

**UJI EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN COCOR BEBEK (*Bryophyllum*
pinnatum) TERHADAP KADAR TGF- β SERUM MENCIT BALB/C
MODEL LUPUS**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh :

**Siti Asyifa Mustafa
155070101111073**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Siti Asyifa Mustafa

NIM : 155070101111073

Program Studi : Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran

Universitas Brawijaya

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini adalah hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri.

Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 12 November 2018

Yang membuat pernyataan,



Siti Asyifa Mustafa

NIM. 155070101111073

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir sarjana kedokteran dengan judul **“Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (*Bryophyllum Pinnatum*) Terhadap Kadar TGF- β Serum Mencit Balb/C Model Lupus”**. Penulis berharap tugas akhir ini dapat memperkaya wawasan serta dapat memberikan kontribusi dalam ilmu pengetahuan khususnya di bidang kesehatan.

Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak yang telah turut membantu hingga penulisan tugas akhir ini selesai, tanpa bantuan dan semangat yang diberikan tidaklah mungkin bagi penulis dapat menyelesaikan penelitian ini tepat pada waktunya. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Dr. dr. Umi Kalsum, M.Kes selaku pembimbing I, dr. Andhika Yudistira, Sp.OT(K) selaku pembimbing II dan dr. Novi Khila Firani, M.Kes, Sp.PK selaku Ketua Tim Penguji Tugas Akhir yang telah meluangkan waktu, pikiran, bimbingan, ilmu, nasehat serta motivasi kepada penulis demi selesai dan kesempurnaan tugas akhir ini.
2. Dr. dr. Nurdiana, M.Kes selaku peneliti utama pohon penelitian Uji Efikasi Ekstrak Daun Cocor Bebek (*Bryophyllum pinnatum*) pada Mencit Balb/C Model Lupus yang telah membimbing, memotivasi, dan memberikan ilmu kepada penulis.
3. Ketua Program Studi Pendidikan Dokter dr. Triwahju Astuti, M.Kes, Sp.P(K) yang telah membimbing penulis menuntut ilmu di Program Studi Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
4. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Dr.dr. Sri Andarini, M.Kes, beserta staf pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

5. Mas Memet, Bu Fer, Mas Yudha, dan Bu Lilis selaku analis Lab.

Farmakologi, Lab. Biomedik, dan Lab. Kawi yang membantu penulis sepanjang penelitian.

6. Ayahanda Mustafa Getteng dan Ibunda Asmawati Yahya serta keluarga besar yang telah mencurahkan segala doa, semangat dan kasih sayang kepada penulis selama ini.

7. Anggota Tim Penelitian Acha, Fahmi, Febrinda, Hanifah, dan Novi yang telah berjuang bersama menyelesaikan penelitian ini.

8. Sahabat-sahabat Ardhea, Fadillah, Annisa, Tiara, Finca, Hanifah, Vathya, Ratri, Dinah, Alvina, dan XAS yang telah sabar dan setia memberi motivasi dan semangat untuk menyelesaikan penelitian ini.

9. Teman-teman angkatan 2015 terutama kelas PDB yang selalu menemani dan memberi semangat.

10. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan tugas akhir dan telah mendoakan suksesnya tugas akhir ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini belum sempurna, maka dari itu penulis mengharapkan kritik dan saran untuk penyempurnaan tugas akhir ini.

Malang, 12 November 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Akademis	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Lupus Eritematosus Sistemik	5
2.1.1 Definisi LES	5
2.1.2 Etiologi LES	5
2.1.3 Patogenesis LES	5
2.1.4 Epidemiologi LES	8
2.1.5 Manifestasi Klinis LES	9
2.1.6 Diagnosis LES	10
2.2 Pengobatan Lupus Eritematosus Sistemik	11

2.3	Transforming Growth Factor- β (TGF- β)	13
2.4	Pristane	14
2.5	Cocor Bebek	15
2.5.1	Taksonomi	15
2.5.2	Metabolit Sekunder Cocor Bebek	16
2.5.3	Manfaat Cocor Bebek	17
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....		18
3.1	Kerangka Konsep	18
3.2	Penjelasan Kerangka Konsep	19
3.3	Hipotesis Penelitian	20
BAB 4 METODE PENELITIAN		21
4.1	Rancangan Penelitian	21
4.2	Populasi dan Sampel.....	21
4.2.1	Populasi Penelitian	21
4.2.2	Sampel Penelitian	21
4.3	Variabel Penelitian	23
4.3.1	Variabel Bebas	23
4.3.2	Variabel Terikat	23
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian	23
4.5	Bahan dan Alat / Instrumen Penelitian	23
4.6	Definisi Operasional	24
4.6.1	Ekstrak Cocor Bebek	24
4.6.2	TGF- β	25
4.7	Prosedur Penelitian	25
4.7.1	Persiapan Hewan Coba	25
4.7.2	Ekstraksi Daun Cocor Bebek	25
4.7.3	Pembuatan Model Hewan Lupus Menggunakan Pristane	26
4.7.4	Pemberian Ekstrak Cocor Bebek pada Mencit Strain Balb/C yang Diinduksi Pristane.....	26
4.7.5	Prosedur Pengukuran Kadar TGF- β	26
4.8	Analisa Data	27
4.9	Alur Penelitian.....	27
4.10	Jadwal Penelitian.....	28

BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA.....29

5.1 Hasil Penelitian.....29

**5.1.1 Hasil Pengamatan Manifestasi Mencit Balb/c Model LES Induksi
Pristane.....30**

5.2 Analisis Data Kadar TGF- β31

5.2.1 Hasil Rerata Kadar TGF- β31

5.2.2 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas Varian.....32

5.2.3 Hasil Uji *One-way* ANOVA.....32

5.2.4 Hasil Uji *Post-Hoc* Tukey.....33

**5.2.5 Korelasi Dosis Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (*Bryophyllum
pinnatum*) dan Kadar TGF- β Serum.....34**

5.2.6 Hasil Uji Regresi.....35

BAB 6 PEMBAHASAN36

6.1 Manifestasi Klinis Mencit Balb/C Model LES Induksi Pristane.....36

**6.2 Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek Terhadap Kadar TGF- β
Serum.....37**

6.3 Keterbatasan Penelitian.....40

BAB 7 PENUTUP41

7.1 Kesimpulan.....41

7.2 Saran.....41

DAFTAR PUSTAKA.....42

LAMPIRAN.....47

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 4.1	Jadwal Pelaksanaan Penelitian.....	28
Tabel 5.1	Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas.....	32
Tabel 5.2	Hasil Uji One-Way ANOVA.....	33
Tabel 5.3	Hasil Uji Post-Hoc Tukey.....	33
Tabel 5.4	Hasil Uji Korelasi Pearson.....	34



DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar 2.1	Mekanisme Patogenesis LES.....	7
Gambar 2.2	Struktur Kimia Pristane.....	11
Gambar 2.3	Tanaman Cocor Bebek.....	16
Gambar 3.1	Kerangka Konsep Penelitian.....	18
Gambar 4.1	Alur Penelitian.....	27
Gambar 5.1	Manifestasi Klinis LES Pasca Injeksi Pristane.....	30
Gambar 5.2	Hasil Rerata Kadar TGF- β Serum Mencit.....	31



DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1	Surat Keterangan Kelaikan Etik.....	47
Lampiran 2	Hasil Pengukuran Kadar TGF- β	48
Lampiran 3	Hasil SPSS Kadar TGF- β	49
Lampiran 4	Dokumentasi Penelitian.....	53



DAFTAR ISTILAH & SINGKATAN

ACR	: American college of Rheumatology
ANA	: Anti-nuclear Antibody
Anti-RNP	: Anto-Ribonuclear Protein
Anti-Sm	: Anti-Smith
APC	: Antigen Presenting Cell
BAFF	: B-cell Activating Factor of the TNF Family
CD25+	: Cluster of Differentiation 25+
CD4+	: Cluster of Differentiation 4+
CRP	: C-reactive Protein
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
Ds-DNA	: Double Stranded DNA
Fc	: Fragment Crystallizable
FDA	: Food and Drug Administration
HLA DR3/2	: Human Leukocyte Antigen DR3 / DR2
IFN-I	: Interferon-I
IFN- α	: Interferon Alpha
IgA	: Immunoglobulin A
IL-1	: Interleukin-1
IL-12	: Interleukin -2
IL-17	: Interleukin-17
IL-1A	: Interleukin-1A
IL-1B	: Interleukin-1B
IL-6	: Interleukin-6
IL-8	: Interleukin-8
LED	: Laju Endap Darah
LES	: Lupus Eritematosus Sistemik
NO	: Nitrit Oxide
OAINS	: Obat Anti-Inflamasi Non-Steroid

pDCs : *Plasmacytoid Dendritic Dells*

RF : *Rheumatoid Factor*

ROS : *Reactive Oxygen Species*

SIRS : *Sistem Informasi Rumah Sakit*

Ss-RNA : *Single Stranded DNA*

TGF- β : *Transforming Growth Factor- β*

Th : *T Helper*

Th17 : *Thelper 17*

Th2 : *Thelper 2*

TLRs : *Tool-Like Receptors*

TNF- α : *Tumor Necrosis Factor Alpha*

Treg : *T Regulator*

UV : *Ultraviolet*



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

UJI EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN COCOR BEBEK (*Bryophyllum pinnatum*) TERHADAP KADAR TGF- β SERUM MENCIT BALB/C
MODEL LUPUS

Oleh :

Siti Asyifa Mustafa
NIM. 155070101111073

Telah diuji pada

Hari : Kamis

Tanggal : 29 November 2018

Dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I

dr. Novi Khila Firani, M.Kes, Sp.PK
NIP.197611022003122001

Pembimbing I/Penguji II,

Dr. dr. Umi Kalsum, M.Kes
NIP. 195505121987012001

Pembimbing II/Penguji III,

dr. Andhika Yudistira, Sp.OT(K)
NIP. 196305102009121002

Mengetahui,

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter

dr. Triwahyu Astuti, M.Kes., Sp.P(K)
NIP. 196310221996012001

ABSTRAK

Mustafa, Siti Asyifa. 2018. **Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (*Bryophyllum Pinnatum*) Terhadap Kadar TGF- β Serum Mencit Balb/C Model Lupus**. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. dr. Umi Kalsum, M.Kes, (2) dr. Andhika Yudistira, Sp.OT(K).

Lupus Eritematosus Sistemik (LES) merupakan suatu penyakit autoimun yang merangsang sistem imun untuk menyerang berbagai sistem jaringan tubuhnya sendiri yang ditandai dengan pembentukan autoantibodi yang menyebabkan terjadinya inflamasi kronis. Di Indonesia pada tahun 2016, jumlah kematian pasien LES meningkat hampir tiga kali lipat dari 2 tahun sebelumnya. Daun *Bryophyllum pinnatum* memiliki banyak efek seperti anti-inflamasi, relaksan otot, anti-hipertensi dan lainnya. Ekstrak *Bryophyllum pinnatum* pun memiliki efek menekan sistem imun yaitu dengan menekan kadar Th dan sel B matur. Tujuan dari penelitian ini untuk Mengetahui efek dari pemberian ekstrak etanol daun *Bryophyllum pinnatum* terhadap kadar TGF- β pada serum mencit Balb/c yang diinduksi pristane. Penelitian ini merupakan studi eksperimental menggunakan *post test only control group design* yang dilakukan terhadap hewan coba mencit balb/c betina. Sampel dibagi dalam 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif, kontrol positif yang diinduksi pristane 0,5 ml intraperitoneal, dan 3 kelompok perlakuan yang mendapat ekstrak etanol daun cocor bebek masing-masing sebesar 10,5 mg/kgBB, 21 mg/kgBB, dan 42 mg/kgBB. Variabel yang diukur adalah kadar TGF- β serum mencit balb/c dengan metode ELISA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa induksi pristane menurunkan kadar TGF- β secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kontrol negatif serta ekstrak etanol daun *Bryophyllum pinnatum* dosis 21 mg/kgBB dan 42 mg/kgBB dapat meningkatkan kadar TGF- β secara signifikan ($p < 0,05$). Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak etanol daun *Bryophyllum pinnatum* meningkatkan kadar TGF- β serum mencit balb/c model lupus sebagai agen anti-inflamasi.

Kata kunci: Lupus Eritematosus Sistemik, TGF- β , *Bryophyllum pinnatum*, pristan

ABSTRACT

Mustafa, Siti Asyifa. 2018. ***The Effect of Bryophyllum pinnatum Leaves Ethanol Extract on Serum TGF- β in Lupus Model Balb/C Mice***. Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Dr. dr. Umi Kalsum, M.Kes, (2) dr. Andhika Yudistira, Sp.OT(K).

Lupus Erythematosus Systemic (LES) is an autoimmune disease that trigger the immune system to attack its own tissues marked by the production of autoantibodies that caused chronic inflammation. In Indonesia, the number of LES patient deaths increased threefold from the previous 2 years from 2014 to 2016. The leaves of *Bryophyllum pinnatum* have many effects such as anti-inflammatory, muscle relaxants, anti-hypertension and others. *Bryophyllum pinnatum* extract also has immunosuppressive effects, by decreasing Th levels and mature B cells. The purpose of this study was to determine the effect of *Bryophyllum pinnatum* leaves ethanol extract on TGF- β levels in pristane-induced lupus model balb/c mice. This research is an experimental study using post test only control group design carried out on balb/c mice. The samples were divided into 5 groups, the negative control group, positive control which was induced by pristane 0.5 ml intraperitoneal, and 3 treatment groups that received the ethanol extract of *Bryophyllum pinnatum* leaves each at 10.5 mg/kgBW, 21 mg/kgBW, and 42 mg/kgBW. The serum TGF- β levels measured by using the ELISA method. The results showed that pristane induction significantly reduced TGF- β levels ($p < 0.05$) compared to the negative control group and the ethanol extract of *Bryophyllum pinnatum* leaves at 21 mg/kgBW and 42 mg/kgBW significantly increased TGF- β levels ($p < 0.05$). The conclusion of this study is that the ethanol extract of the *Bryophyllum pinnatum* leaves increases serum TGF- β levels in the lupus model balb/c mice as an anti-inflammatory agent.

Keyword: Systemic Lupus Erythematosus, TGF- β , *Bryophyllum pinnatum*, pristan

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit Lupus Eritematosus Sistemik (LES) merupakan suatu penyakit autoimun yang merangsang sistem imun untuk menyerang berbagai sistem jaringan tubuhnya sendiri yang ditandai dengan pembentukan autoantibodi yang menyebabkan terjadinya inflamasi kronis (Soedarto, 2014). Penyakit ini dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan kegagalan fungsi berbagai organ seperti arthritis pada sendi, ruam kulit, endokarditis, glomerulonefritis pada ginjal, pleuritis, dan lainnya (Bartels, 2017).

Patogenesis LES sangat kompleks dan belum diketahui dengan jelas dan memiliki banyak faktor yang berperan seperti genetik, hormon dan lingkungan.

Diketahui bahwa pada pasien LES terdapat sel B yang lebih sensitif serta berkurangnya aktivitas Tregulator (Jianxin *et al.*, 2009). Hiperaktivitas pada sel B yang menyimpang selanjutnya akan berperan dalam pengambilan dan presentasi autoantigen terhadap sel T. Sel B dan sel T juga akan mempengaruhi produksi sitokin-sitokin seperti *Tumor Growth Factor- β* (TGF- β), *Interleukin-1* (IL-1), *Interleukin-6* (IL-6), dan lainnya (Ahmadpoor *et al.*, 2014).

TGF- β merupakan salah satu sitokin anti-inflamasi dalam respon imun *innate* maupun adaptif yang dihasilkan oleh sel T terutama sel Tregulator, makrofag, dan banyak sel tipe lainnya. TGF- β bekerja menghambat proliferasi dan fungsi efektor sel T, menghambat proliferasi sel B, menghambat produksi IgA, menghambat pengaktifan makrofag, serta meningkatkan sintesis kolagen oleh fibroblast (Abbas *et al.*, 2015). Pada pasien LES terjadi proliferasi sel T dan sel B

yang berlebihan serta penurunan sel Tregulator yang berdampak pada turunya produksi TGF- β . Penurunan ini berakibat pada hilangnya fungsi-fungsi TGF- β sehingga terjadi inflamasi yang berkelanjutan (Manolova et al., 2013).

Di Indonesia, belum diketahui berapa jumlah pasti pengidap penyakit ini. Namun, berdasarkan penelitian Prof. Handono Kalim dkk. yang di lakukan di kota Malang, prevalensi Lupus Eritematosus Sistemik di masyarakat memperlihatkan hasil sebesar 0,5% terhadap total populasi sehingga dapat diperkirakan sekitar 1.250.000 orang di Indonesia terkena penyakit ini. Menurut data Sistem Informasi Rumah Sakit Indonesia pada tahun 2016, pasien rawat inap yang di diagnosis dengan penyakit LES meningkat dua kali lipat dengan jumlah kematian meningkat hampir tiga kali lipat dari 2 tahun sebelumnya (Kemenkes RI, 2017).

Di seluruh dunia insiden dan prevalensi terjadinya penyakit LES berbeda-beda dan bervariasi menurut usia, jenis kelamin, ras, dan waktu. Dari penelitian tahun 2013-2016 di Amerika Utara diperkirakan memiliki insiden dan prevalensi LES tertinggi dengan insiden sekitar 23,2/100.000 orang per tahun dan prevalensi 241/100.000 orang. Sedangkan, Afrika dan Ukraina memiliki insiden terendah sekitar 0,3/100.000 orang per tahun, dan prevalensi terendah berada di Australia Utara dengan hasil 0 dari 847 orang sampel (Rees, 2017).

Sampai saat ini pengobatan untuk penyakit Lupus Eritematosus Sistemik beragam menurut tingkat keparahan penyakit, mulai dari pemberian obat anti inflamasi non-steroid (OAINS), kortikosteroid, dan agen biologis seperti belimumab dan rituximab (Bartels, 2017). Tetapi, obat-obat tersebut terkadang sulit didapatkan dan beberapa obat cenderung mahal. Maka dari itu dibutuhkan terapi alternatif yang lebih murah dan mudah untuk didapatkan.

Daun dari cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) dari famili *Crassulaceae* yang pertama kali ditemukan di Madagaskar dan tersebar di seluruh dunia banyak digunakan sebagai pengobatan tradisional di berbagai negara sejak dahulu kala, dan memiliki banyak efek seperti anti-inflamasi, relaksan otot, anti-hipertensi, *nephroprotective*, dan lainnya (Yadav et al., 2016). Ada beberapa zat aktif yang ditemukan pada *Bryophyllum pinnatum*, antara lain flavonoid, phenol, alkaloid, phenylpropanoid, triterpenoids, steroid, tannin, saponin, glycoside, lipid, bufadienolide, mineral, dan vitamin. Dimana peran anti-inflamasi pada *Bryophyllum pinnatum* merupakan kerja dari phenol, flavonoid, steroid, dan triterpenoids (Fürer et al., 2016).

Pada penelitian in-vitro yang sebelumnya dilakukan oleh Nurdiana dkk. (2017) didapatkan bahwa ekstrak daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) memiliki efek *immunosuppressive* yaitu dengan menekan kadar Th dan sel B matur pada mencit Balb/c model lupus yang diinduksi pristane. Melihat hasil tersebut, maka penelitian ini ditujukan untuk melihat efek pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek terhadap sitokin anti-inflamasi mencit Balb/c model lupus melalui peningkatan TGF- β secara in vivo. Dengan demikian, diharapkan hasil dari penelitian ini dapat menjadi dasar untuk pengembangan ekstrak cocor bebek sebagai obat anti-inflamasi alternatif yang terjangkau dan mudah didapatkan untuk pasien LES di Indonesia.

1.2 Rumusan masalah

Apakah ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) dapat meningkatkan kadar TGF- β pada serum mencit Balb/c model lupus yang diinduksi pristane?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek dari pemberian ekstrak etanol daun *Bryophyllum pinnatum* terhadap sitokin anti-inflamasi pada mencit Balb/c model lupus yang diinduksi pristane.

1.3.2 Tujuan Khusus

Mengetahui efek dari pemberian ekstrak etanol daun *Bryophyllum pinnatum* terhadap kadar TGF- β pada serum mencit Balb/c model lupus yang diinduksi pristane.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Dapat menambah ilmu pengetahuan mengenai potensi ekstrak etanol daun cocor bebek sebagai terapi untuk penyakit Lupus Eritematosus Sistemik.

1.4.2 Manfaat Praktis

- a. Memberikan informasi tentang potensi ekstrak etanol daun cocor bebek sebagai terapi untuk penyakit Lupus Eritematosus Sistemik.
- b. Memperbanyak pilihan obat untuk mengobati Lupus Eritematosus Sistemik.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyakit Lupus Eritematosus Sistemik

2.1.1 Definisi LES

Lupus Eritematosus Sistemik adalah penyakit autoimun yang sampai saat ini penyebabnya belum dapat dipastikan, diperkirakan penyebabnya adalah gabungan berbagai faktor genetik dan lingkungan yang merusak toleransi imun, produksi autoantibodi, aktivasi komplemen, dan deposisi kompleks imun yang menyerang sel tubuhnya sendiri dan menyebabkan inflamasi kronis pada berbagai organ (Perry *et al.*, 2011; Soedarto, 2014; Choi *et al.*, 2012).

2.1.2 Etiologi LES

Etiologi LES sampai saat ini masih belum diketahui secara pasti. Faktor-faktor genetik yang diduga terlibat di mekanisme LES seperti tipe HLA DR3/2, berbagai gen *immunoregulator*, kadar hormon dan komplemen serta faktor lingkungan seperti paparan sinar UV, respon terhadap infeksi, dan juga obat-obatan (seperti hydralazine, procainamide dan D-penicillamine) diduga memicu proliferasi autoimun dan pembentukan autoantibodi yang menyebabkan terjadinya LES (Bartels, 2017).

2.1.3 Patogenesis LES

Pada LES terjadi kerusakan imun di berbagai tahap yang menyebabkan respon imun abnormal, mulai dari kinerja APC (*antigen presenting cell*) yang abnormal, hiperaktivasi sel B dan sel T, serta kerusakan berbagai mekanisme pengaturan yang seharusnya menghambat proses diatas. Patogenesis LES dapat

dibagi menjadi 2 tahap: (1) hilangnya toleransi terhadap *self-antigen* dan pembentukan autoantibodi, dan (2) autoantibodi yang patogenik dan kompleks imun yang menyebabkan inflammasi dan penyakit.

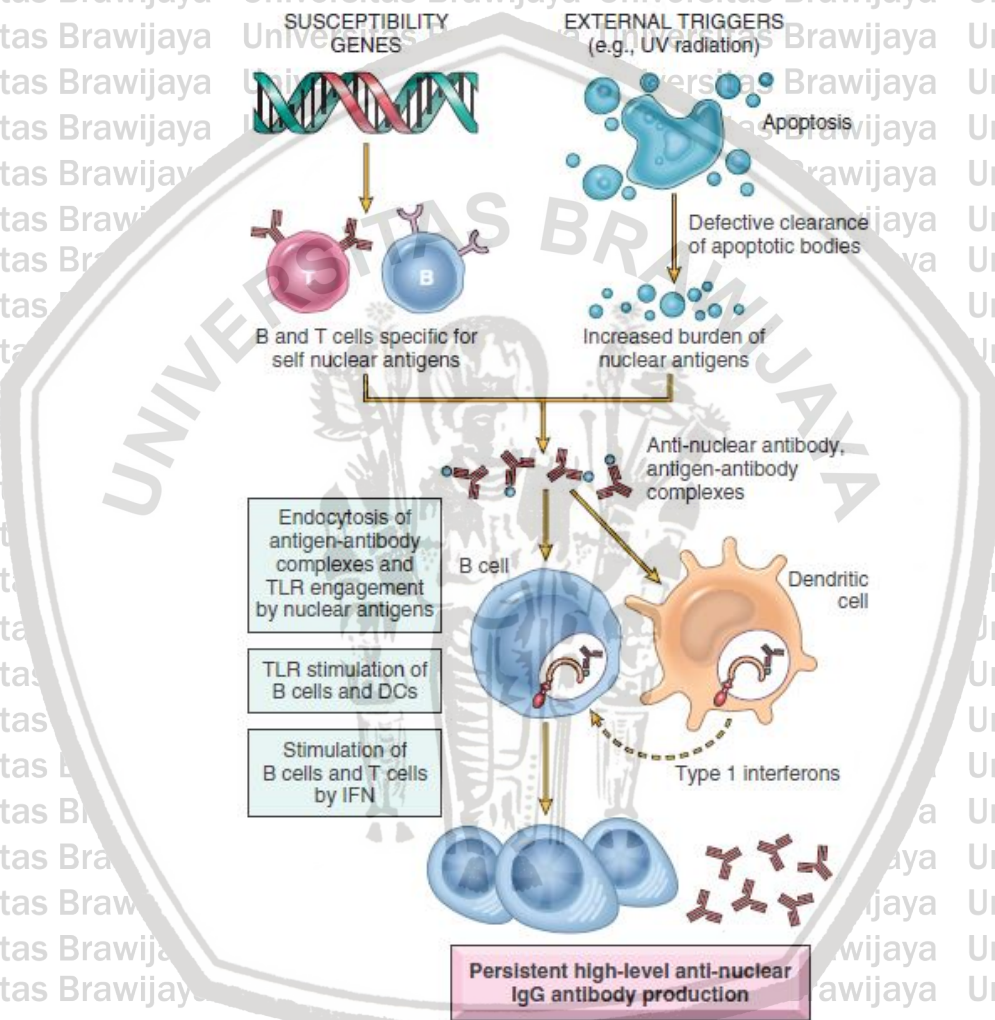
Pada kondisi normal, sel yang terapoptosis akan dicerna oleh makrofag pada fase awal kematian sel tanpa menyebabkan inflamasi. Selain itu apoptosis tidak akan mengaktifkan sel dendritik yang akan mempresentasikan imunogen ke sel T. Pada kasus LES, klirens dari sel terapoptosis akan menghasilkan imunogen yang akan menginduksi terjadinya autoreaktivitas sel B dan sel T sehingga menghasilkan autoantibodi. Sel dendritik juga akan aktif dan menghasilkan sitokin-sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α .

Selain itu, sel Treg pada pasien LES tidak bisa menekan inflamasi dan proliferasi sel T secara efisien. Proses deposisi kompleks imun pada membran basal sel pada organ yang berbeda, akan menyebabkan inflamasi lokal dan kerusakan jaringan (Ahmadpoor et al., 2014).

Ketidaknormalan pada limfosit B dan limfosit T memiliki tanggung jawab kurangnya atau hilangnya *self-tolerance* pada sistem imun, karena *self-reactive lymphocytes* akan berfungsi dan bertahan. Limfosit ini di stimulasi oleh *nuclear self-antigen* lalu antibodi yang diproduksi akan melawan antigen tersebut.

Kompleks antigen antibodi berikatan pada reseptor Fc pada sel B dan sel dendrit dan mungkin diinternalisasi. Komponen asam nukleat akan menstimulasikan sel B untuk memproduksi autoantibodi lebih banyak dan mengikutsertakan TLRs (*Toll-like receptor*). Stimulus TLR ini juga akan mengaktifkan sel dendrit untuk memproduksi interferon serta sitokin-sitokin yang lainnya, dimana munculnya sitokin-sitokin ini dapat menyebabkan apoptosis yang lebih sering lagi. Pada akhirnya adalah, siklus pelepasan antigen dan aktivasi imun yang berulang ini akan

menghasilkan produksi autoantibodi afinitasnya tinggi dan berakhir pada kerusakan multi-organ (Kumar *et al.*, 2017).



Gambar 2.1 Mekanisme Patogenesis LES.

Faktor eksternal menyebabkan ledakan antigen. Menghasilkan respon antigen-antibodi, diperkuat asam nukleat pada sel dendrit, sel B dan produksi IFN-I. (Kumar *et al.*, 2017).

2.1.4 Epidemiologi LES

Lebih dari 90% penderita Lupus Eritematosus Sistemik adalah wanita, terutama pada usia produktif. Pemberian hormon eksogen juga mempengaruhi onset dan eksasebarasi pada penyakit sehingga dapat diperkirakan bahwa hormon berpengaruh pada patogenesis LES. Dan menariknya, LES pada pria sering ditemukan pada penderita sindroma klinefelter dimana terdapat kromosom X berlebih pada pria, yang memperkuat dugaan tentang hormon pada patogenesis LES. Selain umur, penderita LES beragam tergantung ras dan suku, dari berbagai studi ditemukan bahwa orang berkulit hitam lebih banyak yang terkena LES dibandingkan orang berkulit putih (Bartels, 2017).

Di Indonesia, sampai saat ini belum ada data pasti jumlah penderita LES dikarenakan kurangnya pendataan maupun kemampuan diagnosis LES. Diperkirakan, terdapat sekitar 1.250.000 orang penderita LES jika berdasarkan penelitian Prof. Handono dkk. yang dilakukan di kota Malang pada tahun 2014 yang memperlihatkan prevalensi LES yaitu 0,5% dari jumlah populasi. Berdasarkan data Sistem Informasi Rumah Sakit (SIRS) diketahui bahwa pada tahun 2016 terjadi peningkatan hampir dua kali lipat dibandingkan dengan tahun 2014. Bukan hanya jumlah insiden yang meningkat, tetapi jumlah kematian akibat penyakit LES juga meningkat drastis, dimana pada tahun 2015 jumlah kematian pasien LES hanya 110 orang dan pada tahun 2016 menjadi 550 orang (Kemenkes RI, 2017).

Begitu pula di dunia, jumlah pasti penderita LES belum dapat diketahui secara pasti. Menurut WHO sekitar 5 juta orang terkena LES di seluruh dunia, dengan lebih dari 100.000 penderita baru setiap tahunnya (Kemenkes RI, 2017).

Di seluruh dunia, insiden dan prevalensi terjadinya penyakit LES berbeda-beda

dan bervariasi menurut usia, jenis kelamin, ras, dan waktu. Menurut Usia, laki-laki cenderung terkena LES di usia tua, sedangkan wanita di usia produktif. Dari penelitian tahun 2013-2016, Amerika Utara diperkirakan memiliki insiden dan prevalensi LES tertinggi dengan insiden sekitar 23,2/100.000 orang per tahun dan prevalensi 241/100.000 orang. Sedangkan, Afrika dan Ukraina memiliki insiden terendah sekitar 0,3/100.000 orang per tahun, dan prevalensi terendah berada di Australia Utara dengan hasil 0 dari 847 orang sampel (Rees, 2017).

2.1.5 Manifestasi Klinis LES

Lupus Eritematosus Sistemik merupakan penyakit autoimun kronis yang dapat menyerang berbagai organ dengan derajat mulai dari ringan sampai sangat parah (Bartels, 2017). Kriteria klinis yang dapat muncul pada penderita LES meliputi 11 kriteria menurut *American College of Rheumatology (ACR)* revisi tahun 2012, yaitu:

1. *Malar rash*, dengan klinis berupa ruam eritema atau kemerahan yang menetap pada pipi dan hidung, dapat datar maupun meninggi.
2. *Photosensitivity rash*, yaitu ruam kulit yang muncul saat terpapar sinar matahari.
3. *Discoid rash*, berbentuk seperti plak kemerahan dan juga sering muncul di tempat yang terpapar sinar matahari.
4. *Renal involvement*, didasarkan adanya proteinuria (>0.5 g/hari atau positif 3+ pada *dipstick testing*) atau adanya sel (termasuk sel darah merah, hemoglobin, granular, tubular, atau campuran) atau berdasarkan opini reumatologis atau nefrologis.
5. *Blood disorders*, ditemukan leukopenia, limfopenia, trombositopenia, dan anemia hemolitik.

6. *Antinuclear antibodies (ANAs)*, semakin tinggi titer semakin spesifik, harus dalam keadaan tidak mengonsumsi obat yang dapat menginduksi lupus.
7. *Immunologic phenomena*, adanya antibodi anti-dsDNA, anti-Sm, anti-fosfolipid, *false-positive* tes serologis sifilis, sel Lupus Eritematosus (LE).
8. *Neurologic disorder*, kejang atau psikosis yang tidak disebabkan hal lain.
9. *Oral ulcer*, adanya ulkus atau luka pada bagian mulut atau nasofaring, yang biasanya tidak disertai rasa nyeri.
10. *Arthritis*, merupakan radang pada persendian pada dua atau lebih sendi dan disertai rasa nyeri dan bengkak.
11. *Serositis*, inflamasi yang terjadi pada lapisan serosa seperti perikardium dan pleura yang ditemukan saat pemeriksaan atau EKG atau *imaging*.

Selain kriteria diatas, LES juga dapat disertai dengan gejala konstitusi seperti demam, nyeri sendi, kelelahan, dan perubahan berat badan. Anamnesa yang hati-hati diperlukan untuk membedakan penyebab kelelahan atau demam. Perlu diketahui bahwa infeksi akut dapat memicu LES dan dapat terjadi bersamaan (Bartels, 2017).

2.1.6 Diagnosis LES

Saat tanda-tanda klinis seperti yang disebutkan diatas muncul pada pasien, terutama saat trias klasik seperti demam, nyeri sendi, dan ruam muncul pada wanita usia produktif maka harus segera dilakukan pemeriksaan dengan kecenderungan terhadap LES. Adanya 4 dari 11 kriteria ACR dapat memiliki

sensitivitas 85% dan spesifisitas 95% untuk SLE. Pada revisi ACR tahun 2012, pasien dikatakan mengidap lupus jika terbukti pada biopsy didapatkan lupus nefritis dengan antibodi ANA atau dsDNA atau jika pasien memenuhi 4 kriteria diagnosis dengan minimal 1 kriteria klinis dan 1 kriteria imunologis (Bartels, 2017).

Selain dengan kriteria klinis ACR kita dapat menegakan diagnosis LES dengan melihat hasil laboratorium seperti tanda-tanda inflamasi (CRP, LED, kadar komplemen), hitung darah total, test fungsi ginjal, urinalisis, autoantibodi, radiologi, efusi sendi, cairan serebro-spinal, dan biopsi. Pemeriksaan tersebut merupakan pemeriksaan awal yang penting pada onset pertama kali curiga pasien terkena lupus setelah melihat tanda klinis disertai adanya antibodi antinuclear (ANA) positif menjadi penanda bahwa pasien ini memang menderita LES. Hanya saja, penanda adanya ANA ini positif sifatnya tidak spesifik untuk pemeriksaan SLE sehingga harus disertai gejala klinis yang jelas (Bartels, 2017; Coblyn *et al.*, 2011).

2.2 Pengobatan Lupus Eritematosus Sistemik

Manajemen terapi pada Lupus Eritematosus Sistemik beragam tergantung keparahan penyakit dan manifestasi penyakitnya. Beberapa penelitian membuktikan bahwa hidroksiklorokuin dapat meredakan peradangan dan memperpanjang umur pasien membuat hidroksiklorokuin menjadi dasar terapi untuk LES.

Secara luas, pada LES ringan seperti manifestasi kulit, musculoskeletal, dan serositis dapat ditekan dengan pemberian obat anti inflamasi non-steroid (OAINS), obat penekan imun (*imminosuppresant*) dan juga kortikosteroid jangka pendek dibanding pemberian hidroksiklorokuin. Kortikosteroid jangka panjang biasanya diberikan pada pasien yang sudah ada keterlibatan organ vital, seperti

keterlibatan sistem saraf pusat. Jika sudah ditemukan tanda-tanda penyakit berat maka dibutuhkan penekan imun yang lebih kuat (Bartels, 2017).

Hidroksiklorokuin merupakan obat anti malaria yang berfungsi sebagai *immunomodulator* tanpa efek penekanan imun yang berlebihan. Bekerja dengan cara menghambat aktivasi reseptor intraseluler, sehingga menghambat remisi, gejala, dan kerusakan organ pada LES. Selain itu, hidroksiklorokuin aman bagi ibu hamil (Kuhn *et al.*, 2015).

OAINS menghambat inflamasi dengan menghambat jalur siklooksigenasi sehingga tidak dihasilkannya prostaglandin. OAINS yang dapat dipakai seperti ibuprofen, naproxen, diklofenak, dan meloxicam. Penggunaan obat ini meningkatkan resiko ulkus lambung karena penghambatan jalur siklooksigenasi-1 yang bekerja melindungi mukosa saluran cerna.

Kortikosteroid pada LES digunakan sebagai anti inflamasi dan *immunosuppressant*, dapat digunakan per oral, intravena, intra-articular, dan juga topikal. Kortikosteroid yang dapat dipakai seperti prednisone dan methylprednisolone. Namun, karena banyaknya efek samping yang ditimbulkan oleh steroid, maka penggunaannya harus disesuaikan dengan derajat penyakitnya.

Agen penekan imun (*immunosuppressant*) seperti cyclophosphamide, methotrexate, azathioprine, dan mycophenolate dapat diberikan disaat LES sudah tidak dapat merespon corticosteroid dan anti-malaria. Pada penggunaan antibodi monoklonal seperti Belimumab ditemukan penurunan aktivitas penyakit dan remisi LES. Dari studi di berbagai negara juga didapatkan bahwa prevalensi defisiensi vitamin D sangat tinggi pada penderita LES, sehingga pemberian vitamin D

didapatkan penurunan aktivitas penyakit dan mengurangi kelelahan pada pasien LES (Bartels, 2017).

Sinar UV merupakan salah satu faktor pencetus penyakit LES, sehingga untuk pencegahan terjadinya LES, dapat digunakan krim tabir surya atau *sunblock* (Coblyn et al., 2011).

2.3 Transforming Growth Factor- β (TGF- β)

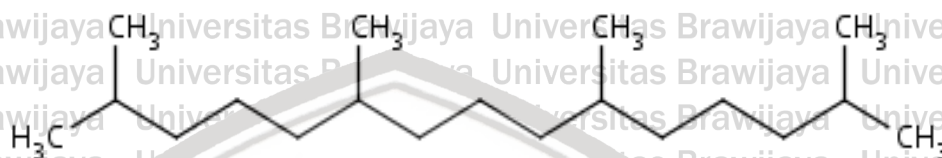
TGF- β merupakan suatu sitokin anti-inflamasi yang berperan dalam respon imun *innate* maupun adaptif. TGF- β berperan dalam menghambat proliferasi dan fungsi efektor sel T, menghambat proliferasi sel B, menghambat produksi IgA, menghambat pengaktifan makrofag, serta meningkatkan sintesis kolagen oleh fibroblast. TGF- β dihasilkan oleh sel T terutama sel Tregulator, makrofag, dan banyak sel tipe lainnya (Abbas et al., 2015).

Pada LES terjadi disregulasi TGF- β sehingga kadarnya menurun pada penderita LES. Hal ini diduga karena penurunan produksi TGF- β oleh limfosit penderita dan juga paralel dengan penurunan kadar Treg. TGF- β yang memainkan peran dalam menekan respon imun, anti-inflamasi, dan *self-tolerance*. Sehingga saat kadarnya turun pesat bahkan hilang akan berujung pada autoimunitas dan *multi-organ inflammatory syndrome* (Metawie et al., 2015; Manolova et al., 2013).

2.4 Pristane

Pristane atau 2,6,10,14-tetramethylpentadecane merupakan senyawa minyak hidrokarbon derivat dari metabolisme *phytol* yang memiliki efek sebagai penekan respon imun (*immunosuppressant*) dan juga zat karsinogen yang meningkatkan resiko neoplasma pada hewan maupun manusia dengan bekerja

langsung pada DNA maupun mekanisme lain (National Center for Biotechnology Information).



Gambar 2.2 Struktur Kimia Pristane.

2,6,10,14-tetramethylpentadecane (National Center for Biotechnology Information)

Sampai saat ini belum diketahui secara pasti bagaimana pristane dapat menginduksi terjadinya lupus, namun seiring waktu semakin banyak penelitian yang dilakukan sehingga patogenesis lupus akibat pristane lebih jelas dibandingkan dahulu. Salah satu teori mengatakan pathogenesis lupus yang diinduksi pristane terjadi akibat peningkatan kadar IFN-I yang merupakan mediator kunci terjadinya Lupus Eritematosus Sistemik. Saat pristane diinjeksi secara intraperitoneal, pristane akan diserang oleh sel-sel fagosit yang berada di peritoneal, sehingga menghasilkan sitokin-sitokin pro inflamasi dan juga akumulasi monosit inflamatori $\text{Ly6C}^{\text{high}}$ di peritoneum. Saat ada pristane, monosit $\text{Ly6C}^{\text{high}}$ ini bertahan tidak maturasi, dan menghasilkan IFN-I sebelum apoptosis yang menjadi awal *signaling* terjadinya inflamasi kronis (Rottman dan Willis, 2010; Carlucci *et al.*, 2016).

2.5 Cocor Bebek

2.5.1 Taksonomi

Tanaman cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum* atau *Kalanchoe pinnata*) termasuk pada famili Crassulaceae, ditemukan pertama kali di Madagaskar dan sudah berkembang di Asia, Australia, Selandia Baru, Afrika, dan Amerika sejak dahulu (Chibli et al., 2014). Taksonomi tanaman cocor bebek:



Kingdom	:	<i>Plantae</i>
Subkingdom	:	<i>Tracheobionta</i>
Super divisi	:	<i>Spermatophyta</i>
Divisi	:	<i>Magnoliophyta</i>
Kelas	:	<i>Magnoliopsida</i>
Subkelas	:	<i>Rosidae</i>
Ordo	:	<i>Rosales</i>
Famili	:	<i>Crassulaceae</i>
Genus	:	<i>Kalanchoe</i>
Spesies	:	<i>Bryophyllum pinnatum</i> / <i>Kalanchoe pinnata</i>



Gambar 2.3 Tanaman Cocor Bebek (*Bryophyllum pinnatum*)

2.5.2 Metabolit Sekunder Cocor Bebek

Ada beberapa zat aktif yang ditemukan pada *Bryophyllum pinnatum*, antara lain phenol, alkaloid, phenylpropanoid, flavonoid, triterpenoids, steroid, tannin, saponin, glycoside, lipid, bufadienolide, mineral, dan vitamin (Fürer *et al.*, 2016).

Flavonoid memiliki sifat anti-inflamasi, antioksidatif, anti-mutagenik dan antikarsinogenik dengan memodulasi fungsi enzim kunci pada manusia (Panche *et al.*, 2016). Kandungan steroid pada *Bryophyllum pinnatum* memiliki efek analgesik dan juga anti-inflamasi (Afzal *et al.*, 2012).

Saponin membantu dalam koagulasi darah sehingga dapat menghentikan proses perdarahan. Tannin berfungsi dalam penyembuhan luka dan membran mukosa akibat inflamasi. Alkaloid pada tanaman ini memiliki efek analgesik yang cukup kuat (Nwali *et al.*, 2012).

2.5.3 Manfaat Cocor Bebek

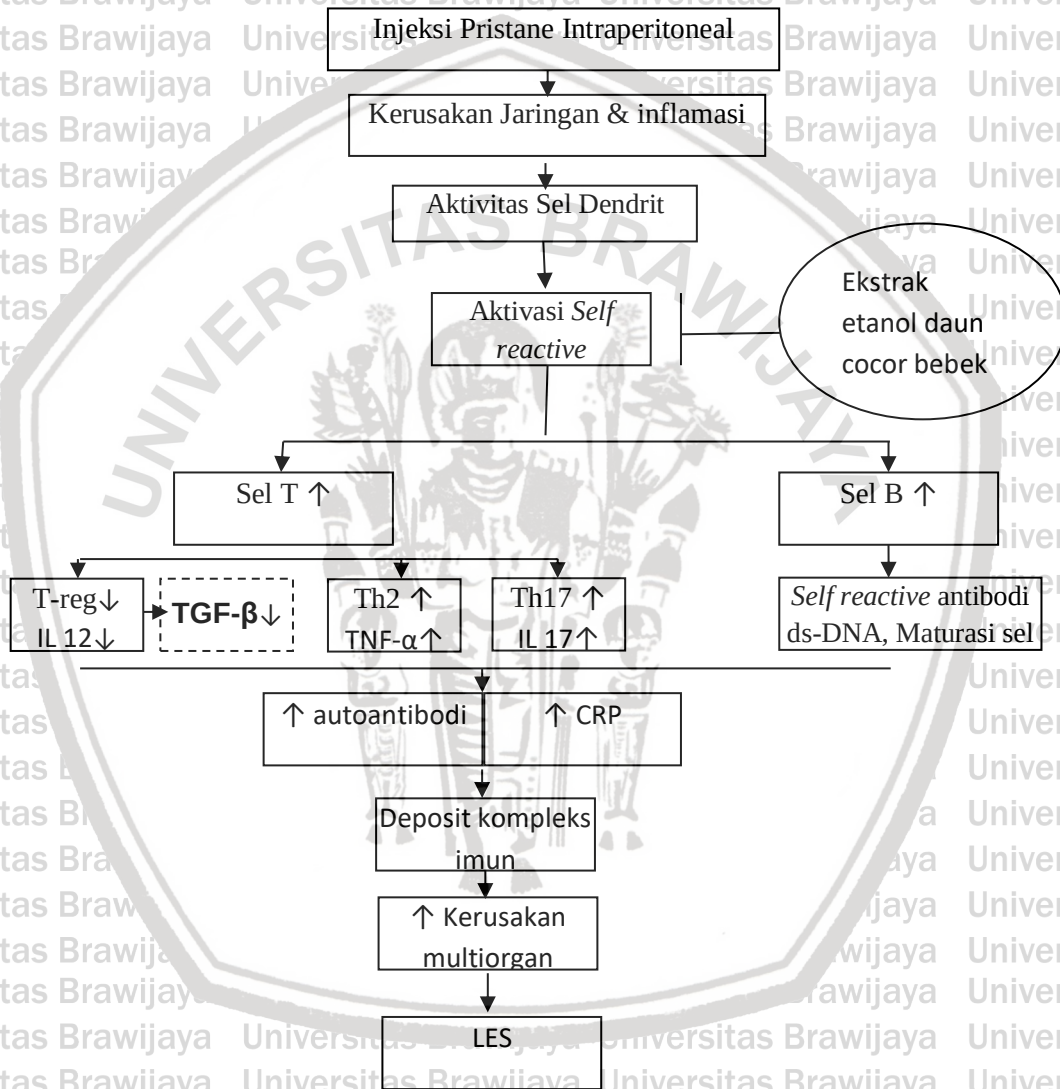
Tanaman cocor bebek merupakan tanaman yang tersebar di seluruh dunia dan dipakai dalam bidang kesehatan sejak dahulu. Di India, tanaman ini juga dikenal sebagai *Paṣānabheda* yang artinya peledur batu dan digunakan sebagai pengobatan tradisional untuk gangguan kencing, batu ginjal, dan batu empedu. Di Brazil, tanaman ini dikenal sebagai *folha-da-fortuna* yang digunakan dalam pengobatan gangguan pernafasan seperti asma dan bronchitis. Selain itu tanaman ini pun digunakan untuk ulkus lambung, luka luar seperti lepuh, gigitan serangga, dan infeksi pada mata.

Pengobatan tradisional ini dipakai di berbagai negara, karena daun *Bryophyllum pinnatum* diketahui memiliki manfaat untuk neurosedatif, anti ulkus, *muscle relaxant*, kontraktilitas uterus, anti nyeri, anti inflamasi, anti diabetes, anti hipertensi, *nephroprotective*, dan lainnya. Pada ekstrak *Bryophyllum pinnatum* ditemukan dapat menghambat proses inflamasi yang diinduksi phenol dengan menghambat sitokin-sitokin IL-1A, IL-1B, IL-8, TNF- α , dan ROS (Chibli et al., 2014; Yadav et al., 2016).

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan

Variable yang diukur

Variable yang tidak diukur

Menginduksi

Menghambat

3.2 Penjelasan Kerangka Konsep

Injeksi pristane dengan dosis 0,5 ml secara intraperitoneal dapat menginduksi lupus dengan melalui dua mekanisme, yaitu merusak jaringan sehingga meningkatkan kematian sel yang terprogram (apoptosis) dan menstimulasi pengeluaran salah satu sitokin yaitu IFN- α . Pada umumnya, sisa apoptosis tersebut akan segera dibersihkan, namun pembersihan ini mengalami kegagalan di pasien LES sehingga produk apoptosis yang berupa dsDNA dan ssRNA masih banyak tersisa, dan kemudian produk tersebut dibersihkan oleh sel dendritik plasmatisoid (pDCs) yang diidentifikasi sebagai produsen IFN-I pada LES.

Pada mencit yang di induksi lupus menggunakan pristane terdapat akumulasi pDCs. Pengeluaran IFN- α berperan dalam memicu pengeluaran dari sel dendritik tersebut untuk melakukan *clearance* sisa apoptosis. Selanjutnya sel dendritik ini berperan sebagai APC (antigen presenting cell) yang mempresentasikan antigen berupa DNA tubuh sendiri kepada CD4+. Selanjutnya sel CD4+ yang teraktivasi dan IFN- α , meningkatkan aktivasi Th1, Th2, dan Th17. Aktivasi tersebut akan berlanjut dengan aktivasi sel B.

Aktivasi *self-reactive lymphocyte* ini mengakibatkan peningkatan besar sel T dan sel B, serta penurunan kadar sel Treg (bertugas meregulasi sel T dan sel B). Peningkatan sel T akan meningkatkan kadar sitokin-sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α dan IL-17. Hal ini berbanding dengan penurunan sel Treg yang mengakibatkan menurunnya sitokin-sitokin anti-inflamasi seperti TGF- β . Hal-hal ini akan mengakibatkan inflamasi sel-sel dan kerusakan sel maupun jaringan yang dapat ditandai dengan peningkatan kadar CRP.

Akibat aktivasi yang berlebihan sel B menjadi autoreaktif dan meningkatkan antibodi (dsDNA, ANA) sehingga terbentuk autoantibodi yang beredar di peredaran darah dan terdeposit di jaringan sebagai suatu kompleks imun. Kompleks imun tersebut dapat meningkatkan ROS dan NO yang merusak jaringan sekitar sehingga terjadi kerusakan multi-organ pada Lupus Eritematosus Sistemik.

Pada penelitian ini ekstrak cocor bebek dipakai untuk menghalangi terjadinya *self-reactive lymphocyte*. Hal ini didasarkan pada penelitian *in vitro* yang sebelumnya dilakukan oleh Nurdiana dkk. (2017) yang menunjukkan bahwa ekstrak cocor bebek dapat menurunkan kadar Th dan menghambat maturasi sel B pada mencit model lupus yang diinduksi oleh pristane. Maka diharapkan akibat penurunan kadar Th maka akan terjadi peningkatan kadar TGF- β .

3.3 Hipotesis Penelitian

Pemberian ekstrak etanol cocor bebek akan meningkatkan kadar TGF- β pada mencit Balb/c model lupus yang diinduksi pristane.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental murni di laboratorium dengan rancangan *post test only controlled group design* secara *in vivo* dengan menggunakan mencit Balb/c sebagai subjek penelitian yang kemudian diberikan ekstrak etanol daun cocor bebek dalam berbagai dosis.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi pada penelitian ini adalah mencit putih strain Balb/c.

4.2.2 Sampel Penelitian

Pengelompokan dan perlakuan hewan coba dilakukan secara acak dengan metode *simple random sampling* dan pembagian kelompok didasarkan atas pembagian pemberian ekstrak cocor bebek. Mencit model lupus dibagi menjadi 5 kelompok yakni :

1. Kelompok kontrol negatif: kelompok mencit Balb/c sehat.
2. Kelompok kontrol positif: kelompok mencit Balb/c model lupus tanpa perlakuan.
3. Kelompok perlakuan 1: kelompok mencit Balb/c model lupus dan diberikan ekstrak cocor bebek dengan dosis 10,5 mg/kgBB
4. Kelompok perlakuan 2: kelompok mencit Balb/c model lupus dan diberikan ekstrak cocor bebek dengan dosis 21 mg/kgBB
5. Kelompok perlakuan 3: kelompok mencit Balb/c model lupus dan diberikan ekstrak cocor bebek dengan dosis 42 mg/kgBB

Adapun kriteria inklusi pada penelitian ini adalah:

1. Mencit strain Balb/c betina.
2. Mencit bewarna bulu putih, sehat, bergerak aktif, dan tingkah laku normal.
3. Umur 6-8 minggu.
4. Berat badan rata-rata 25-30 gram.

Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah:

1. Mencit yang selama penelitian tidak mau makan.
2. Mencit yang kondisinya menurun atau mati selama penelitian berlangsung.

Jumlah sampel mencit yang digunakan dalam penelitian ini dihitung menggunakan rumus Federer (1955) sebagai berikut :

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

t : jumlah ulangan

r : jumlah kelompok perlakuan

Penelitian ini terdapat 4 perlakuan pada 5 kelompok sebagaimana yang telah disebutkan sebelumnya. Oleh karena itu didapatkan jumlah sampel sebagai berikut:

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(5-1)(r-1) \geq 15$$

$$r \geq 4,75 \text{ (dibulatkan menjadi 5)}$$

Untuk empat perlakuan, diperlukan pengulangan paling sedikit sebanyak lima kali untuk tiap perlakuan pada 5 kelompok sehingga sampel mencit total yang diperlukan dalam penelitian ini adalah minimal 25 ekor mencit Balb/c betina.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek dalam berbagai macam dosis 10,5 mg/kgBB, 21 mg/kgBB dan 42 mg/kgBB secara oral kepada mencit Balb/c.

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar TGF- β pada serum.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini direncanakan akan dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada tahun 2017-2018 yang direncanakan berjalan selama enam bulan.

4.5 Bahan dan Alat / Instrumen Penelitian

Bahan Penelitian:

1. Hewan coba mencit Balb/c
2. Pristane
3. Ekstrak daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*)
4. Pakan mencit standar (PAR-S) dan tepung
5. Air mineral

Alat penelitian:

1. Kandang mencit berupa kotak plastik yang diisi sekam dan ditutup dengan kawat. Ukuran kandang 15cm x 30 cm x 42 cm
2. Sonde khusus untuk pemberian ekstrak cocor bebek
3. Timbangan

4. Handscoon

Bahan yang digunakan pembedahan mencit:

1. Alcohol

Alat yang digunakan melakukan pembedahan mencit:

1. Gunting bedah

2. Pinset

3. Jarum / Pin

4. Sterofoam atau papan fiksasi

5. Spuit 1cc / 5cc

6. Vacutainer

Bahan yang digunakan untuk melihat kadar TGF- β :

1. Serum mencit balb/c

Alat yang digunakan untuk melihat kadar TGF- β :

1. Affymetrix eBioscience Mouse TGF beta 1 Platinum ELISA Kit

BMS608/4 / BMA608/4TEN.

4.6 Definisi Operasional

4.6.1 Ekstrak Cocor Bebek

Daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) diperoleh dari Balai Materia

Medica Batu dalam bentuk simplisia dan pembuatan ekstrak etanol

dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas

Brawijaya.

4.6.2 TGF- β

Transforming growth factor- β (TGF- β) merupakan suatu sitokin anti inflamasi yang berperan dalam *innate* maupun *adaptive immune response*. TGF- β berperan dalam menghambat proliferasi dan fungsi efektor sel T, menghambat proliferasi sel B, menghambat produksi IgA, menghambat aktivasi makrofag, serta meningkatkan sintesis kolagen oleh fibroblast (Abbas *et al.*, 2015). Kadar TGF- β akan diukur menggunakan metode Elisa dengan satuan ng/ml.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Persiapan Hewan Coba

Pada penelitian ini subjek yang digunakan adalah mencit Balb/c yang telah diseleksi berdasarkan kriteria inklusi dan kriteria eksklusi. Seleksi ini didasarkan pada penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa mencit strain Balb/c yang diinduksi dengan pristane dapat memiliki gambaran klinis maupun imunologis lupus seperti yang terjadi di manusia. Mencit strain ini pun merupakan mencit yang karakteristik imunologisnya hampir sama dengan karakteristik pada manusia (Rottman dan Willis, 2010).

Setelah dikelompokkan, mencit diadaptasikan (masa aklimatisasi) terlebih dahulu selama 7 hari sebelum. Mencit ditempatkan di dalam kandang yang dibersihkan setiap hari dan diberikan makanan standar.

4.7.2 Ekstraksi Daun Cocor Bebek

Pada penelitian ini ekstrak daun cocor bebek didapatkan melalui Balai Materia Medica Batu. Sekitar 800 gram simplisia daun cocor bebek dimaserasi menggunakan etanol 96% selama 2 hari. Selanjutnya larutan di saring menggunakan kertas Whatman No. 42 (125 mm), kemudian ekstrak dikeringkan

menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 45°C dan disimpan di *dessicator*.

Diperkirakan hasil ekstrak berjumlah sekitar 80 gram. Selanjutnya dilakukan skrining estimasi kuantitatif fitokimia yang terkandung seperti karbohidrat, fenol, flavonoid, saponin, alkaloid, glikosida, tanin, dan terpenoid (Yadav *et al.*, 2016).

4.7.3 Pembuatan Model Hewan Lupus Menggunakan Pristane

Mencit Balb/c diinduksi lupus dengan cara menginjektikan pristane 0,5 ml secara intraperitoneal sejumlah satu kali dengan tujuan mendapatkan fenotip sel B yang menyerupai sel B pada lupus. Prosedur yang diterapkan yang diterapkan tersebut merujuk pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Nurdiana dkk. (2017). Kemudian mencit diamati selama 16 minggu sampai timbulnya manifestasi klinis LES serta adanya antibodi ANA dan anti-dsDNA mencit.

4.7.4 Pemberian Ekstrak Cocor Bebek pada Mencit Strain Balb/C yang Diinduksi Pristane

Ekstrak cocor bebek yang telah diencerkan diberikan pada mencit secara peroral menggunakan sonde khusus beberapa hari setelah mencit diinduksi pristane dengan dosis 10,5 mg/kgBB, 21 mg/kgBB dan 42 mg/kgBB, setelah itu mencit dievaluasi selama 12 minggu.

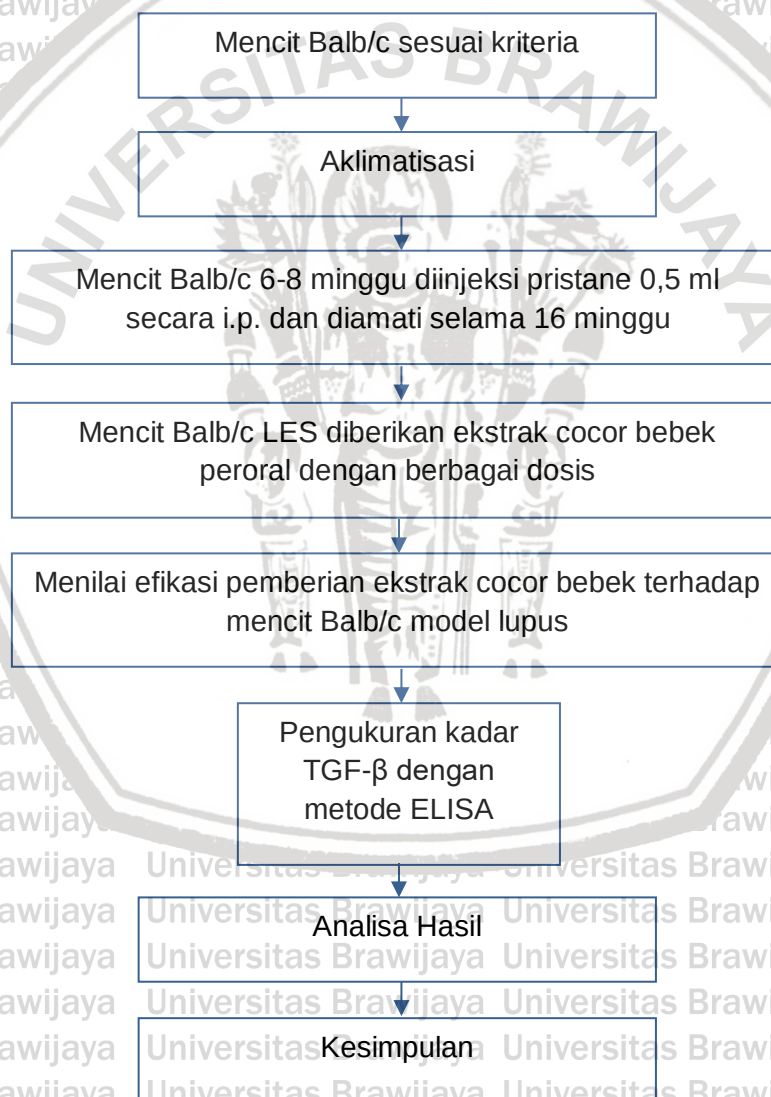
4.7.5 Prosedur Pengukuran Kadar TGF- β

Pengukuran kadar TGF- β di dalam serum (ng/ml) mencit diukur memakai metode ELISA menggunakan *Affymetrix eBioscience Mouse TGF beta 1 Platinum ELISA Kit BMS608/4 / BMA608/4TEN*.

4.8 Analisa Data

Pengolahan data persentase sitokin TGF- β dianalisis perbedaannya menggunakan uji *One-way ANOVA*. Perbedaan dikatakan bermakna apabila nilai $p < 0.05$. Data ditunjukkan dalam rerata $\pm$ standar deviasi. Keseluruhan analisis dilakukan dengan program *SPSS 16 for Windows*.

4.9 Alur Penelitian



4.10 Jadwal Penelitian

Tabel 4.1 Jadwal Pelaksanaan Penelitian

	Persiapan	Induksi Pristane	Pemberian Ekstrak Cocor Bebek	Pemeriksaan Kadar TGF- β
Oktober 2017				
November 2017				
Desember 2017				
Januari 2018				
Februari 2018				
Maret 2018				
April 2018				
Mei 2018				
Juni 2018				

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium (True Experiment Design) di laboratorium dengan rancangan Randomized Post Test Only Controlled Group Design yang bertujuan untuk menguji efek pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) terhadap kadar TGF- β pada serum mencit Balb/c model Lupus yang diinduksi menggunakan pristane. Sebelum dilakukan pengukuran kadar TGF- β pada serum, mencit-mencit tersebut dikelompokkan menjadi beberapa kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (kelompok mencit balb/c yang sehat), kelompok kontrol positif (kelompok mencit balb/c yang sakit tetapi tidak diberikan perlakuan), kelompok perlakuan 1 (kelompok mencit Balb/c model lupus dan diberikan ekstrak etanol daun cocor bebek dengan dosis 10,5 mg/kgBB), kelompok perlakuan 2 (kelompok mencit Balb/c model lupus dan diberikan ekstrak etanol daun cocor bebek dengan dosis 21 mg/kgBB), kelompok perlakuan 3 (kelompok mencit Balb/c model lupus dan diberikan ekstrak etanol daun cocor bebek dengan dosis 42 mg/kgBB). Mencit Balb/c diinduksi pristane secara injeksi tunggal 0.5 ml intra-peritoneal dan diamati selama 4 bulan, dan kemudian diberikan ekstrak etanol daun cocor bebek sesuai dengan perlakuan masing-masing kelompoknya selama 3 bulan. Setelah 3 bulan, dilakukan proses pembedahan mencit balb/c dimana diambil serumnya dan diperiksa kadar dari TGF- β sebagai salah satu sitokin anti-inflamasi.

5.1.1 Hasil Pengamatan Manifestasi Mencit Balb/c Model LES Induksi Pristane

Mencit diinduksi LES menggunakan injeksi pristane 0,5 ml secara intra-peritoneal, sebanyak satu kali dan diamati selama kurang lebih 4 bulan. Dalam kurung waktu tersebut, mencit dirawat dan diamati sejumlah manifestasi klinis LES yang muncul pada mencit-mencit tersebut. Setelah dilakukan pengamatan pada mencit, ditemukan kadar anti-dsDNA dengan nilai rata-rata $\pm 33,00$ IU/ml menunjukkan nilai dari anti-dsDNA tersebut meningkat dari kadar normal dan ada beberapa manifestasi klinis yang muncul diantaranya, seperti alopesia, kelainan gaya berjalan, artritis, dan penimbunan asites yang dapat dilihat pada gambar 5.1



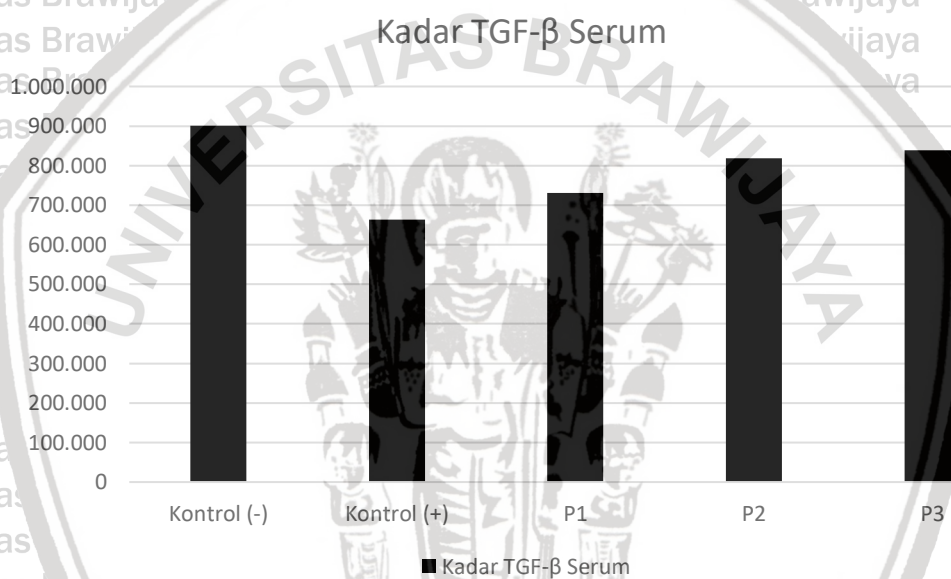
Gambar 5.1 Manifestasi Klinis LES Pasca Injeksi Pristane

(A) Asites, (B) Kelainan Gaya Berjalan, (C) Alopesia, (D) Artritis

5.2 Analisis Data Kadar TGF- β

Setelah mencit balb/c diinduksi LES menggunakan pristane dan diamati selama 4 bulan serta diberikan ekstrak etanol daun cocor bebek selama kurang lebih 3 bulan. Kemudian mencit tersebut dilakukan pembedahan dan diambil serum darahnya untuk diperiksa kadar TGF- β nya. Pengukuran ini dilakukan menggunakan metode ELISA.

5.2.1 Hasil Rerata Kadar TGF- β



Gambar 5.2 Hasil Rerata Kadar TGF- β Serum Mencit

Dari hasil pengukuran kadar TGF- β serum mencit (Gambar 5.2), didapatkan rerata 900.325 ng/ml pada kelompok kontrol negatif, lalu rerata menurun menjadi 664.025 ng/ml pada kelompok kontrol positif yang diinduksi pristane, dan meningkat kembali pada kelompok yang diberikan ekstrak etanol daun cocor bebek P1 (730.95 ng/ml), P2 (818.675 ng/ml), dan P3 (838.2 ng/ml).

5.2.2 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas Varian

Untuk melakukan analisis data, maka dilakukan uji normalitas menggunakan *One Sample Shapiro-Wilk test* untuk mengetahui data sampel penelitian berasal dari populasi berdistribusi normal. Hasil uji normalitas (Tabel 5.1) didapatkan nilai signifikansi dari kadar TGF- β serum 0.063 ($p > 0.05$). Sehingga dapat disimpulkan bahwa data berdistribusi normal (parametrik).

Selanjutnya dilakukan uji homogenitas varian (Tabel 5.1) dengan tujuan untuk mengetahui bahwa dua kelompok atau lebih kelompok data sampel berasal dari populasi yang memiliki variasi yang sama. Berdasarkan pengujian homogenitas ragam dengan menggunakan uji levene, data kadar TGF- β pada berbagai kelompok yang akan diuji mempunyai nilai signifikansi 0.504 ($p > 0.05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa data kadar TGF- β pada berbagai kelompok tersebut mempunyai ragam (varians) yang homogen. Dengan demikian dapat dilakukan pengujian dengan uji *One-way ANOVA* dan uji korelasi pearson, karena asumsi kenormalan distribusi data telah terpenuhi.

Tabel 5.1 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas

Uji Syarat Anova	P-value
Uji Normalitas TGF- β (<i>Shapiro-Wilk</i>)	0.063
Uji Homogenitas TGF- β (<i>Levene</i>)	0.504

5.2.3 Hasil Uji *One-way ANOVA*

Hasil *One-way ANOVA Test* (Tabel 5.2) didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.000 ($p < 0.05$). Hal ini berarti perbedaan kadar TGF- β yang terdapat pada masing-masing kelompok adalah bermakna. Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh secara signifikan efek pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek terhadap kadar TGF- β serum mencit balb/c.

Tabel 5.2 Hasil Uji *One-Way ANOVA*

Keterangan	P-value
Kadar TGF- β	0.000

5.2.4 Hasil Uji *Post-Hoc Tukey*

Setelah dilakukan *One-way ANOVA Test*, dilakukan uji *Post-Hoc Tukey*

Test untuk dapat mengetahui perbandingan dua sampel (antara kelompok dosis).

Hasil uji *Post-Hoc Tukey Test* didapatkan perbedaan signifikan kadar TGF- β pada sampel mencit sehat (K-) dan mencit LES (K+) ($p < 0.05$). Perbedaan yang signifikan juga didapatkan pada sampel K(+) terhadap kelompok perlakuan P2 ($p < 0.05$) dan P3 ($p < 0.05$), namun tidak berbeda signifikan terhadap P1 ($p > 0.05$).

Hasil uji *Post-Hoc* rata-rata kadar TGF- β serum mencit balb/c pada masing-masing kelompok perlakuan diperlihatkan pada tabel 5.3

Tabel 5.3 Hasil Uji *Post-Hoc Tukey*

Perlakuan	K-	K+	P1	P2	P3
K-		0.000	0.014	0.488	0.727
K+	0.000		0.670	0.030	0.011
P1	0.014	0.670		0.416	0.225
P2	0.488	0.030	0.416		0.995
P3	0.727	0.011	0.225	0.995	

5.2.5 Korelasi Dosis Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (*Bryophyllum pinnatum*) dan Kadar TGF- β Serum

Tabel 5.4 Hasil Uji Korelasi Pearson

Keterangan	P-value	Koefisien Korelasi
TGF- β	0,001	0,543

Uji korelasi dilakukan untuk mengetahui keeratan dan bentuk hubungan antara dua variabel yang dinyatakan dengan koefisien korelasi yaitu hubungan dari pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek dengan beberapa dosis yang berbeda terhadap kadar TGF- β serum. Berdasarkan uji yang dilakukan, didapatkan hasil (tabel 5.4) nilai $p=0,001$ dengan nilai korelasi 0,543. Adapun klasifikasi nilai korelasi Pearson sebagai berikut (Sugiyono, 2007):

Nilai Korelasi 0,000 – 0,199 = sangat rendah

Nilai Korelasi 0,200 – 0,399 = rendah

Nilai Korelasi 0,400 – 0,599 = sedang

Nilai Korelasi 0,600 – 0,799 = kuat

Nilai Korelasi 0,800 – 1,000 = sangat kuat

Korelasi dapat bertanda positif dan negatif. Korelasi positif menunjukkan arah yang searah antar variabel. Sedangkan korelasi negatif menunjukkan arah yang berlawanan. Hasil uji korelasi Pearson menunjukkan hasil sebagai berikut:

1. Nilai $p = 0,001$ ($p < 0.05$), sehingga hipotesis statistik (H_0) ditolak, dengan kata lain, hal ini menandakan terdapat korelasi yang signifikan antara dosis ekstrak etanol daun cocor bebek dengan rerata kadar TGF- β serum.
2. Nilai korelasi (r) = 0,543, yang berarti korelasi antara dosis ekstrak etanol daun cocor bebek dengan kadar TGF- β serum sedang.
3. Arah korelasi positif, sehingga disimpulkan semakin tinggi dosis ekstrak etanol daun cocor bebek, semakin meningkat rerata kadar TGF- β serum.

5.2.6 Hasil Uji Regresi

Hasil uji regresi (Lampiran 2) didapatkan *R Square* (R^2) sebesar 29.5%, yang menyatakan besarnya pengaruh dari pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) terhadap kadar TGF- β serum mencit balb/c model lupus. Hubungan antara kenaikan dosis ekstrak etanol cocor bebek terhadap kadar TGF- β serum dapat dinyatakan dengan rumus $Y = A + BX$. Y adalah interval kadar TGF- β serum dan X adalah dosis ekstrak etanol cocor bebek. Angka koefisien dari A dan B didapat didalam uji regresi A sebesar 686.890 dan B sebesar 4.140. Sehingga rumus diatas dapat dinyatakan dengan $Y = 686.890 + (4.140X)$. Hal ini dapat disimpulkan bahwa setiap peningkatan 1 mg/kgBB konsentrasi ekstrak etanol cocor bebek akan meningkatkan kadar TGF- β serum mencit 4.140 ng/ml.

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Manifestasi Klinis Mencit Balb/C Model LES Induksi Pristane

LES merupakan penyakit autoimun multiorgan kronis di mana terjadi hilangnya toleransi imunologis yang mengakibatkan diproduksi autoantibodi yang menghasilkan peradangan sistemik dan kerusakan multiorgan (Woods *et al.*, 2015).

LES pada manusia memiliki kaitan erat terhadap defek klirens badan apoptosis, abnormalitas aktivasi sel B, dan ekspresi berlebihan dari gen-gen yang mengatur regulasi IFN- γ . Hewan coba model induksi pristane dapat meniru patogenesis LES yang terjadi pada manusia dengan menyebabkan abnormalitas produksi interferon, defek klirens sisa apoptosis, dan gangguan persinyalan aktivasi sel B hiper-reaktif (Zhuang *et al.*, 2015). Pada LES terjadi disregulasi TGF- β sehingga kadarnya menurun pada penderita LES.

Pemahaman patogenesis LES yang kompleks dan upaya pengembangan pilihan terapi untuk LES sudah banyak diteliti melalui pengembangan hewan coba LES (Perry *et al.*, 2011). Salah satu metode pembuatan hewan coba model LES adalah dengan memberikan induksi pristane secara intraperitoneal pada mencit Balb/c. Pristane merupakan suatu minyak mineral yang telah terbukti mampu menginduksi LES dengan karakteristik adanya keterlibatan organ dan terbentuknya autoantibodi pada mencit/tikus berbagai galur (Leiss *et al.*, 2013).

Mencit galur Balb/c merupakan salah satu galur yang memiliki kerentanan genetik dan telah terbukti berkembang menjadi LES pasca induksi pristane (Perry *et al.*, 2011; Reeves *et al.*, 2009).

Manifestasi-manifestasi yang muncul pada mencit BALB/c yang diinduksi LES dengan pristane antara lain peningkatan kadar IFN- γ , produksi ANA, antibodi anti-dsDNA, antibodi anti-Sm, antibodi anti-RNP, antibodi anti-ribosomal P, nefritis terkait kompleks imun, serositis, artritis, splenomegali, alopesia, fotosensitif, ulkus mukokutaneus, manifestasi kulit, manifestasi neurologis, asites, sitopenia, perubahan *gait*, dan tampak kurang aktif (Reeves *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2016).

Pengamatan manifestasi klinis LES yang muncul pada mencit balb/c selama ± 16 minggu dilakukan secara kualitatif. Manifestasi-manifestasi klinis yang muncul pada pengamatan selama ± 16 minggu antara lain alopesia, perubahan motorik (*gait*), kurang aktif, peradangan pada sendi kaki, dan asites (Gambar 5.1). Penilaian artritis dilakukan dengan mengamati persendian pada telapak kaki, pergelangan kaki, dan lutut mencit balb/c. Artritis ditandai dengan pembengkakan dan kemerahan pada persendian tersebut. Temuan tersebut didapatkan pula pada penelitian yang dilakukan oleh Leiss *et al.* (2013) yaitu melaporkan bahwa manifestasi artritis mulai muncul pada minggu ke-12 pasca induksi pristane disertai dengan peningkatan kadar *Rheumatoid Factor* (RF) yang muncul pada minggu ke-8 pasca induksi pristane.

6.2 Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek Terhadap Kadar TGF- β Serum

TGF- β merupakan suatu sitokin anti-inflamasi dalam respon imun *innate* maupun adaptif yang berperan dalam menghambat proliferasi dan fungsi efektor sel T, menghambat proliferasi sel B, menghambat produksi IgA, menghambat pengaktifan makrofag, serta meningkatkan sintesis kolagen oleh fibroblast. TGF- β dihasilkan oleh sel T terutama sel Tregulator, makrofag, dan banyak sel tipe

lainnya. (Abbas *et al.*, 2015; Metawie *et al.*, 2015). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar TGF- β pada serum mencit balb/c pada kelompok kontrol positif yang diinduksi LES menggunakan pristane mengalami penurunan yang signifikan dengan mencit balb/c normal pada kelompok kontrol negatif ($p=0,000$). Hal ini bersesuaian dengan penelitian Manolova *et al.* (2013) dimana pada pasien LES terjadi penurunan produksi TGF- β yang diduga karena proliferasi sel T dan sel B yang berlebihan dan disertai penurunan sel Tregulator yang berakibat hilangnya fungsi-fungsi TGF- β dan terjadi inflamasi kronis.

Pengembangan terapi LES saat ini mengarah kepada pengembangan agen biologis dan satu-satunya pengobatan agen biologis yang telah disetujui oleh FDA adalah belimumab. Belimumab merupakan suatu antibodi monoklonal yang mampu berikatan dan menghambat aktivitas dari sitokin BAFF (Anolik, 2013; Baker *et al.*, 2003). Efikasi klinis belimumab telah dilaporkan pada uji klinis BLISS fase III namun penggunaan belimumab membutuhkan biaya yang mahal (Furie *et al.*, 2011; Hahn, 2013).

Bryophyllum pinnatum merupakan salah satu tanaman yang mudah ditemui di Indonesia dan telah digunakan dalam pengobatan etnomedis dan antroposofi dalam mengobati berbagai penyakit hiperreaktif. Berbagai penelitian telah membuktikan bahwa *Bryophyllum pinnatum* memiliki efek imunomodulator, anti-alergi, anti-inflamasi, sitotoksik, dan aktivitas anti-tumor (Cruz *et al.*, 2012; Salami *et al.*, 2013; F  rer *et al.*, 2016). Pada ekstrak *Bryophyllum pinnatum* ditemukan dapat menghambat proses inflamasi yang diinduksi phenol dengan menghambat sitokin-sitokin IL-1A, IL-1B, IL-8, TNF- α , dan ROS (Chibli *et al.*, 2014; Yadav *et al.*, 2016).

Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) mampu meningkatkan kadar TGF- β serum mencit balb/c secara bermakna pada dosis 21 mg/kgBB ($p=0,030$) dan 42 mg/kgBB ($p=0,011$) dibandingkan dengan mencit balb/c pada kelompok kontrol positif. Pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) dosis 10,5 mg/kgBB juga mampu meningkatkan rata-rata kadar TGF- β serum namun peningkatannya tidak bermakna ($p=0,670$). Nilai korelasi antara dosis ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) dan rata-rata kadar TGF- β adalah sedang ($R=0,543$) dengan arah positif dan signifikan ($p=0,001$) yang menunjukkan semakin besar dosis yang diberikan maka akan semakin meningkat kadar TGF- β serum. Berdasarkan pemaparan tersebut menunjukkan bahwa kandungan pada ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) memiliki efek anti-inflamasi dengan meningkatkan kadar TGF- β .

Peningkatan kadar TGF- β dapat diduga terjadi karena peningkatan sel Tregulator, sesuai dengan penelitian yang dilakukan Indriyanti *et al.* (2017) dimana pemberian fraksi etil asetat cocor bebek memiliki kemampuan untuk sedikit menurunkan kadar antibodi anti-Sm, dan meningkatkan persentase Tregulator CD4⁺CD25⁺, sehingga stabilitas sistem imun pada lupus terjaga. Pada penelitian *in-vitro* yang sebelumnya dilakukan oleh Nurdiana dkk. (2017) didapatkan bahwa ekstrak daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) memiliki efek *immunosuppressive* yaitu dengan menekan kadar Th dan sel B matur pada mencit Balb/c model lupus yang diinduksi pristane. Mengingat salah satu fungsi TGF- β adalah menghambat proliferasi sel B, maka penurunan kadar sel B pada pemberian ekstrak etanol cocor bebek penelitian sebelumnya memungkinkan adanya pengaruh dari peningkatan TGF- β .

6.3 Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan dari penelitian ini adalah masih belum dapat menjelaskan kandungan metabolit sekunder spesifik manakah dari ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) yang memiliki peran terhadap peningkatan kadar TGF- β . Dimana metabolit sekunder pada ekstrak daun *Bryophyllum pinnatum* yang memiliki efek anti-inflammasi diperantarai oleh phenol, alkaloid, flavonoid, triterpenoids, tannin, glycoside, dan bufadienolide.



BAB VII

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa :

- a) Ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) memiliki efek meningkatkan kadar TGF- β serum mencit balb/c model LES yang diinduksi pristane secara *in vivo*.
- b) Semakin tinggi dosis ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) yang digunakan, maka semakin meningkat kadar TGF- β serum mencit.
- c) Pada kelompok perlakuan yang diberi dosis 10,5 mg/kgBB belum menunjukkan peningkatan kadar TGF- β yang bermakna dari kelompok mencit LES kontrol positif.

7.2 Saran

Adapun saran yang dapat diberikan pada penelitian ini adalah:

- a) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek spesifik dari phenol, alkaloid, flavonoid, triterpenoids, tannin, glycoside, dan bufadienolide dari ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) terhadap sitokin TGF- β maupun *marker* LES lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pillai, S., *Basic Immunology: Functions and Dysorders of the Immune System*, 5th Ed., Elsevier, Canada, 2016.

Afzal, M., Gupta, G., Kazmi, I., Rahman, M., Afzal, O., Alam, J., et al. Anti-Inflammatory and Analgesic Potential of a Novel Steroidal Derivative from *Bryophyllum pinnatum*. *Fitoterapia*, 2012, 83 (5): 853-858.

Ahmadpoor, P., Dalili, N., Rostami, M. An Update on Pathogenesis of Systemic Lupus Erythematosus. *Iranian Journal of Kidney Diseases*, 2014, 8 (3): 171.

Bartels, C.M., 2017. *Systemic Lupus Erythematosus (SLE)*, (Online), (<http://emedicine.medscape.com/article/332244-overview>, diakses pada 20 Desember 2017).

Carlucci, F., Ishaque, A., Ling, G.S., Szajna, M., Sandison, A., Donatien, P., et al. C1q Modulates the Response to TLR7 Stimulation by Pristane-Primed Macrophages: Implications for Pristane-Induced Lupus. *The Journal of Immunology*, 2016, 196 (4): 1488-1494.

Chen, X., Cui, L., Li, R., Lin, H., Huang, Z., Lin, L. Development of pristane induced mice model for lupus with atherosclerosis and analysis of TLR expression. *Clin Exp Rheumatol*, 2016, 34(4):600-8.

Chibli, L.A., Rodrigues, K.C., Gasparetto, C.M., Pinto, N.C., Fabri, R.L., Scio, E., et al. Anti-Inflammatory Effects of *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken Ethanol Extract in Acute and Chronic Cutaneous Inflammation. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014, 154 (2): 330-338.

Choi, J., Kim, S.T., Craft, J. The Pathogenesis of Systemic Lupus Erythematosus—an Update. *Current Opinion in Immunology*, 2012, 24 (6): 651-657.

Coblyn, J. S., Weinblatt, M., Helfgott, S., Bermas, B., *Brigham and Women's Experts' Approach to Rheumatology*, Jones & Bartlett Learning, USA, 2011.

Cruz, E. A., Reuter, S., Martin, H., Dehzad, N., Muzitano, M. F., Costa, S. S. Kalanchoe pinnata inhibits mast cell activation and prevents allergic airway disease. *Phytomedicine*, 2012, 19:115–121.

Federer, W.T., *Experimental Design: Theory and Application*, Oxford and IBH Publishing Company, USA, 1955.

Fürer, K., Simões-Wüst, A. P., von Mandach, U., Hamburger, M., Potterat, O. *Bryophyllum pinnatum* and Related Species Used in Anthroposophic Medicine: Constituents, Pharmacological Activities, and Clinical Efficacy. *Planta medica*, 2016, 82 (11/12): 930-941.

Furie, R. A., Leon, G., Thomas, M., Petri, M. A., Chu, A. D., Hislop, C., et al., A phase 2, randomised, placebo-controlled clinical trial of blisibimod, an inhibitor of B cell activating factor, in patients with moderate-to-severe systemic lupus erythematosus, the PEARL-SC study. *Ann Rheum Dis*, 2013, 74:1667–1675.

Hahn, B. H. Belimumab for systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med*, 2013, 368(16):1528-35.

Indriyanti, N., Soeroso, J., Khotib, J. T-Cell Activation Controlling Effects of Ethyl Acetate Fraction of Kalanchoe Pinnata (Lmk) Pers On TMPD-Treated Lupus Mice. *International Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research*, 2018, 9(2): 475-482.

Jianxin, L., Bonnie, K.C., Cheukchun, S. Update on the Role of T Cell Subset in the Pathogenesis of Systemic Lupus Erythematosus. *Journal of Chinese Clinical Medicine*, 2009, 4: 400-409.

Kemenkes RI, Pusdatin: Pusat Data dan Informasi Kementrian Kesehatan RI, *Situasi Lupus di Indonesia*, Jakarta, 2017.

Kuhn, A., Bonsmann, G., Anders, H. J., Herzer, P., Tenbrock, K., Schneider, M. The Diagnosis and Treatment of Systemic Lupus Erythematosus. *Deutsches Arzteblatt International*, 2015, 112 (25): 423.

Kumar, V., Abbas, K.A., Aster, C.J., *Robbins Basic Pathology*, Elsevier, Canada, 2017.

Leiss, H., Niederreiter, B., Bandur, T., Schwarzecker, B., Blümi, S., Steiner, G., et al. Pristane-induced lupus as a model of human lupus arthritis: evolvement of autoantibodies, internal organ and joint inflammation. *Lupus*, 2013, 22(8):778–792.

Manolova, I., Gerenova, J., Ivanova, M. Serum Levels of Transforming Growth Factor- β 1 (TGF- β 1) in Patients with Systemic Lupus Erythematosus and Hashimoto's Thyroiditis. *European Cytokine Network*, 2013, 24 (1): 69-74.

Metawie, S.A., ElRefai, R.M., ElAde, S.S., Shahin, R.M.H. Transforming Growth Factor- β 1 in Systemic Lupus Erythematosus Patients and Its Relation to Organ Damage and Disease Activity. *The Egyptian Rheumatologist*, 2015, 37 (4): 49-54.

National Center for Biotechnology Information, PubChem Compound Database: CID=15979, (Online), (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/15979>, diakses pada 18 Desember 2017).

Nurdiana, N., Sari, Y., Wahyuni, R., Maya, A., Syukur, N. A., Dewi, E. S., et al.

Immunomodulation Effects of *Bryophyllum Pinnatum* on Pregnant Pristane-Induced Lupus Mice Model. *Research Journal of Life Science*, 2017, 3 (3): 190-200.

Nwali, B.U., Okaka, A.N.C., Ibiam, U.A., Aja, P.M. Phytochemical Composition of *Bryophyllum pinnatum* Leaves. *International Journal of Advanced Biological Research*, 2012, 2 (4): 614-616.

Panche, A.N., Diwan, A.D., Chandra, S.R. Flavonoids: An Overview. *Journal of Nutritional Science*, 2016, 5.

Perry, D., Sang, A., Yin, Y., Zheng, Y. Y., Morel, L. Murine Models of Systemic Lupus Erythematosus. *BioMed Research International*, 2011.

Rees, F. Early Clinical Features in Systemic Lupus Erythematosus: Can They Be Used to Achieve Earlier Diagnosis? A Risk Prediction Model. *Arthritis care & research*, 2017, 69 (6): 833-841.

Reeves, W.H. Lee, P.Y., Weinstein, J.S., Satoh, M., Lu, L. Induction of autoimmunity by pristane and other naturally occurring hydrocarbons. *Trends in Immunology*, 2009, 30(9): 455-464.

Rottman, J.B. dan Willis, C.R. Mouse Models of Systemic Lupus Erythematosus Reveal a Complex Pathogenesis. *Veterinary Pathology*, 2010, 47 (4): 4664-4676.

Salami, E. O., Ozolua, R. I., Okpo, S. O., Eze, G. I., Uwaya, D. O. Studies on the antiasthmatic and antitussive properties of aqueous leaf extract of *Bryophyllum pinnatum* in rodent species. *Asian Pac J Trop Med*, 2013, 6:421-425.

Soedarto, *Kamus Bergambar Alergi dan Imunologi*, Sagung Seto, Jakarta, 2014.

Sugiyono, *Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif dan R&D*, Alfabeta, Bandung, 2007.

Woods, M., Zou, Y. R., Davidson, A. Defects in Germinal Center Selection in SLE. *Front Immunol*, 2015, 6:425.

Yadav, M., Gulkari, V.D., Wanjari, M.M. Bryophyllum Pinnatum Leaf Extracts Prevent Formation of Renal Calculi in Lithiatic Rats. *Ancient science of life*, 2016, 36 (2): 90.

Zhuang, H., Szeto, C., Han, S., Yang, L., Reeves, W. H. Animal Models of Interferon Signature Positive Lupus. *Frontiers in Immunology*, 2015, 6:291.

