

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sel-sel sistem kekebalan tubuh membutuhkan jaringan komunikasi yang diperlukan bertindak sementara atau secara berkelanjutan. Jaringan yang memungkinkan seperti dalam respons imun yang menggunakan berbagai macam pembawa pesan yang terikat membran sel. Sitokin adalah kelompok-kelompok protein yang dapat merespon pesan sistem imun antar sel dalam tubuh (Kelso, 1998). Sitokin adalah mediator yang mempromosikan berbagai respons biologis, terutama yang terlibat dalam aktivasi sel-sel sistem kekebalan tubuh (makrofag, sel-T, sel-B, dan sel dendritik). Sitokin terjadi dalam sistem biologis pada tingkat konsentrasi yang rendah, oleh karena itu pengukuran yang dikembangkan untuk mengukurnya harus sangat sensitif. Sitokin memiliki banyak peran, yang paling menonjol adalah sebagai respon imun dari adanya inflamasi (Opal & DePalo, 2000).

Sitokin secara fisiologis, bertindak sebagai imunomodulator, membatasi efek yang berpotensi merugikan dari respons inflamasi yang berkelanjutan atau berlebihan. Sitokin secara patologis, mediator anti-inflamasi yang dihasilkan dapat mengontrol aktivitas proinflamasi pada penyakit yang dimediasi kekebalan yang membuat inang bebas dari infeksi. Sitokin proinflamasi, seperti interleukin (IL)-1, IL-6 dan faktor nekrosis tumor (TNF)- α , dilepaskan dari sel imun yang teraktivasi sebagai respons terhadap patogen (Munoz *et al.*, 1991).

Respon imun tubuh manusia berfungsi pada saat tubuh terkena virus ataupun bakteri. Paru-paru sebagai target utama virus dan bakteri salah satunya pada penyakit *Acute Respiratory Distress Syndrome* (ARDS). Meskipun ARDS memerlukan perhatian dan penelitian lebih lanjut tentang penyakit ini, kurangnya kriteria diagnostik dan pemahaman yang buruk tentang patogenesis ARDS membuat sulit untuk membandingkan antar penelitian. (Bauman *et al.*, 2015). ARDS adalah gangguan pernapasan akut yang disebabkan oleh penumpukan cairan di alveoli, gejala utama dari ARDS

ini adalah sulit bernapas. ARDS diduga menyebabkan proliferasi mediator inflamasi dimana inflamasi adalah respon imun alami tubuh terhadap rangsangan berbahaya, seperti kerusakan jaringan dan patogen yang menyerang, dan respons ini diperlukan sebagai mekanisme pertahanan untuk menghilangkan bahaya (Edward, 2004).

Salah satu faktor penyebab ARDS adalah sepsis, yang menyebabkan kondisi inflamasi pada tahap awal sepsis. Terjadi upregulasi sitokin inflamasi seperti TNF- α dan IL-1 β , serta akumulasi dan aktivasi sel inflamasi seperti neutrofil. Neutrofil ini diaktifkan dan bermigrasi dalam jumlah besar melintasi permukaan epitel vaskular dan alveolar, melepaskan protease, sitokin, dan *reactive oxygen species* (ROS) (Bakhtiar & Maranatha, 2015). Sitokin inflamasi seperti, TNF- α , IL-1 β , interleukin 6 (IL-6), dan IL-8 meningkat pada bronkoalveolar pada pasien ARDS dan lebih tinggi pada yang meninggal daripada yang selamat. (Blondonnet *et al.*, 2016).

Berdasarkan penelitian sebelumnya pada ARDS ini telah diketahui mengalami inflamasi yang menyebabkan protein sitokin diproduksi sebagai respon sel imun dalam tubuh. Telah banyak penelitian mengenai peran dari sitokin dalam inflamasi ARDS dan masih memerlukan penelitian lebih lanjut terhadap kasus ini. Salah satunya dengan menggunakan model dari hewan sebagai model ARDS. Hewan yang digunakan untuk memperoleh model ARDS yaitu dengan cara menggunakan tikus yang diinduksi oleh mikroba yang dapat menyebabkan ARDS. Tikus yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague dawley. Tikus Sprague dawley adalah jenis yang banyak digunakan dalam penelitian karena perkembangbiakannya yang cepat, sifatnya yang tenang, dan penanganan yang relatif mudah (Rosidah *et al.*, 2020). Salah satu pemicu dari terjadinya penyakit ARDS ini adalah lipopolisakarida (LPS).

Lipopolisakarida adalah produk dari dinding sel bakteri gram negatif, yang merupakan fragmen aktif dari endotoksin. LPS mengaktifkan makrofag alveolar, yang memungkinkan menyerang dan merusak paru-paru, menyebabkan inflamasi (Blackwell *et al.*, 1999 dan Zhou *et al.*, 1998). Pemberian LPS juga meningkatkan kadar sitokin IL-1, IL-6 dan TNF- α pada

paru-paru (Layd *et al.*, 1995; Nguyen *et al.*, 1998).

Teh hijau yang telah diketahui memiliki berbagai macam senyawa yang dapat bermanfaat bagi tubuh. Studi teh secara *in vitro* maupun *in vivo* terhadap hewan telah banyak dilakukan, dan teh telah teruji secara klinis memiliki khasiat beragam. Polifenol yang terkandung dalam teh hijau bermacam-macam terutama flavonoid. Flavonoid adalah derivat fenol yang merupakan komponen penting yang berpengaruh pada kesehatan, disintesis dalam jumlah tertentu dan terdistribusi luas dalam sejumlah tanaman. Flavonoid utama dalam teh hijau adalah katekin, epigallocatechin-3-gallat (EGCG), epigallocatechin (EGC), epicatechin-3-gallat (ECG) dan epicatechin (EC) (Saryono, 2013). Flavonoid memiliki fungsi yang beragam sebagai antioksidan, antialergi, antimikroba dan antiinflamasi (Reygaert, 2014). Flavonoid pada teh hijau berfungsi untuk membatasi pelepasan mediator inflamasi (Saryono, 2013). Mediator inflamasi seperti sitokin perlu diukur untuk dapat melihat manfaat teh sebagai antiinflamasi dengan uji ELISA.

ELISA (*enzyme linked immunosorbent*) adalah metode yang berfungsi secara akurat dalam memperkirakan ng/ml ke pg/ml sampel dalam larutan, seperti serum, urin, sperma, supernatan kultur, sitokin dan mediator atau indikator inflamasi (Leng *et al.*, 2008; Savige *et al.*, 1998). ELISA telah banyak digunakan dalam penelitian ilmu kehidupan (Ma *et al.*, 2008). Prinsip dasar elisa adalah menggunakan enzim untuk mendeteksi pengikatan antibodi antigen (Ag) (Ab). Enzim mengubah substrat tidak berwarna (kromogen) menjadi produk berwarna, menunjukkan adanya pengikatan Ag:Ab. ELISA dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan Ags atau Abs dalam sampel, tergantung pada bagaimana tes dirancang. ELISA mencakup tahapan yang memungkinkan komponen yang merespons dan tidak bereaksi untuk dibedakan. Pada fase padat, di mana komponen disajikan dan diikat secara berturut-turut, reaksi terjadi. Komponen yang tidak relevan, tidak bereaksi, dan berpotensi menghambat dihilangkan setelah setiap tahap (Clark *et al.*, 1986). Sebagian besar aplikasi ELISA melibatkan studi tentang sistem kekebalan adaptif. ELISA telah dianggap sebagai metode pengukuran sitokin

standar dan banyak digunakan di laboratorium klinis dan penelitian biomedis.

Uji ELISA telah dianggap sebagai metode pengukuran yang standar untuk beberapa jenis protein salah satunya protein sitokin yang terlibat dalam inflamasi. Munculnya inflamasi pada penderita penyakit ARDS yang menyebabkan tidak terkontrolnya kadar sitokin pada penderita, menyebabkan perlunya dilakukan penelitian mengenai pengaruh ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis* L.) untuk melihat aktivitas antiinflamasi pada hewan uji model ARDS yang diinduksi lipopolisakarida. Respon inflamasi yang diteliti meliputi IL-18 dan IL-1 β pada serum darah dan jaringan paru-paru dari tikus yang digunakan sebagai model hewan uji ARDS.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah: “Bagaimana kadar IL-18 dan IL-1 β dari serum darah dan jaringan paru-paru pada tikus model tikus model *Acute Respiratory Distress Syndrome* (ARDS) yang telah diinduksi lipopolisakarida (LPS) dan ekstrak teh hijau (ETH)?”

1.3 Pertanyaan Penelitian

Pertanyaan dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. Berapa konsentrasi IL-18 dan IL-1 β pada serum darah tikus model ARDS yang diinduksi lipopolisakarida dan pemberian ekstrak teh hijau?
2. Berapa konsentrasi IL-18 dan IL-1 β pada jaringan paru-paru tikus model ARDS yang diinduksi lipopolisakarida dan pemberian ekstrak teh hijau?
3. Berapa dosis ekstrak teh hijau yang dapat menurunkan konsentrasi sitokin IL-18 dan IL-1 β berdasarkan hasil uji ELISA dari sampel darah dan jaringan paru-paru pada tikus model ARDS yang diinduksi oleh lipopolisakarida?

1.4 Tujuan

1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar sitokin IL-18 dan IL-1 β dari sampel serum darah dan jaringan paru-paru pada tikus model

Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) yang diinduksi dengan lipopolisakarida (LPS) dan ekstrak teh hijau.

2. Tujuan Khusus

- a. Mengetahui kadar sitokin IL-18 dan IL-1 β pada serum darah pada tikus model ARDS yang diinduksi lipopolisakarida dan ekstrak teh hijau
- b. Mengetahui kadar sitokin IL-18 dan IL-1 β pada jaringan paru-paru tikus model ARDS yang diinduksi lipopolisakarida dan ekstrak teh hijau
- c. Mengetahui dosis ekstrak teh hijau yang dapat menurunkan konsentrasi sitokin IL-18 dan IL-1 β berdasarkan hasil uji ELISA dari sampel darah dan jaringan paru-paru pada tikus model ARDS yang diinduksi oleh lipopolisakarida.

1.5 Batasan Penelitian

Penelitian ini dilakukan berdasarkan sampel serum darah dan jaringan paru-paru dari tikus model ARDS yang telah diberi perlakuan lipopolisakarida dan ekstrak teh hijau. Adapun bagian tanaman yang digunakan adalah daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) yang diekstraksi menggunakan etanol 70%. Dosis perlakuan yang digunakan sebelumnya adalah 50, 400, atau 800 mg/kg bobot badan tikus yang diberikan secara *gavage*, pemberian ekstrak teh hijau (ETH) dilakukan selama 28 hari sebelum injeksi LPS dengan dosis 5 μ g/g BB dan 14 hari setelah injeksi lipopolisakarida (LPS). Parameter yang diamati setelah pemberian ETH dan injeksi LPS adalah IL-18 dan IL-1 β yang diambil dari sampel serum darah dan jaringan paru-paru, pengukuran dilakukan dengan uji *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA).

1.6 Manfaat Penelitian

Manfaat yang didapat dari penelitian ini diantaranya:

1. Menambah khasanah keilmuan mengenai potensi ekstrak teh hijau sebagai agen antiinflamasi melalui uji ELISA.

2. Mengetahui potensi ekstrak teh hijau sebagai agen antiinflamasi pada tikus model ARDS yang diinduksi LPS melalui uji ELISA.
3. Sebagai informasi atau data mengenai potensi ekstrak teh hijau untuk digunakan dalam meminimalkan efek penyakit yang ditimbulkan ARDS dengan menggunakan uji ELISA.

1.7 Struktur Organisasi Skripsi

Struktur organisasi penulisan skripsi mengenai isi dari skripsi ini sebagai berikut :

1. Bab I Pendahuluan

Bab I pendahuluan berisi penjelasan latar belakang penelitian ini beserta rumusan masalah, tujuan penelitian dan manfaat penelitian.

2. Bab II Tinjauan Pustaka

Bab II berisi penjelasan mengenai topic-topik permasalahan dalam penelitian ini. Pada penulisan bab ini didasarkan pada hasil penelitian sebelumnya dan teori-teori yang relevan. Topik utama yang dipaparkan dalam bab ini seperti uji ELISA, inflamasi dan mekanismenya, *Acute Respiratory Distress Syndrome*, lipopolisakarida, teh hijau dan galur tikus *Sparague Dawley*.

3. Bab III Metode Penelitian

Bab III dijelaskan jenis dan desain penelitian yang digunakan, tempat dan waktu penelitian, alat dan bahan penelitian, prosedur penelitian yang terdiri dari ekstraksi teh hijau beserta perlakuan hewan, pengambilan sampel, uji ELISA, dan analisis data beserta alus penelitian yang merepresentasikan penelitian ini secara singkat.

4. Bab IV Temuan dan Pembahasan

Bab IV berisi hasil dan temuan dari penelitian ini, memaparkan data yang telah diolah dan dianalisis yang direpresentasikan lewat grafik maupun tabel dari hasil perhitungan hasil uji ELISA dari sampel serum darah dan jaringan paru-paru. Hasil temuan dibahas dengan mengaitkan pada teori-teori yang dikemukakan pada bab II

5. Bab V Simpulan, Implikasi dan Rekomendasi

Bab V initerdiri dari simpulan, imolikasi dan rekomendasi merupakan penjelasan singkat dari inti penafsiran peneliti terhadap hasil penelitian dan ditambahkannya beberapa hal penting untuk pertimbangan dalam perkembangan topik penelitian di masa yang akan datang.