi pembentukan sel busa yang memproduksi *reactive oxygen species* (ROS) dan menyebabkan peningkatan kadar TNF- $\alpha$  dan IL-1 (Wiguna et al., 2022).

### **2.7 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)**

Untuk menemukan antibodi atau antigen dalam sampel, digunakan metode biokimia yang disebut ELISA. Berdasarkan prinsip bahwa antibodi dan antigen memiliki reaksi yang unik, metode ELISA menggunakan penanda respons. Teknik ELISA hadir dalam empat bentuk berbeda, yakni ELISA langsung (*direct*), ELISA tidak langsung (*indirect*), ELISA sandwich, dan ELISA kompetitif. Penjelasan mengenai masing-masing tekniknya adalah yaitu:

1. Untuk menentukan konsentrasi dan mengidentifikasi antigen dalam sampel, digunakan metode *direct* ELISA. Ini dilakukan dengan mengikat antigen langsung dengan antibodi yang telah diberi label enzim. Metode ini memerlukan jumlah reagen yang lebih sedikit, sehingga memungkinkan proses berjalan lebih cepat serta memiliki tingkat sensitivitas yang tinggi (Elisa, 2017).
2. Dengan menempelkan enzim pada antibodi sekunder yang berikatan dengan antibodi asli, metode *indirect* ELISA mengukur konsentrasi antibodi. Metode ini memiliki tingkat sensitivitas yang tinggi dan tidak memerlukan banyak antibodi yang telah diberi label (Elisa, 2017).
3. Penggunaan antibodi penangkap antigen yang menempel pada permukaan fase padat membedakan metode Sandwich ELISA. Ada dua variasi teknik ini: ELISA sandwich langsung dan ELISA sandwich tidak langsung. Antigen dari sampel darah atau urin ditambahkan ke dalam lubang setelah antibodi penangkap dimasukkan, sehingga antigen dapat menempel pada antibodi penangkap. Apabila antibodi detektor yang telah dilabel dengan enzim

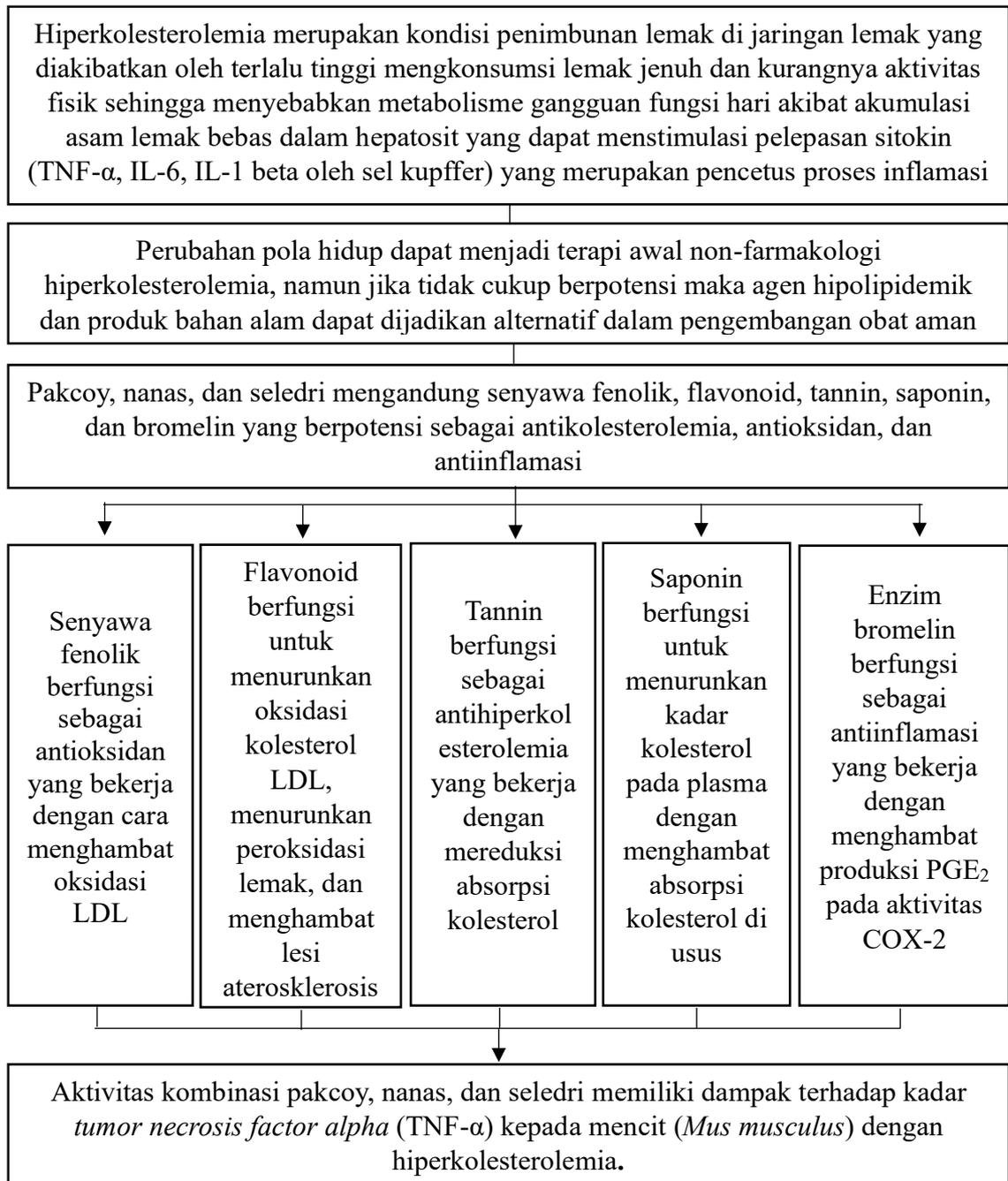
langsung ditambahkan ke dalam *well*, teknik ini disebut *direct sandwich* ELISA. Sebaliknya, jika antibodi detektor yang ditambahkan tidak memiliki label enzim, maka metodenya disebut *indirect sandwich* ELISA. Metode ini sangat selektif dan cocok untuk sampel yang sensitif dan rumit (Elisa, 2017).

4. Dengan menguji persaingan antara zat yang berbeda untuk mengikat antibodi, ELISA kompetitif digunakan untuk mengukur kadar antigen yang terdapat dalam sampel. Sampel terbatas yang tidak dapat diikat oleh dua jenis antibodi berbeda dapat digunakan dengan pendekatan ini (Elisa, 2017).

Prinsip *direct* ELISA diterapkan dalam penelitian ini. Metode ELISA, yang melibatkan penggunaan spektrofotometer dan perubahan warna dalam cairan, digunakan untuk melihat serta mengukur keberadaan antigen atau antibodi pada sampel. Pengiriman substrat enzim yang terikat pada antibodi kedua dalam kompleks antigen-antibodi, yang kemudian diikuti oleh pembentukan kompleks antigen-antibodi dalam lubang mikro, menyebabkan perubahan warna ini. Perubahan dalam warna menghasilkan nilai *optical density* (OD) yang dapat meningkat atau menurun tergantung pada pengenceran sampel standar, dan data ini digunakan untuk membuat kurva *dose-response* untuk mengestimasi kadar protein (Fadhilah et al., 2021). Hasil ELISA dapat dianalisis baik secara kuantitatif maupun kualitatif. Dalam analisis kuantitatif, data diukur berdasarkan nilai *optical density* (OD) dengan ELISA reader. Sementara itu, pada analisis kualitatif, pengamatan dilakukan terhadap perubahan warna, yang dapat berubah menjadi kuning selama reaksi pengujian apabila sampel mengandung antigen.

## 2.8 Kerangka Konseptual

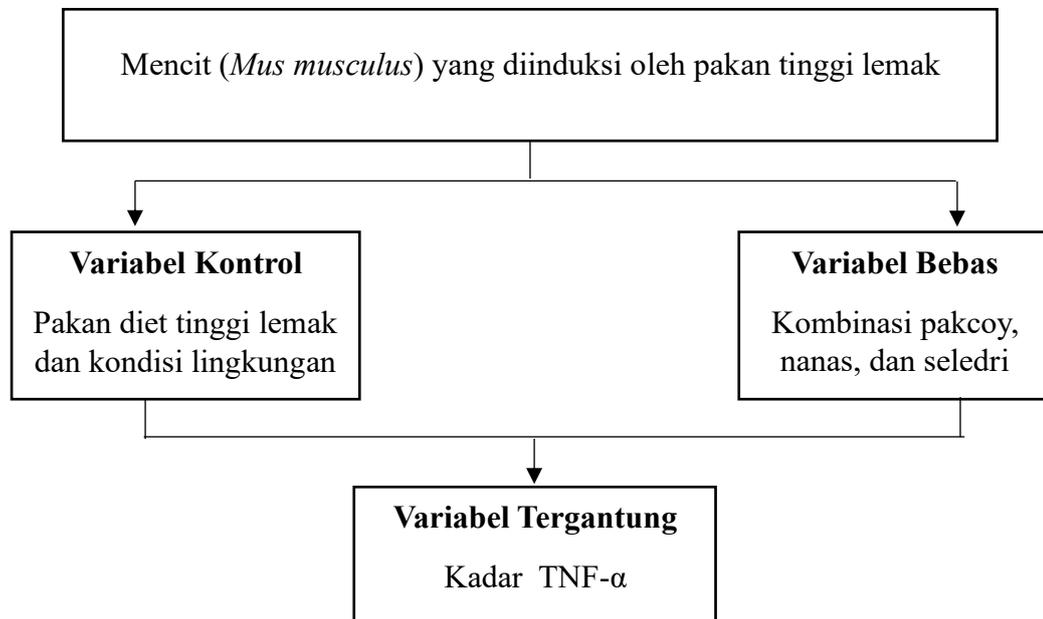
### 2.8.1 Kerangka Teori



Sumber: Dokumentasi Pribadi (2023, 2.5)

**Gambar 2.5 Kerangka Teori**

### 2.8.2 Kerangka Konsep



————— = Diteliti



Sumber: Dokumentasi Pribadi (2023, 2.6)

**Gambar 2.6 Kerangka Konsep**

**UNMAS DENPASAR**

### 2.9 Hipotesis

Diduga pemberian kombinasi pakcoy, nanas, dan seledri memiliki dampak terhadap kadar *Tumor Necrosis Factor-Alpha* (TNF- $\alpha$ ) kepada mencit (*Mus musculus*) dengan hiperkolesterolemia.