

**PENGARUH PEMBERIAN HABATUSSAUDA (*NIGELLA SATIVA L*) TERHADAP KADAR IL-10, DAN KADAR CRP
(Studi Eksperimental pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang
Diinduksi dengan Diet Tinggi Lemak)**

TESIS

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai gelar Magister Biomedik



Magister Ilmu Biomedik

Disusun oleh :

Fatika Puteri Rosyi Prabowo

MBK 20.15.01.0174

PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

SEMARANG

2023

TESIS

PENGARUH PEMBERIAN HABATUSSAUDA (*NIGELLA SATIVA* L) TERHADAP KADAR IL-10, DAN KADAR CRP (Studi Eksperimental pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi dengan Diet Tinggi Lemak)

Disusun oleh :

Fatika Puteri Rosyi Prabowo

MBK.20.15.01.0174

Telah disetujui oleh :

Mengetahui,

Pembimbing I,



Prof. Dr. Titiek Sumarawati, M.Kes
NIK. 220198045

Pembimbing II,



Dr. dr. Chodidjah, M.Kes
NIK. 210186023

Mengetahui,

**Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung**

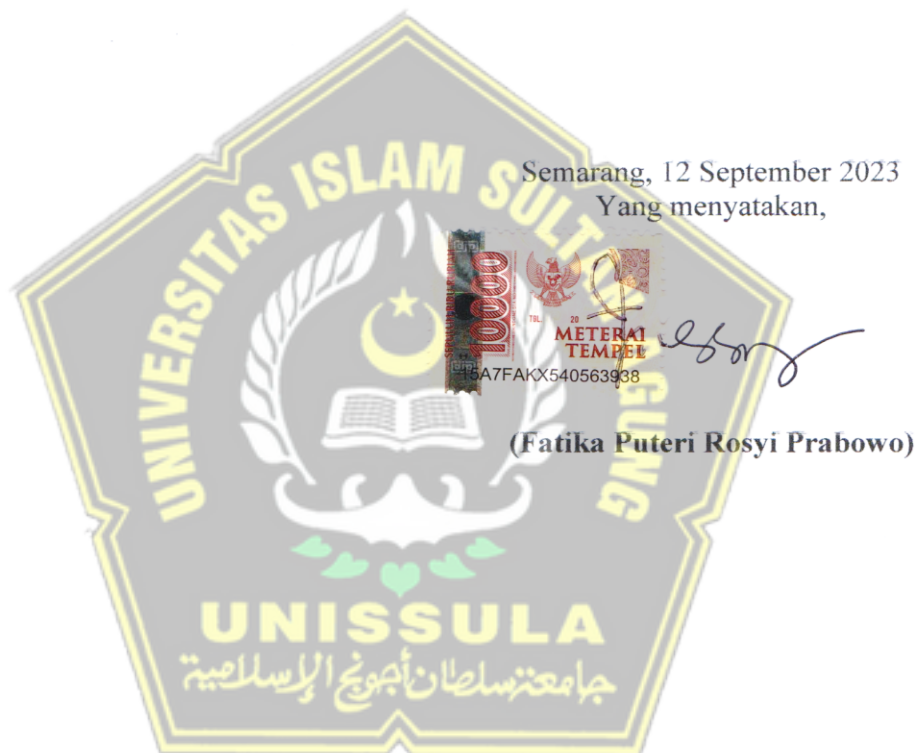


Asst. Prof. Dr. Agung Putra, M.Si. Med.

NIK. 210199050

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum / tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.



RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Fatika Puteri Rosyi Prabowo
Tempat / Tanggal Lahir : Sukoharjo, 15 September 1996
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. TK Baiturrohman Sukoharjo : Lulus tahun 2002
2. SDN 01 Ungaran : Lulus tahun 2008
3. MTS Assalam Solo : Lulus tahun 2011
4. SMA Assalam Solo : Lulus tahun 2014
5. S1 Fakultas Kedokteran Unissula Semarang : Lulus tahun 2018
6. Profesi Dokter Unissula Semarang : Lulus tahun 2020
7. Magister Ilmu Biomedik FK Unissula : (2020 — sekarang)

C. Riwayat Keluarga

1. Nama Ayah : Ir. Prabowo Setiyawan, MT, Ph.D.
2. Nama Ibu : dr. Ida Sri Rusmiyati
3. Nama Suami : Achmad Bagus Muawwin, S.Kom

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan Puji dan Syukur Kehadirat Allah SWT atas segala Rahmat dan Karunianya pada penulis, akhirnya penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis yang berjudul **Pengaruh Pemberian Habbatussauda (*Nigella Sativa* L) Terhadap Kadar IL-10, dan Kadar CRP (Studi Eksperimental pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi dengan Diet Tinggi Lemak).**

Tesis ditulis dalam rangka memenuhi sebagai persyaratan untuk memperoleh gelar Magister (S.2) Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang

Penulis menyadari bahwa tesis dapat diselesaikan berkat dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis berterima kasih kepada semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung memberikan kontribusi dalam menyelesaikan Tesis ini.

Selanjutnya ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. Prof. Dr. H. Gunarto, SH., M.Hum selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
3. Assoc. Prof. Dr. dr. H. Agung Putra, M.Si. Med selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang

4. Prof. Dr. Ir. Titiek Sumarawati, M.Kes selaku dosen pembimbing I yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis hingga selama proses penulisan thesis.
5. Dr. dr. Chodidjah, M.Kes selaku dosen pembimbing II yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis hingga selama proses penulisan thesis.
6. Dr. dr. Danis Pertiwi, M.Si. Med, Sp.PK selaku dosen penguji I yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk menguji dan membimbing penulis hingga selama proses penulisan thesis.
7. Dr. Siti Thomas Z, SKM, M.Kes selaku dosen penguji II yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk menguji dan membimbing penulis hingga selama proses penulisan thesis.
8. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF selaku dosen penguji III yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis hingga selama proses penulisan thesis.
9. Seluruh tenaga pendidik dan staff administrasi di Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang secara langsung atau tidak langsung telah memberi bantuan kepada penulis dalam menyelesaikan penulisan tesis.
10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan dalam penyusunan tesis ini, terimakasih atas dukungannya.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan penelitian ini. Oleh karena itu, saran-saran yang membangun dari manapun akan

diterima dengan terbuka. Harapan penulis semoga penelitian ini bermanfaat untuk berbagai pihak. Amin yaa rabbal alamin.

Semarang, 12 September 2023



(Fatika Puteri Rosyi Prabowo)

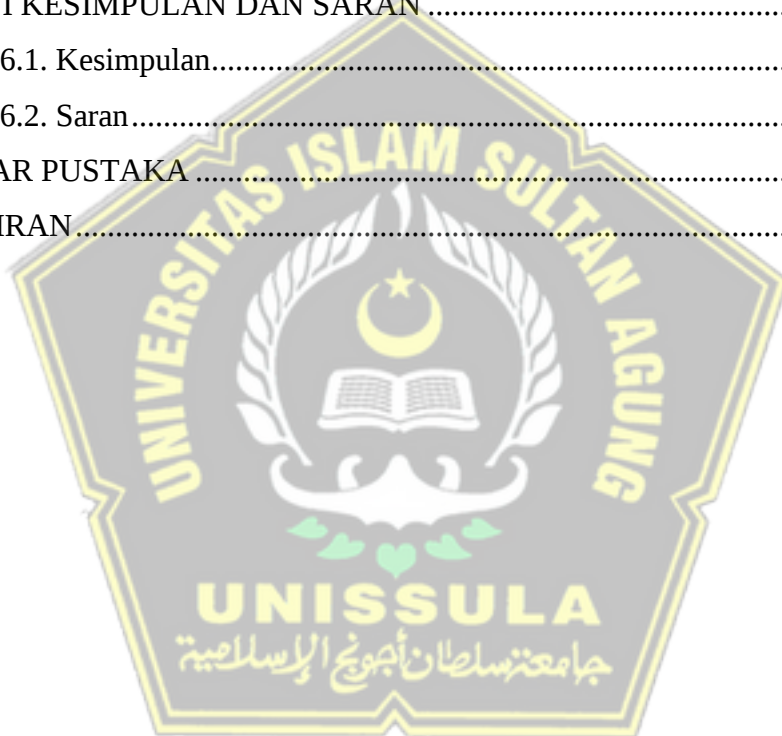


DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR SINGKATAN	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DATA LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum.....	4
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1. Manfaat Teoritis	5
1.4.2. Manfaat Praktis.....	5
1.5. Originalitas Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1. C- Reactive Protein	9
2.1.1. Definisi	9
2.1.2 Jalur pensinyalan CRP.....	9
2.1.3. Cara Pengukuran	10
2.2. Interleukin-10 (IL-10)	10
2.2.1. Definisi	10

2.2.2. Regulasi Produksi Interleukin-10 (IL-10)	11
2.3. Faktor faktor yang mempengaruhi kadar IL10 dan Kadar CRP	13
2.4. Habbatussauda.....	18
2.5. Golongan Obat Dislipidemia.....	19
2.4.1 Golongan Statin.....	19
2.4.2. Simvastatin	19
2.6. Efek Habbatussauda (<i>Nigella Sativa</i>) terhadap Kadar IL-10 dan CRP pada tikus yang tinggi lemak.....	20
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS.....	22
3.1. Kerangka Teori.....	23
3.2. Kerangka Konsep	24
3.3. Hipotesis.....	24
BAB IV METODE PENELITIAN	25
4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	25
4.2. Variabel dan Definisi Operasional.....	27
4.2.1. Variabel Penelitian	27
4.2.2. Definisi Operasional.....	27
4.3. Subyek Penelitian dan Sampel Penelitian	29
4.3.1. Subyek Penelitian.....	29
4.3.2. Sampel Penelitian.....	29
4.3.3. Cara Pengambilan Sampel Penelitian.....	29
4.3.4. Besar Sampel	30
4.4. Alat dan Bahan	31
4.4.1. Alat penelitian	31
4.4.2. Bahan penelitian	31
4.5. Cara Penelitian	32
4.5.1. Perolehan <i>Ethical Clearance</i>	32
4.5.2. Prosedur induksi diet tinggi lemak.....	32
4.6. Tempat dan Waktu Penelitian	35
4.6.1. Tempat Penelitian.....	35
4.6.2. Waktu Penelitian	35

4.7. Analisis Data	36
4.8. Alur Penelitian.....	37
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	38
5.1. Hasil Penelitian	38
5.1.1. Kadar IL-10	43
5.1.2. Kadar CRP.....	46
5.2. Pembahasan.....	49
5.3. Keterbatasan Penelitian	54
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	57
6.1. Kesimpulan.....	57
6.2. Saran.....	57
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN.....	64



DAFTAR SINGKATAN



AA	: <i>Asam arakidonat</i>
ACTH	: <i>Hormon adrenokortikotropik</i>
ATF	: <i>Activating Transcription Factor</i>
CREB	: <i>CAMP Response Element Binding Protein</i>
CRP	: <i>C - Reactive protein</i>
DC	: <i>Dendritic Cell</i>
ELISA	: <i>Enzyme linked Immunosorbent Assay</i>
ERK	: <i>Ekstraseluler Regulated Kinase</i>
GC	: <i>GlukoCortikoid</i>
GSK3 β	: <i>Glycogen Synthase Kinase 3β</i>
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>
HMGKoA	: <i>3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A</i>
IFN	: <i>Interferon</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
LPS	: <i>LipoPolySaccharide</i>
MAP	: <i>Mitogen-Activated Protein</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>
MSK	: <i>Mitogen and Stress activated Protein Kinase</i>
NADPH	: <i>Nicotinamide adenine dinukleotida fosfat</i>
NLRP3	: <i>NOD-like receptor protein 3</i>
NO	: <i>Nitric Oxide</i>
PI3K	: <i>PhosphoInositide-3-Kinase</i>
PJK	: <i>Penyakit Jantung Koroner</i>
PUFA	: <i>Polyunsaturated Fatty Acids</i>
PRR	: <i>Pattern-Recognition Reseptor</i>
RISKESDAS	: <i>Riset Kesehatan Dasar</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>

STAT	: <i>Signal Transducer dan Activator of Transcription</i>
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor Beta</i>
Th CD4	: <i>T helper Cluster of Differentiation 4</i>
TLR	: <i>Toll Like Receptor</i>
TNF	: <i>Tumor Necrotic Factor</i>
TQ	: <i>Thymoquinone</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1.1 Originalitas Penelitian (2014-2021)	5
Tabel 5.1. Hasil analisis rerata, uji normalitas, uji homogenitas dan uji beda kadar IL-10 antar kelompok.....	43
Tabel 5.2. Hasil Analisis Uji Post Hoc LSD pada Kadar IL 10	44
Tabel 5.3. Hasil analisis rerata, uji normalitas, uji homogenitas dan uji beda kadar CRP antar kelompok	46
Tabel 5.4. Hasil analisis perbandingan rerata kadar CRP antar dua kelompok.....	47
Tabel 5.5. Korelasi berat badan dan profil lipid dengan kadar IL-10 dan kadar CRP	49

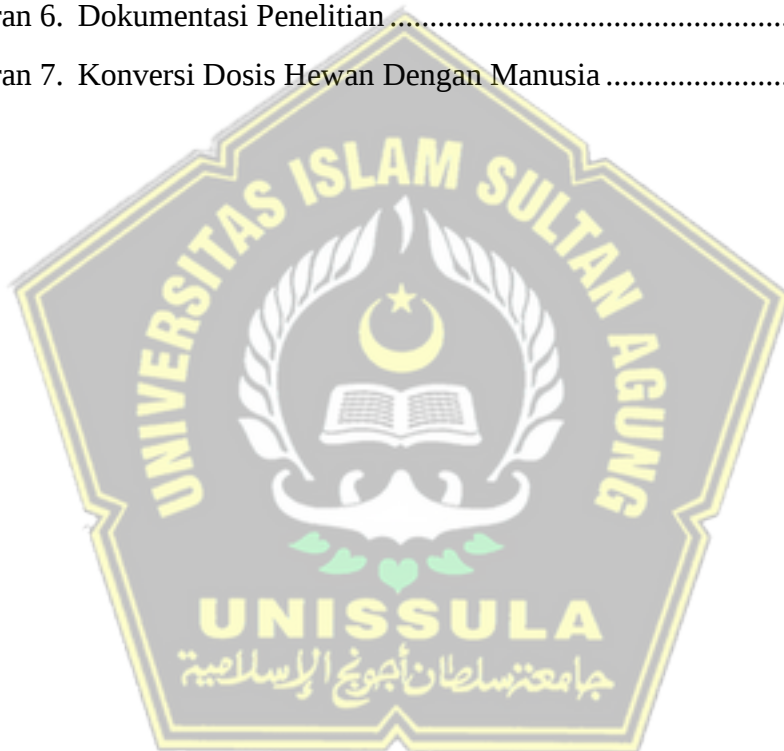


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Mekanisme hubungan antara CRP dan kejadian kardiovaskular	10
Gambar 2.2 Regulasi Produksi IL 10	13
Gambar 2.3 Struktur Kimia Simvastatin	20
Gambar 3.1 Kerangka Teori	23
Gambar 3.2 Kerangka Konsep	24
Gambar 4.1 Gambar rancangan penelitian	25
Gambar 4.2 Alur Penelitian	37
Gambar 5.1. Diagram Batang rerata kadar kolesterol total antar kelompok 2 minggu pasca induksi diet tinggi lemak dan 4 minggu pasca induksi diet tinggi lemak + perlakuan	39
Gambar 5.2 Diagram Batang kadar trigliserida antar kelompok 2 minggu pasca induksi diet tinggi lemak dan 4 minggu pasca induksi diet tinggi lemak + perlakuan	40
Gambar 5.3. Diagram Batang kadar LDL antar kelompok 2 minggu pasca induksi diet tinggi lemak dan 4 minggu pasca induksi diet tinggi lemak + perlakuan	41
Gambar 5.4. Diagram Batang kadar HDL antar kelompok 2 minggu pasca induksi diet tinggi lemak dan 4 minggu pasca induksi diet tinggi lemak + perlakuan	41
Gambar 5.5. Diagram Batang berat badan tikus antar kelompok selama 5 (lima) minggu	42
Gambar 5.6. Diagram Batang rerata kadar IL-10 antar kelompok	46
Gambar 5.7. Diagram Batang rerata kadar CRP antar kelompok	49

DATA LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Analisis Kadar IL-10 dan CRP pada Tikus yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak.....	64
Lampiran 2. Data Penelitian.....	69
Lampiran 3. Surat Permohonan Ijin Penelitian	71
Lampiran 4. <i>Ethical Clearance</i>	72
Lampiran 5. Surat Keterangan telah Melaksanakan Penelitian PAU.....	73
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian.....	74
Lampiran 7. Konversi Dosis Hewan Dengan Manusia	76



INTISARI

Latar belakang: Dislipidemia adalah suatu penyakit yang banyak terjadi di Indonesia. Dislipidemia dapat memicu pembentukan dan peningkatan Reactive Oxygen Species (ROS) di dalam tubuh yang menyebabkan terjadinya inflamasi dan memicu berbagai sitokin. Habbatussauda memiliki kandungan flavonoid dan thymoquinon yang bersifat antioksidan kuat, menghambat pelepasan sitokin proinflamasi yang diinduksi diet tinggi lemak melalui penghambatan aktivasi NF- κ B. Penghambatan aktivasi NF- κ B oleh habbatussauda sebagai antioksidan akan menghasilkan efek antiinflamasi juga. Penelitian ini bertujuan untuk menilai kadar Interleukin 10 dan CRP pada tikus yang diinduksi diet tinggi lemak.

Metode: Penelitian ini merupakan jenis penelitian *posttest only control group*. 25 tikus putih jantan galur wistar diambil sebagai sampel, dan dibagi menjadi 5 kelompok; K0 (pellet dan air), K – (diet tinggi lemak), K + (diet tinggi lemak + simvastatin 0,18 mg/200grBB/hari), P1 (diet tinggi lemak + habbatussauda 3 ml/KgBB), P2 (diet tinggi lemak + habbatussauda 4 ml/KgBB). Data yang diperlukan dalam studi ini diperoleh melalui uji ELISA. Data yang terkumpul kemudian dianalisis menggunakan one-way anova dan uji post Hoc LSD.

Hasil: Dari hasil analisa yang dilakukan diperoleh (1) perbedaan rerata kadar IL-10 antar kelompok yang signifikan dengan nilai $p < 0,05$; (2) Perbedaan rerata kadar CRP antar kelompok dimana K0, K-, dan P1 signifikan, sedangkan antara K (+) dengan P2 tidak signifikan dengan nilai $p > 0.05$.

Kesimpulan: Pemberian habbatussauda berpengaruh terhadap kadar IL-10 dan Kadar CRP pada tikus putih yang diinduksi diet tinggi lemak.

Kata kunci: diet tinggi lemak, IL 10, CRP, Habbatussauda

ABSTRACT

Background: Dyslipidemia is a prevalent condition in Indonesia. Among the consequences associated with this disease are inflammation and the various kinds of cytokines. This research aims to investigate the impact of black cumin seed (*Nigella sativa*) on the levels of Interleukin 10 and C-reactive protein (CRP) in rats induced with a high-fat diet.

Methods: This study adopts a post-test only control group design. A total of 25 male Wistar albino rats were selected as the study samples and subsequently divided into five distinct groups: K0 (pellet and water only), K- (high-fat diet), K+ (high-fat diet + simvastatin 0.18 mg/BW/day), P1 (high-fat diet + black cumin seed 3 ml/kg BW), and P2 (high-fat diet + black cumin seed 4 ml/kg BW). Data for this study were collected through ELISA testing and statistically analysed using one-way ANOVA and post hoc LSD tests.

Results: From the analysis, the following findings are revealed: (1) a significant difference in the mean levels of IL-10 among the groups with a p-value < 0.05; (2) a difference in the mean levels of CRP among the groups; K0, K-, and P1 exhibited statistical significance, whereas the comparison between K (+) and P2 did not yield significant differences, as indicated by a p-value > 0.05.

Conclusion: The administration of black cumin seed (*Nigella sativa*) has an impact on the levels of IL-10 and CRP in high-fat diet-induced Wistar albino rats.

Keywords: *High-fat diet, IL-10, CRP, Black cumin seed*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Dislipidemia merupakan suatu kondisi akibat gangguan pencernaan lemak (lipid) yang ditandai peningkatan kadar kolesterol total, trigliserida, *Low Density Lipoprotein* (LDL), dan penurunan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL).¹ Dislipidemia yang terjadi dalam jangka lama menyebabkan kondisi inflamasi kronis dan memicu terbentuknya plak *atherosclerosis*. Kondisi ini merupakan penyebab utama berkembangnya penyakit kardiovaskular seperti penyakit jantung koroner. Pengobatan dislipidemia menggunakan statin berguna untuk menurunkan kadar kolesterol dan mencegah terbentuknya plak *aterosklerosis*.² Penggunaan obat golongan statin sebagai terapi dislipidemia dianggap kurang memuaskan karena penggunaan jangka lama menyebabkan efek samping berupa *mialgia*, *rhabdomyolysis*, *myositis*.³ Perkembangan terapi alternatif menggunakan bahan alami seperti habbatussauda (*Nigella sativa L*) untuk menurunkan kadar lipid darah telah banyak dikembangkan, namun belum ada penelitian lebih lanjut terkait peran habbatussauda dalam mempengaruhi proses inflamasi kronis pada kondisi dislipidemia berdasarkan kadar *Interleukin-10* (IL 10), dan kadar *C - Reactive protein* (CRP) sebagai salah satu marker inflamasi.⁴

Hasil RISKESDAS 2013 menyebutkan bahwa 35,9% penduduk Indonesia berusia 15 tahun keatas memiliki kadar kolesterol yang abnormal (≥ 200 mg/dL); 15,9% memiliki kadar LDL yang tinggi (≥ 190 mg/dL), dan kadar HDL di bawah normal (< 40 mg/dL). Dislipidemia adalah faktor risiko utama penyakit kardiovaskular seperti Penyakit Jantung Koroner (PJK).⁵ Di Indonesia prevalensi PJK mencapai 1,5% dan jumlah nya terus meningkat seiring dengan bertambahnya usia.

Kondisi dislipidemia dalam waktu yang lama dapat memicu proses peradangan yang selanjutnya akan menyebabkan *vascular remodeling* dan pembentukan plak pada pembuluh darah. Proses *vascular remodeling* dan pembentukan plak yang berlangsung secara kronis dapat berujung pada munculnya penyakit kardiovaskular.⁶ Proses peradangan yang terjadi pada kondisi dislipidemia kronis ditandai dengan munculnya berbagai biomarker salah satunya adalah CRP.⁷ Berbagai penelitian sebelumnya membahas terkait potensi penggunaan *habbatussauda* sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Pemanfaatan *Habbatussauda* sebagai tanaman obat memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan.⁸ *Habbatussauda* memiliki berbagai macam zat aktif seperti flavonoid, *thymoquinone* (TQ), dan *polyunsaturated fatty acids* (PUFAs) yang berguna untuk memodulasi profil lipid.⁹ Kandungan TQ pada *habbatussauda* dapat menurunkan kadar lipid plasma dengan menghambat pergerakan reduktase 3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A (HMGCoA) dan meningkatkan jumlah reseptor LDL serta dapat menekan peroksidasi lipid melalui cara nonenzimatik pada lisosom.

Kandungan flavonoid dan PUFA yang tinggi pada habbatussauda diduga berperan dalam menurunkan kadar kolesterol total.¹⁰ Kandungan flavonoid pada habbatussauda berfungsi sebagai pencegahan kanker dengan cara menghambat ROS, susunan spesies nitrogen, dan menjaga sistem penguatan sel endogen. Sebagai tambahan TQ yang terkandung dalam habbatussauda juga memiliki sifat anti-inflamasi.¹¹

Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa habbatussauda mampu memperbaiki kondisi inflamasi dengan cara meningkatkan kadar IL-10 yang berfungsi sebagai regulator inflamasi, dan menurunkan kadar MDA dan NO.¹² Penelitian lain menyebutkan bahwa ekstrak dan minyak habbatussauda dapat memodulasi sitokin proinflamasi seperti IL-1 α , IL-2 β maupun IL-6 sehingga mampu meredakan proses inflamasi.¹³ Pada penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa penggunaan habbatussauda pada kelompok tikus yang mengalami *rheumatoid arthritis* mampu memperbaiki kondisi peradangan yang ditandai dengan peningkatan kadar IL-10.¹⁴ Efek antiinflamasi habbatussauda juga ditunjukkan dalam penelitian yang dilakukan pada tikus albino yang diinduksi formalin 5% dimana terjadi penurunan signifikan kadar CRP.¹⁵

Studi terkait penggunaan Habbatussauda dalam memodulasi profil lipid serta kemampuan dalam mengendalikan proses inflamasi telah banyak dilakukan, namun belum ada penelitian terkait pengaruh habbatussauda dalam menghambat proses inflamasi yang berlangsung secara kronis pada dislipidemia yang dapat dilihat melalui kadar IL-10 dan kadar CRP pada tikus jantan galur wistar yang diinduksi diet tinggi lemak.

1.2. Rumusan Masalah

Adakah pengaruh pemberian Habbatussauda terhadap kadar IL-10 dan kadar CRP pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi diet tinggi lemak?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh Habbatussauda terhadap kadar IL-10 dan kadar CRP pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi diet tinggi lemak.

1.3.2. Tujuan Khusus

- 1.3.2.1. Mengetahui rerata kadar IL 10 dan CRP pada kelompok sehat, kelompok yang diberikan induksi diet tinggi lemak, kelompok yang diberikan induksi diet tinggi lemak dan simvastatin, kelompok yang diberikan induksi diet tinggi lemak dan minyak habbatussauda 3 ml/KgBB, dan pada kelompok yang diberikan induksi diet tinggi lemak dan minyak habbatussauda 4 ml/KgBB
- 1.3.2.2. Menganalisis perbedaan rerata kadar IL 10 dan kadar CRP antar kelompok

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Memberikan sumbangan keilmuan medis mengenai pengaruh Habbatussauda terhadap kadar IL-10 dan kadar CRP pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi diet tinggi lemak.

1.4.2. Manfaat Praktis

- a. Memberikan informasi dan pemahaman bagi pembaca mengenai pengaruh Habbatussauda terhadap proses inflamasi pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi diet tinggi lemak.
- b. Penelitian diharapkan dapat diaplikasikan bagi masyarakat.

1.5. Originalitas Penelitian

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian (2014-2021)

Peneliti, Tahun	Judul	Metode	Hasil
Muhammad Usman Bashir, Hamid Javaid Qureshi, dan Uzair Mumtaz, 2014 ¹⁵	<i>“Effect of Nigella Sativa Seeds Extract on Serum C-Reactive Protein in Albino Rats”</i>	In Vivo, Eksperimenatal	<i>Nigella Sativa</i> secara signifikan menurunkan kadar CRP pada tikus albino yang diinduksi formalin 5% dengan dosis 50 µl
Javad Heshmatia, Nazli Namazib, Mohammad-Reza Memarzadehc, Mohsen Taghizadehd, dan Fariba Kolahdooze, 2015. ¹⁹	<i>“Comparative evaluation of Nigella sativa (Kalonji) and simvastatin for the treatment of hyperlipidemia and in the induction of hepatotoxicity”</i>	Pasien, Eksperimental	Terdapat penurunan kadar glukosa puasa, glycated hemoglobin, trigliserid dan LDL-Kolesterol pada pasien DM tipe 2
Vahid Hadi, Sorayya Kheirouri, Mohammad Alizadeh, Alireza Khabbazi, dan Hossein Hosseini,	<i>“Effects of Nigella sativa oil extract on inflammatory cytokine response and oxidative stress</i>	Pasien, Eksperimental	<i>Nigella sativa</i> mampu memperbaiki kondisi inflamasi secara signifikan dengan meningkatkan kadar IL-

2016. ¹²	<i>status in patients with rheumatoid arthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial</i>		10, dan menurunkan kadar MDA dan NO serum
Muhammad Jawad Iqbal, Masood Sadiq Butt, Mir Muhammad Nasir Qayyum, dan Hafiz Ansar Rasul Suleria, 2017. ⁴³	<i>"Anti-hypercholesterolem ic and anti-hyperglycaemic effects of conventional and supercritical extracts of black cumin (Nigella sativa)"</i>	In Vivo, Eksperimenatal	<i>Nigella sativa</i> secara signifikan menurunkan kadar glukosa dan kolesterol dalam plasma pada tikus
Fatemeh Norouzi, Azam Abareshi, Fereshteh Asgharzadeh, Farimah Beheshti, Mahmoud Hosseini, Mehdi Farzadnia, Majid Khazaei, 2017. ⁴¹	<i>"The effect of Nigella sativa on inflammation-induced myocardial fibrosis in male rats"</i>	In vivo	Terdapat penurunan kadar IL-6 dan TNF alfa pada tikus model fibrosis miocardial yang diinduksi ekstrak <i>Nigella sativa</i> 200mg/kg dan 400mg/kg
Mukhtar Ikhsa, Nurul Hiedayati, Kazutaka Maeyama dan Fariz Nurwidya, 2018. ¹¹	<i>"Nigella sativa as an anti-inflammatory agent in asthma"</i>	In Vitro, Eksperimental	<i>Nigella Sativa</i> memiliki efek antinflamasi yang menekan kerja sel mast dan menurunkan produksi histamin pada tikus
Laura Bordoni, Donatella Fedeli, Cinzia Nasuti, Filippo Maggi, Fabrizio Papa, Martin Wabitsch, Raffaele De Caterina dan Rosita Gabbianelli, 2019. ¹³	<i>"Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of Nigella sativa Oil in Human Pre-Adipocytes"</i>	In Vitro, Eksperimental	Ekstrak <i>Nigella Sativa</i> yang <i>Fresh</i> (FEO) yang mengandung lebih banyak thymoquinone lebih berperan sebagai anti inflamasi dengan cara menurunkan kadar IL-6 secara signifikan, sedangkan Ektrak <i>Nigella Sativa</i> yang disimpan (SEO) memiliki aktifitas antioksidain yang lebih tinggi ditandai dengan penghambatan IL-1

			beta.
Retno Susilowati, Vikki Ainuzzakki, M. Rizqon Nadif dan Amalia Rizka Diana, 2019. ¹⁰	<i>"The Efficacy of Nigella Sativa L Extracts to Reduce Cardiovascular Disease Risk in Diabetic Dislipidemia"</i>	In Vivo, Eksperimental	<i>Nigella Sativa</i> memiliki efek antioksidan dan antilipogenik yang ditandai dengan penurunan LDL, Peningkatan kadar HDL serta penurunan kadar <i>Malondialdehyde</i> (MDA) pada hewan coba
Moutawakilou Gomina, Bassitou Dabrigui, Tarik Salifou, Adebayo Alassani, Ibrahim Mama Cisse, Gilbert Djidonou, Stanislas Zinsou, Lamine Baba-Moussa dan Simon Akpona, 2021. ⁹	<i>"Effect of daily consumption of Nigella sativa seed on serum lipids in adult subjects"</i>	Pasien, Eksperimental	<i>Nigella Sativa</i> dapat meningkatkan profil lipid ditandai dengan penurunan LDL, trigliserid dan peningkatan HDL pada subjek orang dewasa
Raluca Maria pop, Oktavia Sabin, Soimita Suci, Stefan Christian vesa, Sonia Ancuta Socaci, Veronica Sanda Chedea, Ioana Corina Boscan, dan Anca Dana Buzoianu, 2020. ⁴⁰	<i>"Nigella Sativa's Anti-Inflammatory and antioxidative effect in experimental inflammation"</i>	In Vivo, Eksperimental	<i>Nigella Sativa</i> terbukti memiliki efek sebagai antioksidan melalui penurunan kadar <i>Malondialdehyde</i> (MDA) pada hewan coba

Perbedaan penelitian ini dengan penelitian terdahulu (tabel 1.1) yaitu belum ada penelitian yang menggunakan Habbatussauda dalam memodulasi proses inflamasi kronis melalui kadar IL-10 dan CRP pada tikus model yang diinduksi diet tinggi lemak. Penelitian-penelitian terdahulu masih sebatas efek pemberian Habbatussauda terhadap profil lipid dalam darah, memiliki sifat antiinflamasi pada penelitian secara *in vitro*, peningkatan IL-10 pada kasus *Diabetes Mellitus*. Pemeriksaan kadar IL-10 dan CRP pada tikus

yang diinduksi diet tinggi lemak dimaksudkan untuk mengetahui peradangan yang terjadi pada kondisi dislipidemia.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. C- Reactive Protein

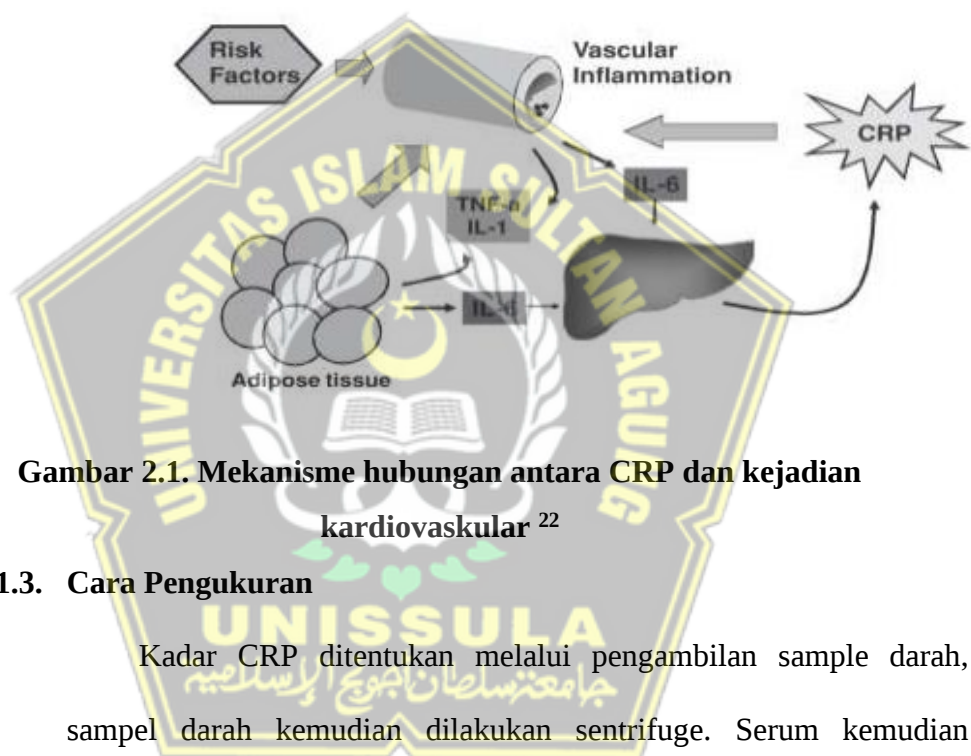
2.1.1. Definisi

C-reactive protein (CRP) merupakan protein fase akut yang diproduksi liver, dan kadarnya akan meningkat saat tubuh mengalami proses peradangan.¹⁶ Protein fase akut dapat meningkat (*positive acute-phase proteins*) atau menurun (*negative acute-phase proteins*) sebanyak minimal 25% selama proses radang.¹⁷ Perubahan fase akut dapat terjadi pada proses inflamasi termasuk pada penyakit jantung vaskular.¹⁸ CRP merupakan protein *pextraxin* yang berperan sebagai molekul perlindungan lini pertama. Protein ini berfungsi untuk menstimulasi sel fagosit dalam membersihkan sel-sel yang mengalami apoptosis dan nekrosis sehingga membantu dalam penyembuhan cedera sel. Produksi CRP oleh sel hepatosit distimulasi oleh sitokin proinflamasi non-spesifik berupa IL-6, IL- β , dan *Tumor Necrotic Factor* (TNF).¹⁹

2.1.2 Jalur pensinyalan CRP

CRP merupakan prediktor kuat penyakit kardiovaskular yang didasari oleh suatu proses inflamasi. Plak *aterosklerosis* memicu terjadinya inflamasi pada pembuluh darah dengan cara melepaskan IL-6 dan TNF- α . Selanjutnya, IL-6 akan menstimulasi pelepasan CRP

dari hepatosit.²⁰ CRP dapat mempengaruhi endotel dengan mengubah bioavailabilitas nitric oxide yang menyebabkan peningkatan ICAM-1.²¹ Di sisi lain jaringan adiposa secara langsung memicu terjadinya aterosklerosis yang menyebabkan pengeluaran dari IL-6 dan pada akhirnya akan meningkatkan kadar CRP. Mekanisme hubungan antara CRP dan kejadian kardiovaskular tertera pada gambar 1.²²



Gambar 2.1. Mekanisme hubungan antara CRP dan kejadian kardiovaskular²²

2.1.3. Cara Pengukuran

Kadar CRP ditentukan melalui pengambilan sample darah, sampel darah kemudian dilakukan sentrifuge. Serum kemudian dipisahkan dan dianalisis dengan metode *Enzyme linked Immunosorbent Assay (ELISA)*.²³

2.2. Interleukin-10 (IL-10)

2.2.1. Definisi

Interleukin 10 (IL-10) adalah jenis sitokin yang bersifat sebagai antiinflamasi yang memiliki peran penting dalam

mengendalikan respon imun tubuh, sehingga mampu mencegah kerusakan jaringan.²³ Sel imun yang dapat memproduksi IL-10 adalah monosit, makrofag dan sel dendritik.²⁴ Sebagai tambahan, pada kondisi peradangan yang disebabkan oleh infeksi atau respon terhadap sel kanker terdapat sel lain (non-imun) yang mampu memproduksi IL-10 dalam kondisi tertentu seperti sel epitel dan sel keratinosit.²⁵ Pada kondisi inflamasi kronis seperti *rheumatoid arthritis*, *psoriasis*, *systemic lupus erythematosus*, terjadi penurunan fungsi dan kadar IL-10.

IL-10 bekerja dengan cara menghambat sekresi *Interferon-γ* (IFN-γ) oleh Th 1, serta menghambat sitokin proinflamasi yang diproduksi oleh sel makrofag dan dendritik yang teraktifasi.

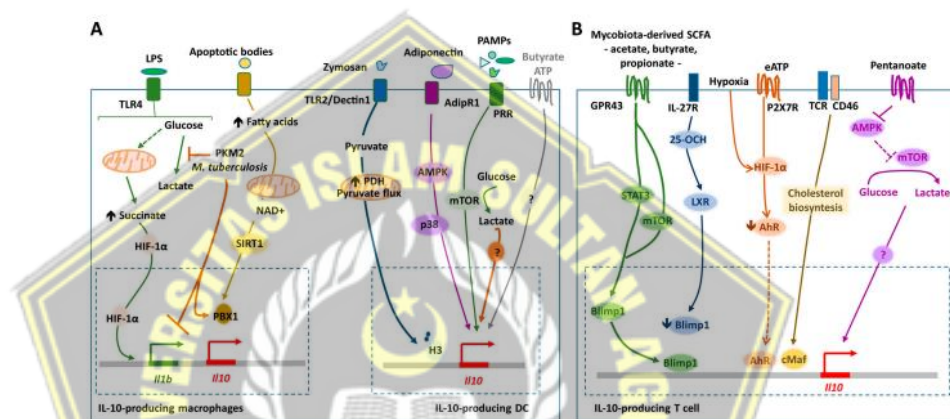
2.2.2. Regulasi Produksi Interleukin-10 (IL-10)

Regulasi IL-10 bergantung pada pemicu jalur pensinyalan spesifik, ekspresi dan aktivasi faktor transkripsi tertentu serta regulasi epigenetik paska transkripsi. *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK) adalah salah satu jalur utama yang mengatur IL-10. Aktivasi *Ekstraseluler Regulated Kinase* (ERK) 1/ 2 hilir lokus perkembangan tumor *Mitogen-Activated Protein* (MAP) 3 kinase 2 mengatur ekspresi IL10 oleh makrofag dan *Dendritic Cell* (DC) yang diaktifkan *Toll Like Receptor* (TLR), seperti yang ditunjukkan oleh pengurangan produksi IL-10 yang diamati pada defisiensi *Tumor Progression Locus 2* (TPL2).²⁵ MAPK P38 juga diaktifkan di bagian hilir

pensinyalan TLR dan ditunjukkan untuk mengatur produksi IL-10 oleh sel-sel ini. Beberapa faktor transkripsi yang diketahui mengatur transkripsi gen IL10 dalam makrofag dan DC diaktifkan di bagian hilir ERK1/2 atau p38, seperti halnya *cAMP response element binding protein* (CREB), *cyclic AMP dependent transcription factor 1* (ATF1), cFos, dan Sp1. Kerjasama antara ERK dan p38 mengaktifkan *Mitogen and Stress activated Protein Kinase 1* (MSK1) dan MSK2 diaktifkan mitogen dan stres, mendorong produksi IL-10 dalam makrofag yang dirangsang TLR4, melalui faktor transkripsi CREB dan ATF1.²⁶ Regulasi IL-10 oleh MSK/CREB telah ditunjukkan lebih lanjut dalam konteks aktivasi TLR2 dalam makrofag usus oleh polisakarida turunan *Helicobacter hepaticus*. Kaskade *phosphoinositide-3-kinase* (PI3K)/*serine/threonine protein kinase B* (Akt) juga mengatur ekspresi IL-10 dalam makrofag dengan memblokir *glycogen synthase kinase 3 β* (GSK 3 β), yang menghambat produksi IL-10. Aktivasi ERK1/2 berada di persimpangan beberapa kaskade pensinyalan lainnya, menunjukkan pentingnya jalur sentral dalam regulasi gen IL-10 dalam sel myeloid.

Selain pensinyalan *Pattern-Recognition Reseptor* (PRR) langsung, koreseptor dan sitokin lain mengatur produksi IL-10 oleh makrofag dan DC. Demikian pula, *Interferon* (IFN) tipe I telah terbukti mempotensiasi produksi IL-10 yang distimulasi oleh adanya *LipoPolySaccharide* (LPS) bakteri *Mycobacterium tuberculosis*.

Secara mekanis, IFN tipe I menginduksi transkripsi gen IL-10 dan menstabilkan mRNA yang dihasilkan, melalui aktivasi *Signal Transducer and Activator of Transcription 1* (STAT1) dan ERK. IL-10 diproduksi oleh semua subset sel T. Dalam sel *T helper Cluster of Differentiation 4* (Th CD4), produksi IL-10 menyertai sitokin khas IFN- γ ,



Gambar 2.2 Regulasi Produksi IL 10²⁴

2.3. Faktor faktor yang mempengaruhi kadar IL10 dan Kadar CRP

a. Obesitas

Jaringan adiposa merupakan organ yang menyebabkan produksi *reactive oxygen species* (ROS) dan mengeluarkan adipokin. Jaringan lemak dipandang sebagai sosok bebas yang menjadi dasar penciptaan ROS. Sistem susunan ekstremis bebas dalam berat badan yaitu perluasan untuk mendukung sitokin provokatif yang diciptakan oleh adiposit dan preadiposit seperti TNF- α , IL-1, dan IL-6. Sitokin ini adalah pemicu intens

pembentukan oksigen dan nitrogen reseptif oleh makrofag dan monosit. $\text{TNF-}\alpha$ membangun hubungan elektron dengan oksigen menghasilkan anion superoksida. Jaringan lemak memiliki kemampuan untuk melepaskan angiotensin II, yang memperkuat aksi oksidatif Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH). Oksidasi NADPH berperan penting sebagai pembentukan ROS di adiposit. Oksidasi lemak tak jenuh dan peningkatan penggunaan oksigen pada obesitas memicu peningkatan pernapasan mitokondria menghasilkan superoksida, radikal peroksida, dan hidrogen hidroksil.²⁷

Pada umumnya, jaringan lemak mengeluarkan lebih sedikit IL-6, leptin, dan lebih banyak adiponektin. IL-6 dan leptin menghambat limfosit administratif dan adiponektin memicu pelepasan IL-10. Sebaliknya, pada keadaan gemuk, jaringan lemak mengeluarkan lebih banyak IL-6, leptin, dan adiponektin dalam jumlah terbatas. Kritik fokus adiponektin mengarahkan penciptaan IL-10 dari jaringan lemak. IL-10 merupakan sitokin mitigasi yang berperan penting dalam menjaga ketahanan imunologi. Kadar $\text{TNF-}\alpha$ juga dilaporkan menurun seiring berkurangnya berat badan.²⁸

b. Luka dan Penyembuhan Luka

Setelah cedera, unsur pertumbuhan lainnya, sitokin, dan partikel lain dikeluarkan dari serum pembuluh darah rusak dan degranulasi trombosit. Sitokin tahap provokatif terdiri atas

interleukin 1 (IL-1), interleukin 6 (IL-6) dan TNF α . Leukosit polimorf nukleus dan makrofag merupakan sumber utama sitokin ini. Semisal terjadi kerusakan, makrofag langsung menuju ke tempat iritasi, sel makrofag diaktifkan di jaringan yang tereksitasi dan sel-sel yang menyala menghasilkan interleukin1 (IL1) yang menghasilkan granulosit-monosit. Memilih dan menggunakan dressing yang tepat akan berhasil dengan sistem penyembuhan.²⁹

Ada faktor mendasar dan terdekat yang mempengaruhi penyembuhan luka. Salah satu variabel yang berperan yaitu bahan kimia glukokortikoid. Penekanan neutrofil, penghambatan pembentukan fibroblas, dan gangguan sintesis kolagen yang mengurangi peradangan. Hormon histamin, katekolamin, dan glukokortikoid akan menekan imunitas seluler dan respon imun humoral. Fungsi sitokin dan faktor pertumbuhan dalam proses penyembuhan luka tidak dapat dipisahkan: Transforming Growth Factor Beta ($\text{TGF-}\beta$), Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Angiopoetin, IL-1, IL-6, IL 10, TNF- α , IFN - γ , makrofag yang dibuat oleh limfosit dan leukosit pada fase kombinasi kolagen. IL-10 merupakan sitokin proinflamasi, mampu menghambat produksi beberapa jenis sitokin (TNF, IL-1, kemokin, dan IL-12), dan menghambat kemampuan makrofag dalam membantu produksi sel darah putih. Dampak dari inisiasi IL-10 berupa hambatan terhadap respons pembakar yang tidak jelas dan eksplisit yang diintervensi oleh sel darah putih.³⁰

c. Demam

Demam adalah peningkatan tingkat panas internal yang terkontrol secara ketat pada jangkauan normal karena perubahan titik setel yang diintervensi IL-1 di pusat saraf. Zat penyebab demam disebut pirogen, dan dibedakan menjadi dua, yaitu pirogen eksogen dan endogen. Pirogen eksogen berasal dari luar tubuh, terutama mikroorganisme atau komponennya, seperti racun. Pirogen endogen mulai dari dalam tubuh dan mengikuti fokus pedoman suhu di pusat saraf. Istilah sitokin pirogenik mengacu pada pirogen endogen yang termasuk dalam keluarga sitokin. Contoh pirogen adalah IL-1, IL-6, TNF, dan INF.³¹

Mikroorganisme atau mungkin produknya, yang digabungkan dengan sitokin dan produk inflamasi lainnya (diproduksi karena kerusakan jaringan, iskemia/pembusukan jaringan, serta hipoksia) akan merangsang makrofag, sel endotel, dan sistem retikuloendotelial untuk memproduksi dan melepaskan sitokin pirogenik (IL-1, IL-6, TNF, IFN) ke dalam aliran fundamental. Komunikasi pirogen dengan endotel vaskular sirkumventrikular hipotalamus merupakan fase terpenting dalam perluasan set highlight tingkat suhu panas. Sitokin pirogenik ini akan memicu penggabungan PGE2 di pusat saraf. Selama demam, sitokin antipiretik seperti IL-1 dan IL-10 dilepaskan.³²

d. Makanan

Makanan yang meningkatkan inflamasi contohnya adalah olahan pati, gula, lemak jenuh dan lemak trans, dan rendah asam lemak omega-3. Makanan tersebut mengandung *Asam arakidonat* (AA) yang meningkatkan produksi sitokin proinflamasi IL-1, TNF- α , dan IL-6. Makanan tinggi lemak juga akan meningkatkan glukosa dan trigliserida, memicu produksi IL-6 dan CRP sekaligus meningkatkan stres oksidatif dan hiperaktivitas simpatik; disebut dismetabolisme postprandial, dan meningkatkan disfungsi endotel dan aterogenesis.³³

e. Stres

Stres mengaktifkan HPA aksis melalui hipotalamus dan mensekresi *hormon kortikotropin* (CRH), menekan respon imun melalui pelepasan *glukokortikoid* (GC) dari adrenal. Glukokortikoid meningkatkan ekspresi dan fungsi *NOD-like receptor protein 3* (NLRP3) inflamasi dan meningkatkan aktivasi sistem kekebalan bawaan dalam menanggapi sinyal bahaya. Faktor-faktor pro-inflamasi yang bersirkulasi seperti IL-1, IL-6 dan TNF α secara langsung merangsang sumbu hipofisis-adrenal, menghasilkan peningkatan kadar *hormon adrenokortikotropik* (ACTH) dan GC serum, yang pada gilirannya menghambat produksi faktor-faktor pro-inflamasi ini.³⁴

2.4. Habbatussauda

Habbatussauda termasuk ke *family Ranunculaceae* dan merupakan salah satu tanaman obat yang memiliki banyak kandungan bioaktif. Tanaman ini berasal dari eropa selatan, afrika utara, dan Asia. Saat ini tanaman ini banyak dibudidayakan diberbagai Negara di seluruh dunia termasuk daerah Mediterania, Timur Tengah, Eropa selatan terutama Syiria, Pakistan, Turki, dan Saudi Arabia.³⁵ Berikut merupakan klasifikasi habbatussauda berdasarkan ilmu taksonomi tumbuhan:



Kingdom	: <i>Plantae</i>
Sub Kingdom	: <i>Traceabionta</i>
Sub Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida-dicotyledon</i>
Sub Kelas	: <i>Magnoliidae</i>
Ordo	: <i>Ranunculales</i>
Famili	: <i>Ranunculaceae</i> (buttercup)
Genus	: <i>Nigella</i> L
Species	: <i>Nigella Sativa</i>

Habbatussauda mengandung berbagaimacam bioaktif meliputi, *thymohydroquinone*, *thymoquinone*, *dithymoquinone*, *p-cymene*, *carvacrol*, *sesquiterpene*, *4-terpineol*, *t-anethole*, *α-pinene*, dan *thymol*. Setiap kandungan biokatif didalam Habbatussauda memiliki manfaat untuk mengobati kondisi penyakit tertentu.³⁵ Penelitian sebelumnya menyebutkan

bahwa kandungan *thymoquinone* dalam *Habbatussauda* memiliki kemampuan antioksidan, antiinflamasi.

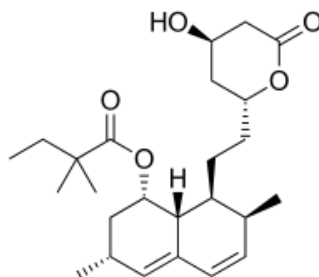
2.5. Golongan Obat Dislipidemia

2.4.1 Golongan Statin

Statin merupakan obat penurun kolesterol darah yang menjadi lini pertama dalam terapi kolesterol. Statin dapat bekerja dengan menghambat 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim (HMG-CoA) reduktase, menekan HMG-CoA menjadi mevalnoat, sehingga menurunkan katabolisme LDL. Pengekangan biosintesis kolesterol hati oleh inhibitor HMG-CoA reduktase memperluas deklarasi reseptor LDL dalam membatasi partikel LDL di hati dan menghilangkannya dari penyebaran.³⁶ Dengan demikian, efek obat ini dapat menurunkan kombinasi kolesterol dalam sel hati dengan meningkatkan jumlah reseptor LDL sehingga terjadi lebih banyak katabolisme kolesterol, serta meningkatkan kebebasan LDL plasma yang menyebabkan penurunan kolesterol LDL dan kadar kolesterol total dalam tubuh. Golongan obat ini hanya sedikit mempengaruhi kadar TG darah sehingga sebagian besar digunakan pada pasien hiperkolesterolemia.³⁷

2.4.2. Simvastatin

Simvastatin merupakan senyawa yang dipisahkan dari pertumbuhan *Penicillium citrinum*. Senyawa ini bekerja dengan menekan secara serius HMG-CoA reduktase dalam proses penggabungan kolesterol di hati.



Gambar 2.3 Struktur Kimia Simvastatin ³⁷

Fungsi Simvastatin yaitu dengan menghambat HMG-CoA reduktase selama waktu penyatuan kolesterol di hati. Simvastatin akan menekan HMG-CoA reduktase yang mengubah asetil-CoA sepenuhnya menjadi korosif mevalonik. Simvastatin mengaktifkan perluasan reseptor LDL dengan kecenderungan tinggi. Dampak ini meningkatkan laju ekstraksi LDL oleh hati, sehingga menurunkan simpanan LDL plasma.³⁸

Dosis awal pemberian obat adalah 10 mg pada malam hari, bila perlu dinaikkan dengan interval 4 minggu sampai maksimal 40 mg. Pasien harus melakukan diet pengurangan kolesterol selama memulai pengobatan dengan simvastatin. Jika hanya memerlukan pengurangan kolesterol LDL dapat diberikan dosis dengan kekuatan 10 mg sekali sehari pada malam hari.³⁹

2.6. Efek Habbatussauda (*Nigella Sativa*) terhadap Kadar IL-10 dan CRP pada tikus yang tinggi lemak

Habbatussauda mengandung banyak senyawa aktif yang memiliki aktivitas hipolipidemik dan antiinflamasi. Efek hipolipidemik Habbatussauda didapatkan dari kandungan niggelamine yang berperan

dalam menurunkan kadar trigliserid dengan cara meningkatkan katabolisme trigliserid, menurunkan sekresi VLDL. *Thymoquinone* memiliki efek untuk menurunkan kadar kolesterol melalui regulasi gen reseptor LDL di hati, dan menurunkan aktifitas HMG-CoA reduktase yang mengatur biosintesis kolesterol.⁴⁰

Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa *Habbatussauda* memiliki aktivitas antiinflamasi dengan cara menghambat berbagai macam mediator inflamasi seperti TNF- α , IL-1 β dan IL-6 pada tikus model *rheumatoid arthritis*. Efek anti inflamasi *Habbatussauda* juga dibuktikan melalui penurunan kadar CRP pada tikus yang diinduksi formalin secara *intraperitoneal*.⁴¹ Dislipidemia dan inflamasi memiliki kaitan yang kuat dengan kejadian *aterosclerosis*. Gangguan metabolisme lemak menginisiasi proses inflamasi dan memediasi respon imun pada *aterosclerosis* yang dapat dilihat melalui parameter seperti CRP.¹⁵ Penurunan *low-density lipoprotein cholesterol* (LDL-C) berpotensi memiliki efek anti-inflamasi yang berdampak pada penurunan risiko kejadian *aterosclerosis*.⁴²

BAB III

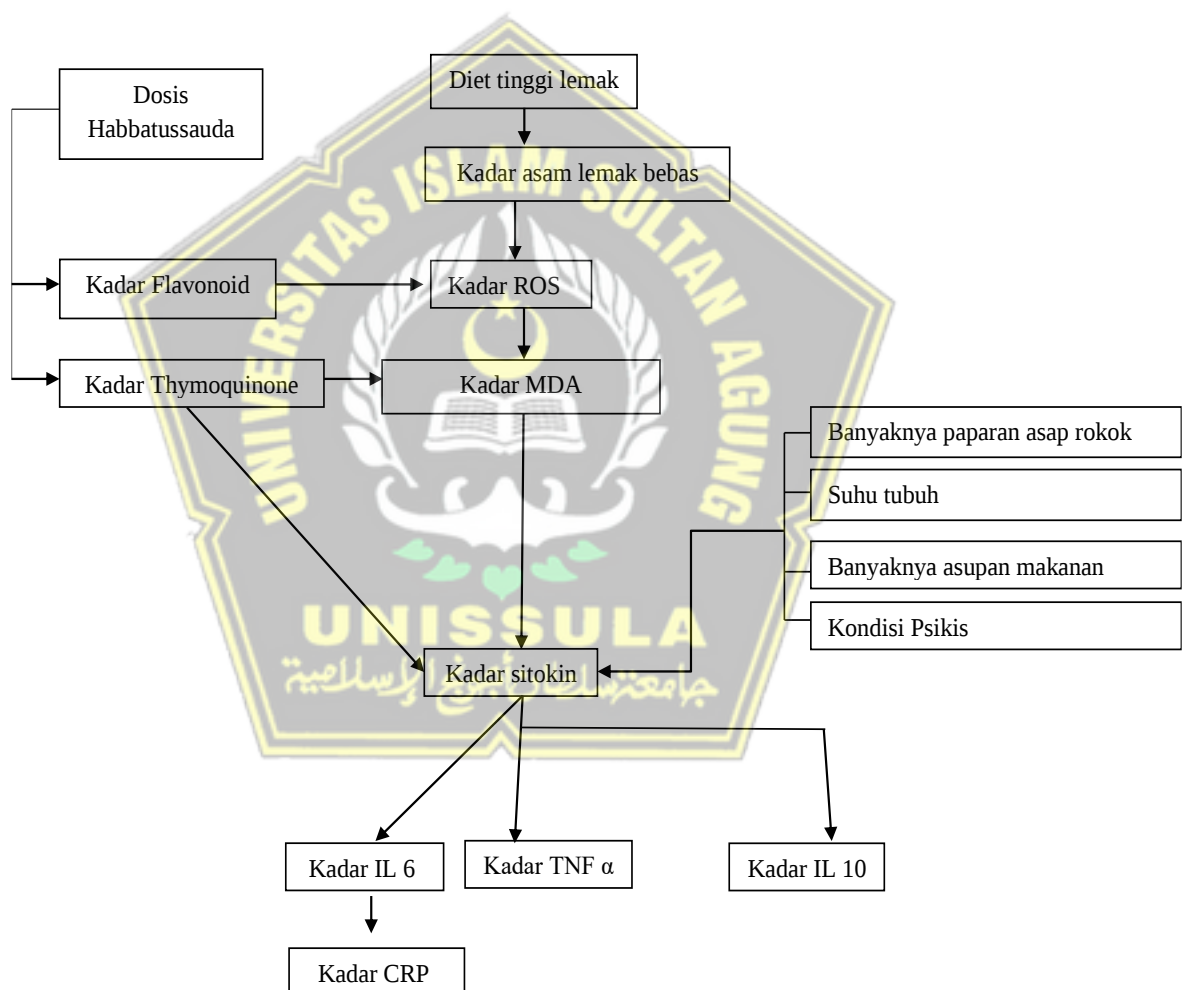
KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS

Konsumsi diet tinggi lemak pada hewan coba akan menimbulkan perubahan profil lipid yang menyerupai kondisi dislipidemia. Kondisi ini dapat mengakibatkan kerusakan atau disfungsi endotel pada dinding arteri yang disebabkan kadar kolesterol tinggi. Kerusakan jaringan akibat *Reactive Oxygen Species* (ROS) disebut *stress* oksidatif, sedangkan faktor yang dapat melindungi jaringan dari ROS disebut penguatan sel. Jaringan lain yang dapat dirugikan oleh ROS termasuk *Deoxyribo Nucleid Acid* (DNA), lipid dan protein. Radikal bebas menyebabkan peroksidasi lipid pada lapisan sel, kerusakan DNA, dan apoptosis. Radikal bebas dan senyawa asam lemak tak jenuh ganda (PUFAS) bereaksi menyebabkan kerusakan oksidatif pada senyawa lipid. Peroksidasi lipid dapat dikenali dari bahan-bahan yang dihasilkannya, antara lain malondialdehid (MDA), hidroperoksida lipid, isoprostan.⁴³

Pada kondisi dislipidemia akan terjadi pelepasan berbagai mediator inflamasi seperti *interleukin-6* (IL-6) dan *tumor necrosis factor-alpha* (TNF- α). Selanjutnya, IL-6 akan menstimulasi pelepasan CRP dari sel hepatosit. CRP dapat mempengaruhi sel endotel dengan mengubah bioavailabilitas *nitric oxide* yang menyebabkan peningkatan ICAM-1.⁴³ Kandungan flavonoid dalam habbatussauda berperan sebagai antioksidan dengan cara menekan ROS, pembentukan *nitrogen species*, serta melindungi sistem antioksidan endogen. *Thymoquinone* memiliki efek untuk menurunkan kadar kolesterol melalui regulasi gen reseptor LDL

dihati, dan menurunkan aktifitas HMG-CoA reduktase yang mengatur biosintesis kolesterol. Penggunaan habbatussauda diharapkan mampu memodulasi mediator inflamasi dalam darah yang bertindak sebagai pro inflamasi maupun anti inflamasi.

3.1. Kerangka Teori



Gambar 3.1 Kerangka Teori

3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis

Hipotesis meliputi:

- 3.3.1 Terdapat pengaruh pemberian habbatussauda terhadap kadar IL-10 dan kadar CRP pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi dengan diet tinggi lemak.

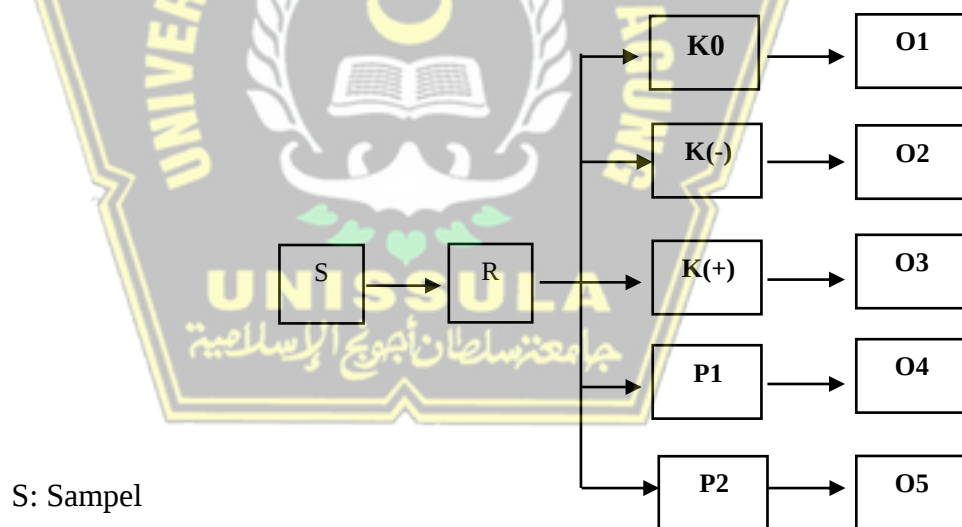


BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini eksperimental laboratorium dengan pendekatan *post test only control group design* dengan menggunakan hewan coba tikus putih jantan galur wistar yang diberikan induksi diet tinggi lemak dan habbatussauda secara bersamaan. Subjek adalah tikus jantan galur wistar bobot badan 180-220 gr. Hewan uji diukur kadar IL 10 dan kadar CRP. Rancangan terbagi atas kelompok normal, kelompok kontrol dan kelompok uji yang ditunjukkan pada gambar berikut.



S: Sampel

R: Randomisasi

O: Observasi

P: Perlakuan

Gambar 4.1 Gambar rancangan penelitian

Keterangan Gambar :

- K0 = Kelompok sehat tanpa perlakuan dan diberikan pakan standar
- K(-) = Kelompok Kontrol negatif yang diberikan induksi diet tinggi lemak selama 4 minggu tanpa pemberian Habbatussauda
- K(+) = Kelompok kontrol positif yang diberikan induksi diet tinggi lemak selama 4 minggu dengan pemberian simvastatin 0.18 mg/200 grBB/hari selama 2 minggu
- P1 = Kelompok perlakuan diberikan induksi diet tinggi lemak selama 4 minggu dengan pemberian minyak habbatussauda 3 ml/kgBB selama 2 minggu
- P2 = Kelompok perlakuan diberikan induksi diet tinggi lemak selama 4 minggu dengan pemberian minyak habbatussauda 4 ml/kgBB selama 2 minggu
- O1 = Observasi kadar IL 10 dan kadar CRP kelompok sehat tanpa perlakuan.
- O2 = Observasi kadar IL 10 dan kadar CRP kelompok kontrol negatif yang diberikan induksi diet tinggi lemak selama 4 minggu tanpa pemberian minyak habbatussauda
- O3 = Observasi kadar IL 10 dan kadar CRP kelompok kontrol yang diberikan induksi diet tinggi lemak selama 4 minggu dengan pemberian simvastatin 0.18 mg/200 grBB/hari selama 2 minggu

O4 = Observasi IL 10 dan CRP kelompok perlakuan yang diberikan induksi diet tinggi lemak selama 4 minggu dengan pemberian minyak habbatussauda 3 ml/kgBB selama 2 minggu

O5 = Observasi IL 10 dan CRP kelompok perlakuan yang diberikan induksi diet tinggi lemak selama 4 minggu dengan pemberian minyak habbatussauda 4 ml/kgBB selama 2 minggu

4.2. Varibel dan Definisi Operasional

4.2.1. Varibel Penelitian

4.2.1.1. Variabel Bebas

Variabel bebas adalah pemberian Habbatussauda

4.2.1.2. Variabel Tergantung

Variabel tergantung adalah kadar IL 10, kadar CRP

4.2.1.3. Variabel Prakondisi

Diet tinggi lemak

4.2.2. Definisi Operasional

4.2.2.1. Habbatussauda

Habbatussauda yang digunakan adalah minyak Habbatussauda dalam bentuk kapsul yang didapat dari PT. Habbasyi Niaga Utama Depok, Indonesia, minyak habbatussauda diberikan selama 14 hari setelah pemberian pakan diet tinggi lemak. Habbatussauda diberikan secara oral menggunakan sonde dengan dosis 3 ml/KgBB dan 4 ml/KgBB.

Unit : ml

Skala : Ordinal

4.2.2.2. Kadar IL-10

Banyaknya Interleukin 10 yang terdapat dalam darah yang dinyatakan dalam satuan ng/L, diperiksa pada minggu kelima menggunakan metode *ELISA* di PAU UGM oleh analis laboratorium.

Unit : ng/L

Skala : Rasio

4.2.2.3. Kadar CRP

Banyaknya CRP dalam darah hewan coba yang dinyatakan dalam satuan ng/L, diperiksa pada minggu kelima menggunakan metode *ELISA* di PAU UGM oleh analis laboratorium.

Unit : ng/L

Skala : Rasio

4.2.2.4. Diit Tinggi Lemak

Diit tinggi lemak pada penelitian ini diperoleh dengan memberikan pakan tinggi lemak yang terdiri atas 2% kolesterol, 9 gr lemak jenuh berupa otak sapi yang dicampurkan dalam pakan tikus serta dibuat pellet dan diberikan selama empat minggu.

Unit : gr

Skala : Rasio

4.3. Subyek Penelitian dan Sampel Penelitian

4.3.1. Subyek Penelitian

Subjek pada penelitian ini adalah tikus jantan galur Wistar yang layak digunakan untuk penelitian yang dikembangkan dan dipelihara secara intensif di Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM Yogyakarta .

4.3.2. Sampel Penelitian

4.3.2.1. Kriteria Inklusi

1. Usia tikus 8 minggu dengan Bobot 180- 220 gram
2. Gerak aktif
3. Kondisi fisik sehat dan tidak terdapat cacat morfologi yang tampak
4. Belum pernah digunakan untuk penelitian sebelumnya

4.3.2.2. Kriteria Eksklusi

1. Tikus yang tidak mengalami dislipidemia yang dilihat dari pemeriksaan profil lipid

4.3.2.3. Kriteria Drop Out

Tikus sakit atau mati selama berlangsungnya penelitian.

4.3.3. Cara Pengambilan Sampel Penelitian

Sampel didapatkan melalui *Randomized Sampling*, yang kemudian akan dilakukan adaptasi selama 7 hari. Sebanyak 25 ekor tikus jantan galur wistar yang sesuai dengan kriteria inklusi penelitian dibagi menjadi 5 kelompok secara acak meliputi, kelompok tikus sehat, kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol

positif, kelompok P1 dan kelompok P2. Kelompok tikus sehat tidak diberikan perlakuan sama sekali, hal ini berguna sebagai pembanding antara tikus yang sakit dan sehat. Pada kelompok kontrol negatif, tikus diinduksi dengan diet tinggi lemak. Pada kelompok kontrol positif, tikus diinduksi dengan diet tinggi lemak dan diberikan simvastatin 0.18 mg/200 grBB/hari, sedangkan pada kedua kelompok perlakuan diberi minyak habbatussauda secara oral dengan dosis 3 ml /kgbb, 4 ml/kgbb

4.3.4. Besar Sampel

Jumlah sampel didapat berdasar besar sampel eksperimental dari Federer berupa:

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

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$N \geq 5$$

Keterangan :

t : Banyaknya perlakuan

n : Banyaknya sampel setiap perlakuan

Sehingga jumlah sampel minimal yang digunakan sebanyak 5 ekor per kelompok, diambil secara acak, dipisahkan menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok tikus sehat (tanpa perlakuan), kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan 2 kelompok perlakuan.

4.4. Alat dan Bahan

4.4.1. Alat penelitian

1. Kandang tikus beserta tempat makan dan minum ukuran panjang 40 cm, lebar 30 cm, tinggi 30 cm
2. Botol air minum tikus
3. Tabung hematokrit
4. Sduit injeksi
5. Sonde
6. Timbangan digital
7. Masker
8. Sarung tangan steril
9. *Microplate reader*
10. Rat hs-CRP (*High Sensitive CRP*) ELISA kit
11. Rat IL 10 ELISA kit

4.4.2. Bahan penelitian

1. Tikus jantan galur wistar berjumlah 25 ekor tikus, berat badan 180- 220 g dan berumur 8 minggu
2. Pakan standar COMFEED AD II produksi PT. Japfa Comfeed Indonesia, Tbk
3. Pakan tinggi lemak yang terdiri atas 2% kolesterol, 9 gr lemak jenuh yang dicampurkan dalam pakan tikus serta dibuat pellet
4. Aquades
5. Sampel darah tikus untuk diukur kadar IL 10 dan kadar CRP

6. Minyak habbatussauda produksi PT. Habbasyi Niaga Utama
Depok, Indonesia

4.5. Cara Penelitian

4.5.1. Perolehan *Ethical Clearance*

Ethical clearance diperoleh dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang dengan nomer 226/VII/2023/Komisi Bioetik.

4.5.2. Prosedur induksi diet tinggi lemak

4.5.2.1. Pembuatan model tinggi lemak

Model tinggi lemak dibuat dengan cara memberikan pakan diet tinggi lemak yang terdiri atas 2% kolesterol, 9 gr lemak jenuh berupa otak sapi yang dicampurkan dalam pakan tikus serta dibuat pellet selama 4 minggu. Dilakukan pengukuran profil lipid berupa kadar kolesterol total, kadar LDL, kadar HDL pada minggu ketiga dan kelima penelitian.³³

4.5.2.2. Pemberian habbatussauda

Minyak habbatussauda diberikan secara oral selama 14 hari dengan dosis 3 ml /kgbb, 4 ml/kgbb.⁴⁰

4.5.2.3. Teknik pengambilan darah

Pengambilan darah dilakukan dengan cara:

1. memegang tikus dan menjepit di bagian tengkuk dengan jari tangan setelah dikondisikan senyaman mungkin.

2. mikrohematokrit ditusukkan pada *medial canthus* mata di bawah bola mata ke arah *foramen opticus*.
3. Mikrohematokrit diputar sampai melukai plexus, dan darah ditampung.

4.5.2.4. Pengukuran Kadar IL-10

Pengukuran kadar atau konsentrasi Interleukin dapat dilakukan dengan uji ELISA.

1. Sampel darah vena diambil melalui spuit steril 3 mL dan dimasukkan dalam venoject plain ukuran 5 mL.
2. Dilakukan pemusing/sentrifuse pada 3000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan serum dari endapan/ pellet dalam 30 menit sesudah pengambilan.
3. Dilakukan pemeriksaan dengan teknik ELISA dan dibaca dengan ELISA reader.
4. Preparasi sampel untuk pemeriksaan CRP dengan menggunakan teknik ELISA hampir sama untuk semua jenis alat ELISA, hanya saja prosedur pengerjaannya berbeda sesuai dengan kit reagen yang digunakan.⁶⁸

4.5.2.5. Alur Kerja

- a. Menyiapkan 25 ekor tikus jantan galur wistar yang berusia 8 minggu dengan berat badan 180-220 gram. Dilakukan penimbangan untuk mengetahui berat badan tikus.
- b. Adaptasi dilakukan selama 7 hari. Tikus diberi makan pelet merk AD II produksi PT. Japfa Comfeed Indonesia, Tbk, dan

diberi minum aquadest. Makanan dan minuman diberikan secara *ad libitum*.

- c. Pada hari 6, ke 25 ekor tikus tersebut kemudian dirandomisasi dengan cara diberi nomor dan diundi, dibagi dalam 5 kelompok K(0), K(-), K (+), PI, P2

K0 = Kelompok normal berupa pemberian pakan dan minum standard dari awal hingga akhir penelitian (selama 5 minggu).

K(-) = Kelompok kontrol negatif berupa pemberian diet tinggi lemak selama 4 minggu.

K(+) = Kelompok kontrol positif diberikan induksi diet tinggi lemak selama 4 minggu dengan pemberian simvastatin 0.18 mg/200 grBB/hari selama 2 minggu.

PI = Kelompok perlakuan diberikan induksi diet tinggi lemak selama 4 minggu dengan pemberian minyak habbatussauda 3 ml/kgBB selama 2 minggu.

P2 = Kelompok perlakuan diberikan induksi diet tinggi lemak selama 4 minggu dengan pemberian minyak habbatussauda 3 ml/kgBB selama 2 minggu.

- d. Disiapkan timbangan digital untuk menimbang makanan tikus
- e. Perlakuan sesuai kelompok dilakukan selama 4 minggu

- f. Pada minggu ketiga dan kelima penelitian, dilakukan penilaian profil lipid berupa kadar kolestrol total, kadar trigliserid, kadar HDL, dan kadar LDL.

Setelah 7 hari adaptasi dan 4 minggu perlakuan maka, pada minggu ke 5 setelah perlakuan dilakukan pengambilan darah dengan cara sebanyak 3 mL sampel darah subjek penelitian diambil pada minggu kelima dari vena orbital menggunakan tabung hematokrit tanpa pembiusan. Sampel darah dimasukkan ke dalam vacutainer EDTA dan didiamkan selama 10 menit kemudian disentrifus. Plasma darah diambil secara hati-hati menggunakan mikropipet, kemudian dimasukkan ke dalam tabung vial 1,5 mL hingga proses analisis dilakukan.

4.6. Tempat dan Waktu Penelitian

4.6.1. Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di PAU Universitas Gajah Mada Yogyakarta, dan Fakultas Kedokteran UNISSULA

4.6.2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juli- Agustus 2023.

4.7. Analisis Data

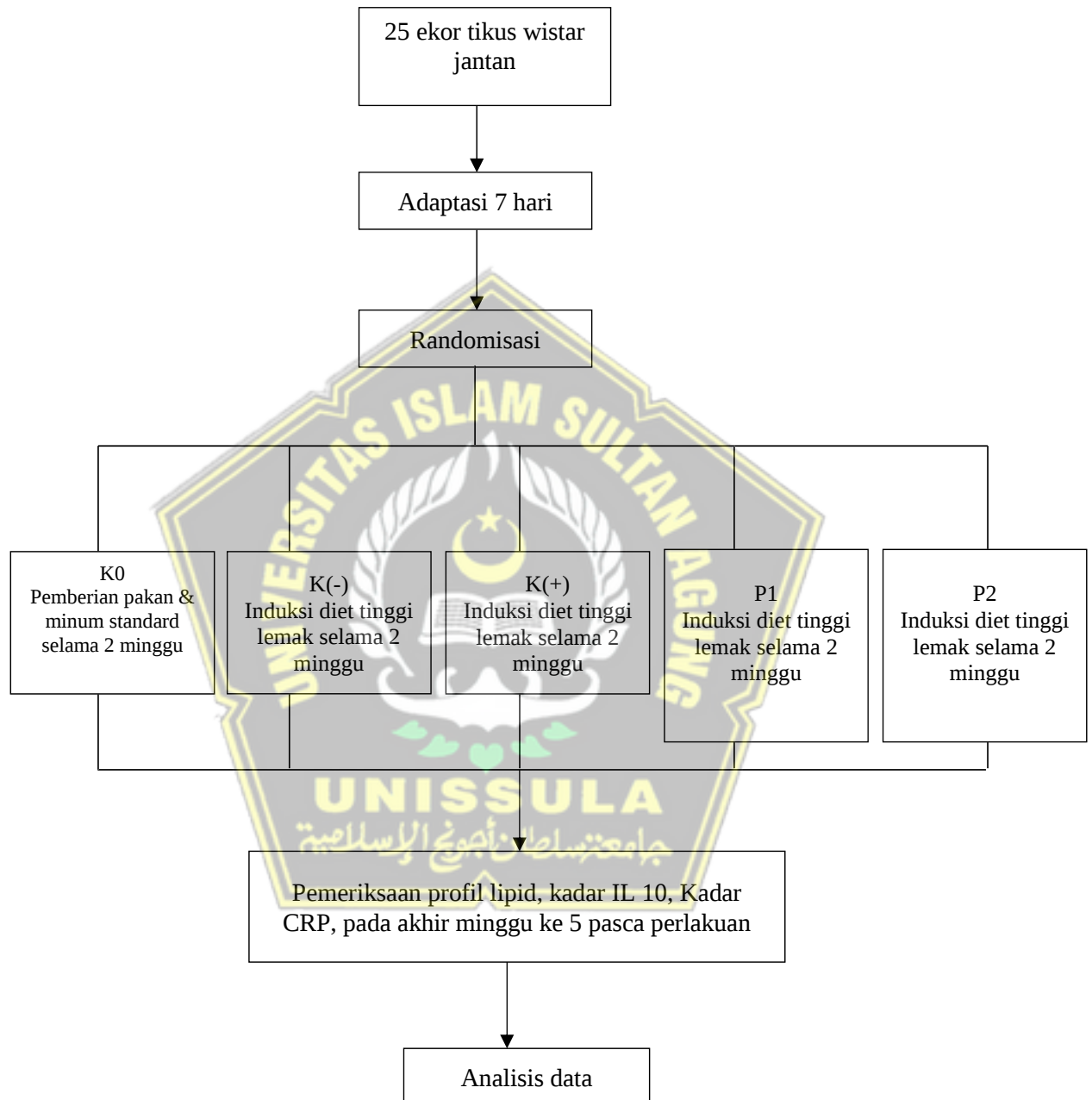
Analisis melalui uji deskriptif, uji normalitas, dan uji homogenitas.

Data normal dan homogen ($P > 0,05$), maka dilakukan uji beda menggunakan

uji *One Way Anova*, hasil uji didapatkan hasil $P < 0.05$ dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* LSD.



4.8. Alur Penelitian



Gambar 4.2 Alur Penelitian

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

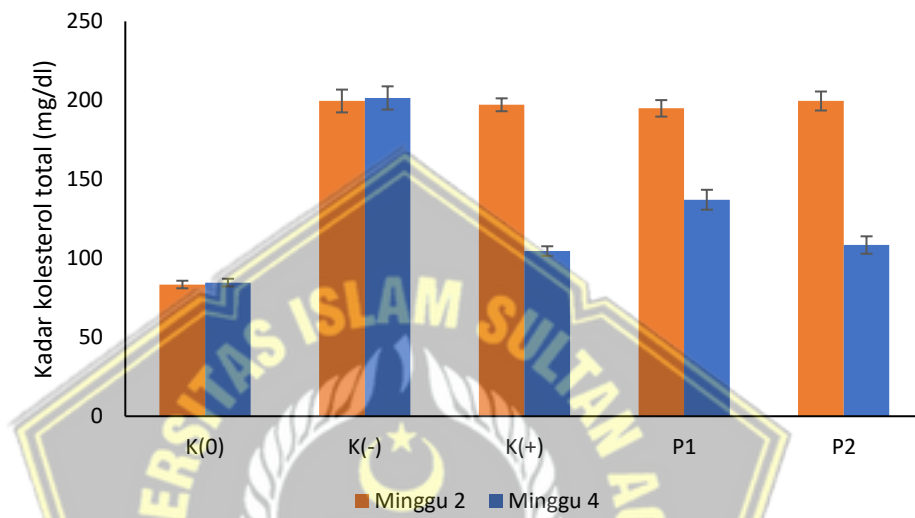
Penelitian mengenai pengaruh habbatussauda terhadap kadar IL-10 dan kadar CRP ini telah dilakukan di PAU UGM Yogyakarta dan Fakultas Kedokteran Unissula Semarang pada 10 Juli hingga 15 Agustus 2023. Subjek penelitian adalah 25 tikus putih jantan galur Wistar yang dibagi 5 (lima) kelompok secara random meliputi: satu kelompok untuk tikus sehat dengan perlakuan standar K(0), dan empat kelompok lainnya terdiri atas K(), (K+), P1 serta P2 yang diinduksi diet tinggi lemak melalui pemberian pakan tikus dicampur dengan 2% kolesterol dan 9 gr lemak jenuh yang dibuat bentuk pellet selama 4 (empat) minggu.

Selama 14 hari terakhir induksi diet tinggi lemak, tikus di K(+) diberikan simvastatin 1,8 mg/hari, sedangkan P1 dan P2 masing-masing diberikan minyak habbatussauda dosis 3 ml/kgbb dan 4 ml/kgbb. Minggu kelima pasca perlakuan dilakukan pemeriksaan kadar IL-10 dan kadar CRP menggunakan metode ELISA dari sampel darah yang diambil dari vena orbital. Induksi diet tinggi lemak dimaksudkan untuk membuat model dislipidemia, yang dikonfirmasi dengan pemeriksaan profil lipid di minggu kedua pasca induksi serta di akhir penelitian. Pemantauan berat badan (BB) dilakukan tiap minggu selama penelitian berlangsung. Rangkaian hasil penelitian-penelitian ini berikutnya disajikan sebagai berikut:

5.1.1. Profil Lipid

Profil lipid tikus antar kelompok di minggu kedua pasca induksi diet tinggi lemak dan di akhir penelitian ditunjukkan sebagai berikut:

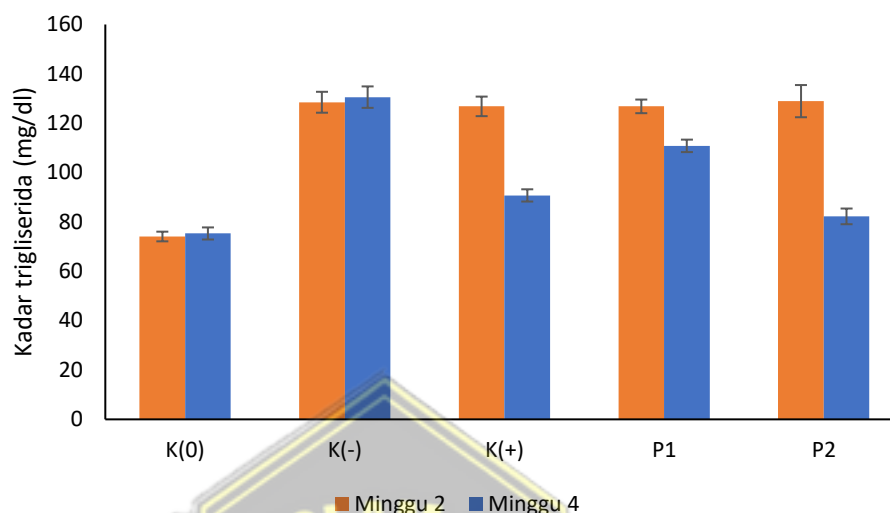
1. Kadar Kolesterol Total



Gambar 5.1. Diagram Batang rerata kadar kolesterol total antar kelompok 2 minggu pasca induksi diet tinggi lemak dan 4 minggu pasca induksi diet tinggi lemak + perlakuan

Gambar 5.1 memperlihatkan bahwa induksi diet tinggi lemak selama 2 minggu dapat meningkatkan kadar kolesterol total, tampak dari kadar kolesterol total di kelompok K(-), K(+), P1 dan P2 yang lebih tinggi daripada K(0). Dua minggu berikutnya setelah induksi diet tinggi lemak disertai dengan berbagai perlakuan tampak terjadi penurunan kadar kolesterol total pada kelompok K(+), P1 dan P2.

2. Kadar Trigliserida

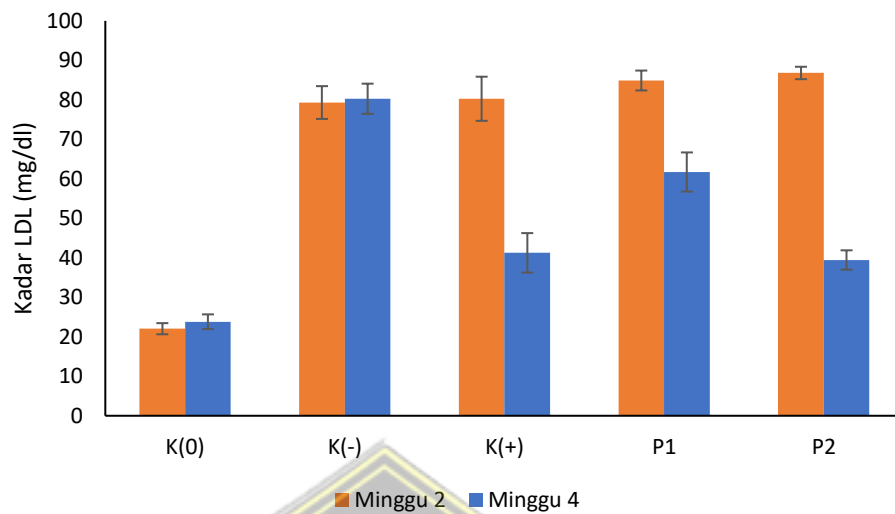


Gambar 5.2. Diagram Batang kadar trigliserida antar kelompok 2 minggu pasca induksi diet tinggi lemak dan 4 minggu pasca induksi diet tinggi lemak + perlakuan

Induksi diet tinggi lemak selama 2 minggu juga dapat meningkatkan kadar trigliserida, tampak pada Gambar 5.2 bahwa kadar trigliserida kelompok K(-), K(+), P1 dan P2 lebih tinggi daripada K(0). Dua minggu berikutnya setelah induksi diet tinggi lemak disertai dengan berbagai perlakuan tampak kadar trigliserida pada kelompok K(+), P1 dan P2 tampak lebih rendah daripada di K(-).

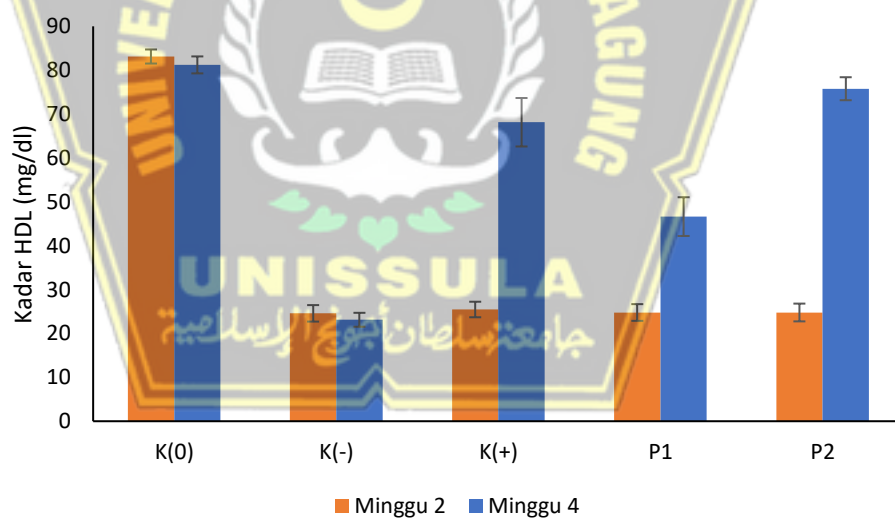
3. Kadar LDL

Induksi diet tinggi lemak selama 2 minggu juga dapat meningkatkan kadar LDL, tampak pada Gambar 5.3 bahwa kadar LDL kelompok K(-), K(+), P1 dan P2 lebih tinggi daripada K(0). Dua minggu berikutnya setelah induksi diet tinggi lemak disertai dengan berbagai perlakuan kadar LDL pada kelompok K(+), P1 dan P2 tampak lebih rendah daripada di K(-).



Gambar 5.3. Diagram Batang kadar LDL antar kelompok 2 minggu pasca induksi diet tinggi lemak dan 4 minggu pasca induksi diet tinggi lemak + perlakuan

4. Kadar HDL



Gambar 5.4. Diagram Batang kadar HDL antar kelompok 2 minggu pasca induksi diet tinggi lemak dan 4 minggu pasca induksi diet tinggi lemak + perlakuan

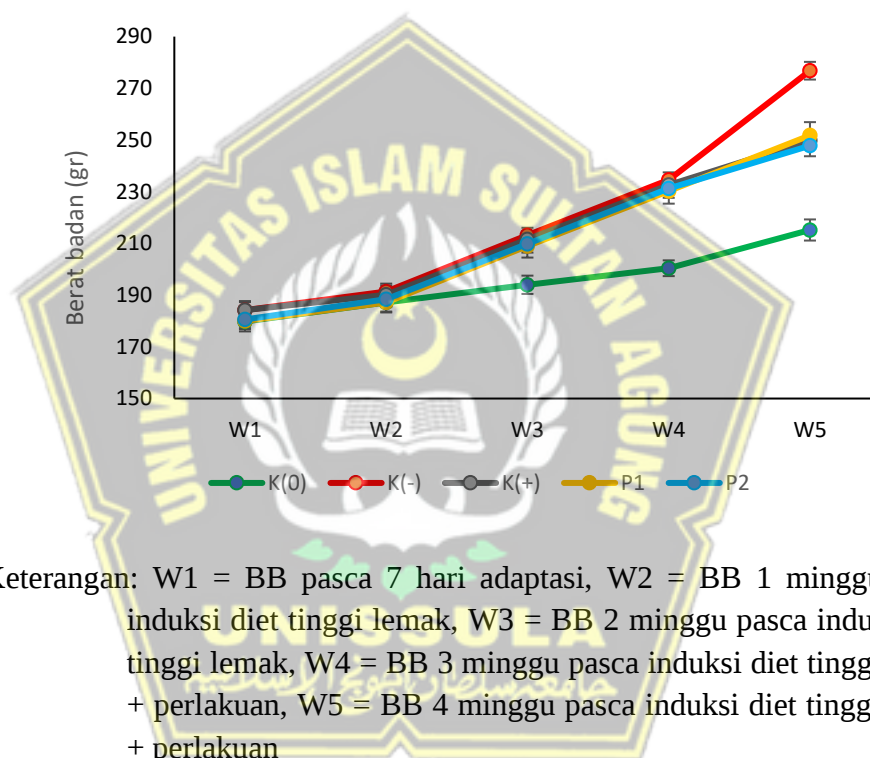
Induksi diet tinggi lemak selama 2 minggu berakibat pada penurunan kadar HDL, tampak pada Gambar 5.4 bahwa kadar HDL kelompok K(-), K(+), P1 dan P2 lebih rendah daripada K(0). Dua

minggu berikutnya setelah induksi diet tinggi lemak disertai dengan berbagai perlakuan kadar HDL pada kelompok K(+), P1 dan P2 tampak meningkat yaitu lebih tinggi daripada di K(-).

5.1.2. Berat Badan

Hasil pemantauan BB tikus selama pelaksanaan penelitian ditunjukkan

Gambar 5.5 berikut:



Gambar 5.5. Diagram Batang berat badan tikus antar kelompok selama 5 (lima) minggu

Gambar 5.5 memperlihatkan bahwa peningkatan rerata BB tikus mulai di minggu kedua (W2) hingga minggu kelima (W5) untuk tiap kelompoknya. Peningkatan BB pada K(0) merupakan yang terendah pada tiap minggunya, pada kelompok (K-) mengalami peningkatan BB yang relatif serupa dengan K(+), P1 dan P2 hingga minggu keempat (W4). Pada

minggu kelima rerata BB di K(-) meningkat paling tinggi, sedangkan pada K(+), P1 dan P2 peningkatannya relatif serupa dan lebih rendah daripada di K(-). Pada tikus yang diinduksi diet tinggi lemak tampak mengalami obesitas karena rerata BB mencapai > 220 gram.

Adapun untuk hasil pengukuran kadar IL-10 dan kadar CRP pada tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi diet tinggi lemak disajikan sebagai berikut:

5.1.1. Kadar IL-10

Gambaran rerata kadar IL-10 pada tiap kelompok beserta hasil analisis normalitas sebaran data, homogenitas varian, dan uji beda rerata kadar antar kelompok ditunjukkan:

Tabel 5.1. Hasil analisis rerata, uji normalitas, uji homogenitas dan uji beda kadar IL-10 antar kelompok

Kadar IL-10 (pg/mL)	Kelompok					<i>p</i> - <i>value</i>
	K(0)	K(-)	K(+)	P1	P2	
Rerata±SD	111,41±4,40	31,52±2,45	82,45±3,53	60,31±2,44	89,61±4,07	
<i>Shapiro Wilk</i> *	0,118	0,740	0,995	0,823	0,900	
<i>Levene test</i>						0,791
<i>One way anova</i>						<0,001

Keterangan: * = *p*-value

Hasil penelitian mendapatkan bahwa kadar IL-10 tertinggi pada kelompok K(0) sebesar 111,41 ± 4,40 pg/mL dan terendah pada K(-) sebesar 31,52 ± 2,45 pg/mL. Uji *Shapiro Wilk* terhadap kadar IL-10 pada kelima kelompok mendapatkan nilai *p* > 0,05 yang berarti data kadar IL-10 normal.

Kadar IL-10 pada kelima pengukuran juga homogen, ditunjukkan dengan nilai p dari *Levene test* sebesar 0,791 atau $p > 0,05$. Syarat sebaran data normal dan homogenitas varian terpenuhi sehingga perbandingan rerata kadar IL-10 antar kelima kelompok dianalisis dengan uji *one way anova* dan didapatkan nilai $p < 0,001$ sehingga dinyatakan terdapat perbedaan rerata kadar IL-10 yang signifikan antara kelompok K(0), K(-), K(+), P1 dan P2. Perbedaan rerata kadar IL-10 yang signifikan antar lima kelompok dianalisis lebih lanjut dengan uji *post hoc LSD* dan diperoleh hasil sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2. Hasil Analisis Uji Post Hoc LSD pada Kadar IL 10

Perbandingan kelompok	p
K(0) vs K(-)	<0,001
K(0) vs K(+)	<0,001
K(0) vs P1	<0,001
K(0) vs P2	<0,001
K(-) vs K(+)	<0,001
K(-) vs P1	<0,001
K(-) vs P2	<0,001
K(+) vs P1	<0,001
K(+) vs P2	<0,001
P1 vs P2	0,004

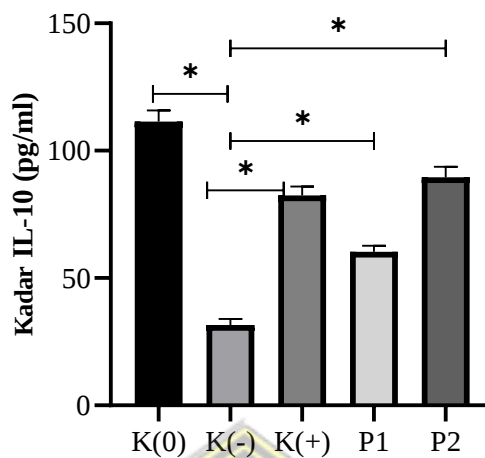
* = berbeda signifikan ($p < 0,05$)

Perbandingan rerata kadar IL-10 antar dua kelompok semuanya signifikan, ditunjukkan dengan nilai p dari uji *post hoc LSD* masing-masing dibawah 0,05 ($p < 0,05$). Hasil uji *post hoc LSD* ini menunjukkan perlakuan yang diberikan berpengaruh signifikan terhadap kadar IL-10. Kadar IL-10 pada K(-) yang signifikan lebih rendah daripada K(0) menunjukkan induksi diet tinggi lemak berpengaruh menurunkan kadar IL-10. Kadar IL-10 pada

K(+), P1 dan P2 yang secara signifikan lebih tinggi daripada di K(-) menunjukkan pemberian simvastatin, dan minyak habbatussauda dosis 3 ml/kgbb dan 4 ml/kgbb berpengaruh meningkatkan kadar IL-10 pada tikus yang diinduksi diet tinggi lemak.

Kadar IL-10 pada kelompok P1 dan P2 yang signifikan lebih rendah daripada K(+) menunjukkan pemberian simvastatin lebih efektif dalam meningkatkan kadar IL-10 pada tikus yang diinduksi diet tinggi lemak daripada minyak habbatussauda dosis 3 ml/kgbb dan 4 ml/kgbb. Kadar IL-10 di P1 yang signifikan lebih rendah daripada P2 menunjukkan pemberian minyak habbatussauda dosis 4 ml/kgbb lebih efektif dalam meningkatkan kadar IL-10 pada tikus yang diinduksi diet tinggi lemak daripada dosis 3 ml/kgbb. Kadar IL-10 pada K(+), P1 dan P2 lebih rendah daripada K(0) secara signifikan, hal ini menunjukkan bahwa pemberian simvastatin ataupun minyak habbatussauda 3 ml/kgbb dan 4 ml/kgbb belum berpengaruh secara optimal.

Perbandingan kadar IL-10 antar dua kelompok juga dapat dilihat pada Gambar 5.6.



Gambar 5.6. Diagram Batang rerata kadar IL-10 antar kelompok

5.1.2. Kadar CRP

Gambaran rerata kadar CRP pada tiap kelompok beserta hasil analisis normalitas sebaran data, homogenitas varian, dan uji beda rerata antar kelompok ditunjukkan pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3. Hasil analisis rerata, uji normalitas, uji homogenitas dan uji beda kadar CRP antar kelompok

Kadar CRP (pg/mL)	Kelompok					p-value
	K(0)	K(-)	K(+)	P1	P2	
Rerata±S	0,74±0,0	2,28±0,0	0,83±0,0	1,08±0,0	0,85±0,0	
D	2	1	1	1	3	
Shapiro Wilk*	0,611	0,493	0,634	0,313	0,958	
Levene test						0,05
One way anova						2
						<0,001

Keterangan: * = p-value

Hasil penelitian mendapatkan bahwa kadar CRP tertinggi pada kelompok K(-) yaitu sebesar $2,28 \pm 0,01$ ng/mL dan terendah pada K(0) yaitu sebesar $0,74 \pm 0,02$ ng/mL. Pada uji *Shapiro Wilk* terhadap kadar CRP

pada kelima kelompok mendapatkan nilai $p > 0,05$ yang berarti data kadar CRP normal. Kadar CRP pada kelima pengukuran juga homogen, ditunjukkan dengan nilai p dari *Levene test* sebesar 0,052 atau $p > 0,05$. Syarat sebaran data normal dan homogenitas varian terpenuhi sehingga perbandingan rerata kadar CRP antar kelima kelompok dianalisis dengan uji *one way anova* dan didapatkan nilai $p < 0,001$ sehingga dinyatakan terdapat perbedaan rerata kadar CRP yang signifikan antara kelompok K(0), K(-), K(+), P1 dan P2.

Perbedaan rerata kadar CRP yang signifikan antar lima kelompok dianalisis lebih lanjut dengan uji *post hoc LSD* dan diperoleh hasil sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 5.4 ataupun Gambar 5.7.

Tabel 5.4. Hasil analisis perbandingan rerata kadar CRP antar dua kelompok

Perbandingan kelompok	p
K(0) vs K(-)	<0,001
K(0) vs K(+)	<0,001
K(0) vs P1	<0,001
K(0) vs P2	<0,001
K(-) vs K(+)	<0,001
K(-) vs P1	<0,001
K(-) vs P2	<0,001
K(+) vs P1	<0,001
K(+) vs P2	0,071
P1 vs P2	<0,001

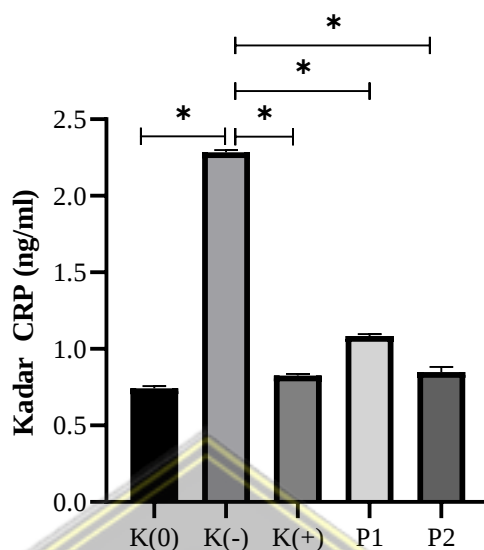
* = berbeda signifikan ($p < 0,05$)

Perbandingan rerata kadar CRP antar dua kelompok hampir semuanya signifikan, ditunjukkan dengan nilai p dari uji *post hoc LSD* masing-masing dibawah 0,05 ($p < 0,05$) kecuali perbandingan antara K(+) dan P2 dengan nilai p sebesar 0,071 ($p > 0,05$). Hasil uji *post hoc LSD* ini

menunjukkan perlakuan yang diberikan berpengaruh terhadap kadar CRP secara signifikan. Kadar CRP pada K(-) lebih tinggi daripada K(0) secara signifikan menunjukkan bahwa induksi diet tinggi lemak berpengaruh meningkatkan kadar CRP. Kadar CRP pada K(+), P1 dan P2 yang lebih rendah daripada di K(-) secara signifikan menunjukkan bahwa pemberian simvastatin, dan minyak habbatussauda dosis 3 ml/kgbb dan 4 ml/kgbb berpengaruh menurunkan kadar CRP pada tikus yang diinduksi diet tinggi lemak.

Kadar CRP di P1 yang signifikan lebih tinggi daripada K(+) menunjukkan pemberian simvastatin lebih efektif dalam menurunkan kadar CRP pada tikus yang diinduksi diet tinggi lemak daripada minyak habbatussauda dosis 3 ml/kgbb. Kadar CRP di P1 yang signifikan lebih tinggi daripada P2 juga menunjukkan pemberian minyak habbatussauda dosis 4 ml/kgbb lebih efektif dalam menurunkan kadar CRP pada tikus yang diinduksi diet tinggi lemak daripada dosis 3 ml/kgbb. Sedangkan kadar CRP di P2 yang tidak berbeda signifikan dengan K(+) menunjukkan pemberian minyak habbatussauda dosis 4 ml/kgbb memiliki efektifitas yang serupa dengan simvastatin dalam menurunkan kadar CRP pada tikus yang diinduksi diet tinggi lemak.

Kadar CRP di K(+), P1 dan P2 signifikan lebih tinggi daripada di K(0) menunjukkan pengaruh pemberian simvastatin ataupun minyak habbatussauda 3 ml/kgbb dan 4 ml/kgbb terhadap penurunan kadar CRP pada tikus yang diinduksi diet tinggi lemak belum optimal.



Gambar 5.7. Diagram Batang rerata kadar CRP antar kelompok

Berikutnya untuk memberikan dukungan apakah berat badan dan profil lipid berpengaruh terhadap kadar IL-10 dan kadar CRP dilakukan analisis korelasi, dan diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel 5.5. Korelasi berat badan dan profil lipid dengan kadar IL-10 dan kadar CRP

	<i>p-value (r correlation)</i>	
	Kadar IL-10	Kadar CRP
Berat badan [^]	<0,001 (-0,831)	<0,001 (0,813)
Kadar kolesterol total [^]	<0,001 (-0,908)	<0,001 (0,916)
Kadar trigliserida [^]	<0,001 (-0,926)	<0,001 (0,870)
Kadar LDL*	<0,001 (0,957)	<0,001 (-0,935)
Kadar HDL [^]	<0,001 (-0,972)	<0,001 (-0,875)

* = Pearson correlation test, ^ = Spearman rank correlation test

Berdasarkan Tabel 5.5 diketahui bahwa berat badan, kadar kolesterol total, kadar trigliserida dan kadar LDL berkorelasi negatif sangat kuat terhadap kadar IL-10, sedangkan kadar HDL berkorelasi positif ($p < 0,001$). Sebaliknya berat badan, kadar kolesterol total, kadar trigliserida dan kadar LDL berkorelasi positif sangat kuat terhadap kadar CRP, sedangkan kadar

HDL berkorelasi negatif ($p < 0,001$). Nilai r korelasi yang didapat masing-masing berkisar antara 0,800-1,000 menunjukkan hubungan antara berat badan dan profil lipid dengan kadar IL-10 dan kadar CRP tergolong sangat kuat. Hasil ini dapat menunjukkan pengaruh habbatussauda terhadap kadar IL-10 dan kadar CRP juga berkaitan dengan berat badan dan profil lipid.

5.2. Pembahasan

Kadar IL-10 pada tikus yang diinduksi diet tinggi lemak selama 4 (empat) minggu menurun signifikan dibandingkan dengan kadar IL-10 tikus sehat. Penurunan kadar IL-10 terjadi karena induksi diet tinggi lemak meningkatkan berat badan tikus atau berdampak obesitas yang ditandai dengan peningkatan BB hingga > 220 gr. Hasil serupa juga ditunjukkan dalam penelitian Kondo et al. yang menyatakan bahwa obesitas terkait induksi diet tinggi lemak secara signifikan berakibat pada penurunan kadar IL-10 serum pada mencit *wild-type*.⁴⁴ Obesitas dicirikan dengan inflamasi derajat rendah pada jaringan adiposa yang terjadi karena adanya perubahan adipokin dan pelepasan berbagai sitokin. Obesitas terkait diet tinggi lemak menyebabkan penurunan diferensiasi sel T naif menjadi sel antiinflamasi Th2 yang mensekresi sitokin antiinflamasi seperti IL-10, IL-13 dan IL-4.⁴⁵ Penurunan kadar IL-10 juga berkaitan dengan berkurangnya adiponektin pada obesitas⁴⁶ karena dihambat oleh hipoksia, stres oksidatif, tingginya sekresi TNF- α dari akumulasi lemak visceral,⁴⁷ dan peningkatan massa atau ukuran jaringan adiposa.⁴⁸

Selain karena obesitas, penurunan kadar IL-10 juga terjadi karena induksi diet tinggi lemak berkontribusi pada dislipidemia yang dalam penelitian ini ditunjukkan dengan kadar kolesterol total sebesar 201,5 mg/dl; kadar trigliserida sebesar 130,56 mg/dl; kadar LDL sebesar 80,28 mg/dl, dan sebesar HDL 23,12 mg/dl. Profil lipid tersebut berbeda dengan yang ditunjukkan oleh tikus normal/sehat sebesar 84,6 mg/dl; 75,32 mg/dl; 23,81 mg/dl masing-masing untuk kadar kolesterol total, kadar trigliserida, dan kadar LDL dan kadar HDL sebesar 81,21 mg/dl. Bukti tikus mengalami dislipidemia juga ditunjukkan dalam penelitian sebelumnya yang ditunjukkan dengan kadar kolesterol tikus Wistar yang secara signifikan mencapai 95,7 mg/dl (dari normal 36,2 mg/dl); kadar HDL sebesar 6,6 mg/dl (dari normal 5,2 mg/dl), kadar LDL sebesar 83,2 mg/dl (dari normal 24,2 mg/dl), dan kadar trigliserida sebesar 10,5 mg/dl (dari normal 6,7 mg/dl).⁴⁹ Menurut penelitian Kim et al., perubahan kadar IL-10 berkorelasi negatif dengan perubahan kolesterol total dan kadar LDL. Kadar IL-10 menurun saat kadar kolesterol total dan kadar LDL meningkat.⁴⁹

Diet tinggi lemak meningkatkan kadar asam lemak bebas yang bisa secara langsung mempengaruhi sel-sel intestinal dan menyebabkan peningkatan sitokin proinflamasi dan penurunan sitokin antiinflamasi. Tingginya asam lemak bebas dapat meningkatkan regulasi ekspresi *toll like receptor* (TLR) pada sirkulasi makrofag sehingga makrofag (M1) teraktivasi, dan berikutnya M1 mensekresi TNF- α , IL-1 dan *mass cell protease-1* (MCP-1) untuk merekrut monosit ke jaringan adiposa dan

meningkatkan ratio M1 terhadap M2 sehingga menyebabkan penurunan IL-10. Disisi lain, peningkatan kadar trigliserida dan kolesterol total dapat meningkatkan peran asam lemak bebas dalam meregulasi TLR2 dan TLR4 untuk memicu aktivasi NFkB yang berakibat pada pelepasan sitokin proinflamasi dan penurunan kadar IL-10.⁵⁰

Pemberian habbatussauda dapat meningkatkan kadar IL-10 pada tikus yang diinduksi diet tinggi lemak baik pada dosis 3 ml/kgbb maupun 4 ml/kgbb. Hasil ini disebabkan karena habbatussauda kaya akan senyawa bioaktif yang dapat memperbaiki profil lipid dan menurunkan berat badan tikus. Beberapa penelitian terdahulu baik pada mencit, tikus ataupun uji klinis menunjukan habbatussauda dapat memperbaiki profil lipid berupa penurunan kadar kolesterol, kadar LDL, kadar trigliserida, VLDL, serta meningkatkan kadar HDL; dan juga dapat menurunkan berat badan, serta indeks massa tubuh (IMT).⁵¹

Interleukin-10 (IL-10) merupakan sitokin antiinflamasi yang berperan penting dalam membentuk respon imun melalui penghambatan ekspresi *major histocompatibility complex* (MHC) kelas II dan menurunkan ekspresi sitokin proinflamasi (IL-1 dan IL-6) dari makrofag.⁵² Peningkatan kadar IL-10 pada tikus dengan induksi diet tinggi lemak terjadi karena minyak habbatussauda mengandung senyawa aktif timokuinon.⁵³ Pemberian minyak habbatussauda dalam penelitian sebelumnya menunjukkan penurunan kadar kolesterol dan trigliserida serum serta kadar sitokin proinflamasi yang terdiri atas TNF- α , IL-1 β , IL-6 dan laktat dehidrogenase,⁵⁴ serta meningkatkan

kadar IL-10.⁵⁵ Penelitian pada adiposit sapi yang diinduksi lipopolisakarida (LPS) juga menunjukkan ekstrak air habbatussauda memiliki efek imunomodulator dengan cara menurunkan kadar IL-6 dan TNF- α serta meningkatkan ekspresi regulasi IL-10.⁵⁶

Timokuinon bertindak sebagai regulator proses inflamasi melalui berbagai cara antara lain melalui penghambatan siklooksigenase-2 (COX-2), NF κ B dan nitrit oksida (NO) untuk menurunkan sitokin inflamasi. Timokuinon menghambat produksi NO dengan cara menurunkan ekspresi *inducible nitric oxide synthase* (iNOS),⁵⁷ dan dari jalur NF κ B timokuinon menghambat ekspresi nuklear subunit P65 NF κ B dan pengikatan subunit P50 ke promotor TNF- α .⁵⁸ Hasil penelitian serupa penelitian lain terdahulu bahwa timokuinon memperbaiki stres oksidatif dan menurunkan respon inflamasi dengan cara mereduksi TNF- α dan meningkatkan kadar IL-10 pada tikus model *non alcoholic fatty liver disease* (NAFLD). Uji klinis pada pasien NAFLD juga dapat membuktikan bahwa pemberian biji habbatussauda 2 gr/hari dapat menurunkan TNF- α dan NF κ B.⁵⁹

Pada penelitian ini pemberian minyak habbatussauda dosis yang lebih tinggi 4 ml/kgbb memberikan efek yang lebih baik pada kadar IL-10 dibandingkan dengan dosis 3 ml/kgbb. Efektifitas minyak habbatussauda dalam meningkatkan kadar IL-10 pada tikus yang diinduksi diet tinggi lemak juga masih inferior daripada simvastatin. Efek peningkatan kadar IL-10 yang dihasilkan dari pemberian minyak habbatussauda juga belum bisa

setara dengan kondisi normal. Hasil ini dapat disebabkan karena pemberian diet tinggi lemak juga masih berlangsung.

Peningkatan kadar CRP pada tikus di kelompok K(-) dalam penelitian ini juga berkaitan dengan obesitas dan profil lipidnya. Obesitas berkaitan dengan beban metabolisme berlebihan sehingga menyebabkan infiltrasi makrofag dan peningkatan ukuran adiposa. Infiltrasi makrofag berdampak pada peningkatan sitokin inflamasi TNF- α dan IL-6 serta penurunan adiponektin sedangkan peningkatan ukuran adiposa berkontribusi pada peningkatan asam lemak bebas sehingga terjadi peningkatan kadar CRP.

C-reactive protein (CRP) merupakan protein fase akut yang disintesis oleh hepatosit dalam merespon pelepasan sitokin ke dalam sirkulasi oleh leukosit teraktivasi. Penelitian pada pasien *acute myocardial infarction* (AMI) yang umum dikaitkan dengan dislipidemia menunjukkan kadar CRP berkorelasi positif dengan kadar kolesterol total, kadar trigliserida, kadar LDL dan kadar VLDL, serta berkorelasi negatif dengan kadar HDL. Demikian pula yang ditunjukkan pada penelitian ini. Hasil ini menunjukkan gangguan metabolisme lipid terjadi secara bersamaan dengan proses inflamasi.⁶⁰ Peningkatan kadar CRP menjadi salah satu penyebab utama aterosklerosis dan penyakit jantung bersama dengan kadar VLDL, kolesterol total, LDL, trigliserida dan penurunan kadar HDL.⁶¹

Melalui pemberian habbatussauda peningkatan kadar CRP akibat induksi diet tinggi lemak dapat ditekan melalui penurunan berat badan dan perbaikan gangguan metabolisme lipid yang ditunjukkan dengan penurunan

kadar total kolesterol, kadar trigliserida, kadar LDL dan peningkatan kadar HDL. Literatur review yang dilakukan oleh Al Asoom menyatakan bahwa pemberian habbatussauda dalam jangka panjang (6-12 minggu) dapat menurunkan berat badan dan indeks antropometrik secara signifikan serta dapat meningkatkan profil lipid, menurunkan kadar glukosa dan memperbaiki resistensi insulin. Efek tersebut ditunjukkan karena kandungan asam lemak dan timokuinon dalam habbatussauda dapat memberikan efek menekan nafsu makan, menurunkan asupan kalori dan menghambat absorpsi glukosa intestinal.⁶² Penurunan berat badan akan menurunkan inflamasi sistemik derajat rendah yang ditandai dengan penurunan kadar IL-6 yang dilepaskan oleh jaringan adiposa subkutan atau viseral abdominal, sehingga stimulasi produksi protein fase akut (CRP) oleh hati ikut menurun.⁶³

Perbaikan profil lipid oleh habbatussauda berasal dari minyak atsirinya berupa nigellone, timokuinon, fitosterol, flavonoid dan senyawa lainnya yang bertindak secara sinergis menghambat sintesis kolesterol de novo, menurunkan absorpsi kolesterol intestinal, meningkatkan ekskresi kolesterol bilier ataupun fekal dan meningkatkan regulasi reseptor LDL hepatic. Uji klinis pada pasien NAFLD juga dapat membuktikan bahwa pemberian biji habbatussauda 2 gr/hari dapat menurunkan kadar CRP.⁶⁴ Sistematis review dan meta analisis dari berbagai uji acak terkontrol juga menyatakan bahwa habbatussauda dapat menurunkan kadar CRP serum secara signifikan.⁶⁵ Timokuinon menekan faktor proinflamasi IL-6 melalui penghambatan jalur AP-1/NFkB yang terkait dengan IRAK.⁶⁶ Penekanan

IL-6 menyebabkan produksi CRP menurun karena IL-6 terlibat dalam regulasi CRP.

Pemberian simvastatin juga berpengaruh signifikan terhadap penurunan kadar CRP yang terjadi dengan cara menurunkan produksi CRP langsung di hepatosit melalui penghambatan protein geranylgeranilasi dan penghambatan fosforilasi STAT3.⁶⁷

Pada penelitian ini pemberian minyak habbatusauda dosis yang lebih tinggi 4 ml/kgbb memberikan efek yang lebih baik pada kadar CRP dibandingkan dengan dosis 3 ml/kgbb, bahkan efeknya serupa dengan simvastatin hanya saja efek yang diperoleh belum bisa setara dengan kondisi normal. Hasil ini juga disebabkan karena pengobatan dislipidemia tidak disertai dengan penghentian pemberian diet tinggi lemak, serta durasi pemberian yang kurang lama.

5.3. Keterbatasan Penelitian

Peneliti melakukan pengukuran kadar Interleukin 10 dan kadar CRP bersamaan dengan induksi tinggi lemak, sehingga durasi waktu perlakuan kurang maksimal.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Kesimpulan menunjukan:

1. Terdapat pengaruh habbatussauda terhadap kadar IL-10 dan kadar CRP pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi diet tinggi lemak.
2. Rerata kadar IL-10 pada K(0) sebesar $111,41 \pm 4,40$ pg/ml; pada K(-) sebesar $31,52 \pm 2,45$ pg/ml; pada K(+) sebesar $82,45 \pm 3,53$ pg/ml; pada P1 sebesar $60,31 \pm 2,44$ pg/ml; dan pada P2 sebesar $89,61 \pm 4,07$ pg/ml. Sedangkan rerata kadar CRP pada K(0) sebesar $0,74 \pm 0,02$ ng/ml; pada K(-) sebesar $2,28 \pm 0,01$ ng/ml; pada K(+) sebesar $0,83 \pm 0,01$ ng/ml; pada P1 sebesar $1,08 \pm 0,01$ ng/ml; dan pada P2 sebesar $0,85 \pm 0,03$ ng/ml.
3. Perbedaan rerata kadar IL-10 signifikan antar kelompok, sedangkan perbedaan rerata kadar CRP signifikan antar kelompok, kecuali pada K(+) dengan P2.

6.2. Saran

Saran yang peneliti ajukan untuk mendatang yaitu:

1. Meneliti pengaruh habbatussauda terhadap kadar IL-10 dan kadar CRP dalam durasi waktu yang lebih lama.

DAFTAR PUSTAKA

1. Rahmawati ND, Dewi Sartika RA. Analisis Faktor-Faktor Risiko Kejadian Dislipidemia pada Karyawan Pria Head Office PT.X, Cakung, Jakarta Timur. *Nutr Diaita*. 2020;12(01):1-9. doi:10.47007/nut.v12i01.3014
2. Kim SW, Kang HJ, Jhon M, et al. Statins and inflammation: New therapeutic opportunities in psychiatry. *Front Psychiatry*. 2019;10(MAR). doi:10.3389/fpsy.2019.00103
3. Chandra KS, Bansal M, Nair T, et al. Consensus statement on management of dyslipidemia in Indian subjects. *Indian Heart J*. 2014;66(S3):S1-S51. doi:10.1016/j.ihj.2014.12.001
4. Budiarto AA, Wibowo AP, Putri SA, Shabrina NN, Ngestiningsih D, Tjahjono K. Pengaruh Pemberian Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.) dan Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) terhadap Profil Lipid Tikus Sprague Dawley Dislipidemia. *Maj Kedokt Bandung*. 2017;49(1):8-14. doi:10.15395/mkb.v49n1.982
5. Hedayatnia M, Asadi Z, Zare-Feyzabadi R, et al. Dyslipidemia and cardiovascular disease risk among the MASHAD study population. *Lipids Health Dis*. 2020;19(1):1-11. doi:10.1186/s12944-020-01204-y
6. Yousuf O, Mohanty BD, Martin SS, et al. High-sensitivity C-reactive protein and cardiovascular disease: A resolute belief or an elusive link? *J Am Coll Cardiol*. 2013;62(5):397-408. doi:10.1016/j.jacc.2013.05.016
7. Kim K Il, Oh SW, Ahn S, et al. CRP level and HDL cholesterol concentration jointly predict mortality in a Korean population. *Am J Med*. 2012;125(8). doi:10.1016/j.amjmed.2012.02.013
8. Rakhmawatie MD, Muhammad Adzanta Al Afghani, Nurkomariah Zulhijjah, Andra Novitasari, Arief Tajally Adhiatma. Effect of essential oil of black cumin (*Nigella sativa*) on hematological profiles and total cholesterol levels of Wistar rats exposed by cigarette smoke. *Indones J Pharmacol Ther*. 2020;1(1):7-14. doi:10.22146/ijpther.495
9. Gomina M, Dabrigui B, Salifou T, et al. Effect of daily consumption of *Nigella sativa* seed on serum lipids in adult subjects. *Int J Adv Biochem Res*. 2021;5(2):24-28. doi:10.33545/26174693.2021.v5.i2a.71
10. Susilowati R, Ainuzzakki V, Nadif MR, Diana AR. The efficacy of *Nigella Sativa* L extracts to reduce cardiovascular disease risk in diabetic dyslipidemia. *AIP Conf Proc*. 2019;2120(July). doi:10.1063/1.5115737

11. Ikhsan M, Hiedayati N, Maeyama K, Nurwidya F. *Nigella sativa* as an anti-inflammatory agent in asthma. *BMC Res Notes*. 2018;11(1):1-5. doi:10.1186/s13104-018-3858-8
12. Hadi V, Kheirouri S, Alizadeh M, Khabbazi A, Hosseini H. Effects of *Nigella sativa* oil extract on inflammatory cytokine response and oxidative stress status in patients with rheumatoid arthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Avicenna J phytomedicine*. 2016;6(1):34-43. doi:10.22038/ajp.2016.3910
13. Bordoni L, Fedeli D, Nasuti C, et al. Antioxidant and anti-inflammatory properties of *nigella sativa* oil in human pre-adipocytes. *Antioxidants*. 2019;8(2):1-12. doi:10.3390/antiox8020051
14. Ahmad F, Ali F, Amir S, et al. Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID- 19 . The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect , the company ' s public news and information . 2020;(January).
15. Bashir MU, Qureshi HJ, Mumtaz U. " Effect of *Nigella Sativa* Seeds Extract on Serum C-Reactive Protein in Albino Rats ". 2014;20(1):35-39.
16. Sproston NR, Ashworth JJ. Role of C-reactive protein at sites of inflammation and infection. *Front Immunol*. 2018 ; 9 (APR) : 1-11. doi: 10.3389/fimmu.2018.00754,
17. Noviyanti K, Setiawan L EK. Hubungan profil lipid dan C-reactive protein (CRP) dengan derajat stenosis koroner pada penyakit jantung koroner stabil. *Intisari Sains Medis*. 2019 ; 10(1):165-168. doi:10.15562/ism.v10i1.332
18. Tavakoly R, Arab A, Vallianou N, et al. The effect of *Nigella sativa* L. supplementation on serum C-reactive protein: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Complement Ther Med*. 2019;45(May):149-155. doi:10.1016/j.ctim.2019.06.008
19. Heshmati J, Namazi N, Memarzadeh MR Taghizadeh M, Kolahdooz F. *Nigella sativa* oil affects glucose metabolism and lipid concentrations in patients with type 2 diabetes: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Food Res Int*. 2015;70:87-93. doi:10.1016/j.foodres.2015.01.030
20. Asrani SK, Devarbhavi H, Eaton J, Kamath PS. Burden of liver diseases in the world. *J Hepatol*. 2019;70(1):151-171. doi:10.1016/j.jhep.2018.09.014

21. Wang J, Tan GJ, Han LN, Bai YY, He M, Liu H Bin. Novel biomarkers for cardiovascular risk prediction. *J Geriatr Cardiol.* 2017;14(2):135-150. doi:10.11909/j.issn.1671-5411.2017.02.008
22. Sitepu NB, Harahap U. The Role Of hs-CRP In Predicting The Likelihood Of Coronary Heart Disease. *Indones J Pharm Clin Res.* 2020;3(1):51-61. doi:10.32734/idjpcr.v3i1.4015
23. Saraiva M, Saraiva M, Vieira P, et al. Biology and therapeutic potential of interleukin-10. *J Exp Med.* 2020;217(1):1-19. doi:10.1084/jem_20190418
24. Ouyang W, O'Garra A. IL-10 Family Cytokines IL-10 and IL-22: from Basic Science to Clinical Translation. *Immunity.* 2019;50(4):871-891. doi:10.1016/j.immuni.2019.03.020
25. Jarry A, Bossard C, Bou-hanna C, et al. JCI0832140.v2.pdf. 2008;118(3). doi:10.1172/JCI32140.1132
26. Iyer SS, Cheng G. Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease. *Crit Rev Immunol.* 2012;32(1):23-63. doi:10.1615/critrevimmunol.v32.i1.30
27. El-Mikkawy, D. M. E., EL-Sadek, M. A., EL-Badawy, M. A. & Samaha, D. Circulating level of interleukin-6 in relation to body mass indices and lipid profile in Egyptian adults with overweight and obesity. *Egypt. Rheumatol. Rehabil.* 47, (2020).
28. Susantiningsih, T. & Mustofa, S. Ekspresi IL-6 dan TNF- α Pada Obesitas IL-6 and TNF- α Expression in Obesity. *JK Unila* vol. 2 174–180 (2018).
29. Ariana, R. Teknik Perawatan Luka Modern Dan Konvensional Terhadap Kadar Interleukin 1 Dan Interleukin 6 Pada Pasien Luka Diabetik (Modern and Convensional Wound Dressing to Interleukin 1 and Interleukin 6 in Diabetic wound. *J. Ners Vol. 10 No. 1 April 2015* 133–137 1–23 (2016).
30. Steen, E. H. *et al.* The Role of the Anti-Inflammatory Cytokine Interleukin-10 in Tissue Fibrosis. *Adv. Wound Care* 9, 184–198 (2020).
31. Walter, E. J., Hanna-Jumma, S., Carraretto, M. & Forni, L. The pathophysiological basis and consequences of fever. *Crit. Care* 20, 1–10 (2016).
32. Tanaka, T., Narazaki, M. & Kishimoto, T. IL-6 in Inflammation, Immunity, and Disease. *Cold Spring Harb. Lab. Press* 6, (2014).
33. Hess, J. M., Stephensen, C. B., Kratz, M. & Bolling, B. W. Exploring the Links between Diet and Inflammation: Dairy Foods as Case Studies. *Adv. Nutr.* 12, 1S-13S (2021).

34. Liu, Y. Z., Wang, Y. X. & Jiang, C. L. Inflammation: The common pathway of stress-related diseases. *Front. Hum. Neurosci.* **11**, 1–11 (2017).
35. Charles, F., Lacy, R. P. H. Drug Information Handbook 17th edition. American Pharmacist Association. 2009.
36. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. Farmakologi Dasar dan Klinik Terjemahan. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2014. Hal 449.
37. Munaf, S., Kumpulan Kuliah Farmakologi, Penerbit Buku Kedokteran, EGC; 2009.
38. Dipiro, J.T., Wells, B.G., Schwinghammer, T.L., Dipiro, C.V., Pharmacotherapy Handbook Ninth Edition-Section 4 Chapter 19, The McGraw-Hill Companies, Inc, United States. 2015.
39. Setianingsih H, Soetjipto S, Sudiana IK, et al. Lembar Pengesahan Jurnal Media Medika Muda Penyakit Perlemakan Hati Non-Alkoholik Pada. JHE (Journal Heal Educ. 2014;13(1):47-53. doi:10.20885/jkki.vol6.iss1.art7
40. Pop M R, Sabin O, Suci S, et al. Nigella Sativa's Anti-Inflammatory and antioxidative effect in experimental inflammation. 2020.
41. Norouzi F, Abareshi A, Asgharzadeh F, et al. The Effect of Nigella Sativa on Inflammation-induced myocardial fibrosis in male rats. 2017. doi: [10.4103/1735-5362.199050](https://doi.org/10.4103/1735-5362.199050).
42. Proborini AS, Sulchan M, Dieny FF. Kadar C-Reactive Protein pada remaja stunted obesity usia 12-17 tahun di Kota Semarang. J Nutr Coll. 2017;6(2):198. doi:10.14710/jnc.v6i2.16910
43. Iqbal MJ, Butt MS, Nasir Qayyum MM, Rasul Suleria HA. Anti-hypercholesterolemic and anti-hyperglycaemic effects of conventional and supercritical extracts of black cumin (Nigella sativa). Asian Pac J Trop Biomed. 2017;7(11):1014-1022. doi:10.1016/j.apjtb.2017.10.005
44. Kondo H, Abe I, Gotoh K, Fukui A, Takanari H, Ishii Y, et al. Interleukin 10 Treatment Ameliorates High-Fat Diet-Induced Inflammatory Atrial Remodeling and Fibrillation. Circ Arrhythm Electrophysiol. 2018;11(5): e006040.
45. Schmidt FM, Weschenfelder J, Sander C, Minkwitz J, Thormann J, Chittka T, et al. Inflammatory cytokines in general and central obesity and modulating effects of physical Activity. PLoS One. 2015;10(3):e0121971.

46. Gonzalez-Gil AM, Elizondo-Montemayor L. The role of exercise in the interplay between myokines, hepatokines, osteokines, adipokines, and modulation of inflammation for energy substrate redistribution and fat mass loss: A review. *Nutrients*. 2020;12(6):1.
47. Sargowo D. *Disfungsi Endotel*. Malang: UB Press; 2015. 114 p.
48. Luglio Muhammad HF. *Diet Mediterania: Teori dan Aplikasi bagi Masyarakat Indonesia*. Yogyakarta: UGM Press; 2021. 61,63.
49. Crege DRX de O, Miotto AM, Borghi F, Wolf-Nunes V, Kassisse DMG. Cardiometabolic Alterations in Wistar Rats on a Six-Week Hyperlipidic, Hypercholesterolemic Diet. *Int J Cardiovasc Sci*. 2016;29(5):362–9.
50. Kim SJ, Lim J, Nam GE, Park HS. Correlation between serum lipid parameters and interleukin-10 concentration in obese individuals. *J Obes Metab Syndr*. 2021;30(2):173–7.
51. Malik R, Sadewa AH, Sunarti. High fiber diets enhance il-10 gene expression and its level in hyperlipidemic rats model. *Curr Res Nutr Food Sci*. 2020;8(2):471–8.
52. Anaeigoudari A, Safari H, Khazdair MR. Effects of *Nigella sativa*, *Camellia sinensis*, and *Allium sativum* as Food Additives on Metabolic Disorders, a Literature Review. Vol. 12, *Frontiers in Pharmacology*. 2021.
53. Soliman MM, El-Senosi YAE-F, El-Hamid OMA, El-Mageed AE-DA, Ismaeil RS, Ali HAE-M. *Nigella sativa* Modulates Cytokines Expression in Mature Bovine Adipocytes. *Asian J Biochem*. 2009;4(2):60–7.
54. Pop RM, Trifa AP, Popolo A, Chedea VS, Militaru C, Bocsan IC, et al. *Nigella sativa*: Valuable perspective in the management of chronic diseases. Vol. 23, *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2020. p. 699–713.
55. Isik F, Tunali Akbay T, Yarat A, Genc Z, Pisiriciler R, Caliskan-Ak E, et al. Protective effects of black cumin (*Nigella sativa*) oil on TNBS-induced experimental colitis in rats. *Dig Dis Sci*. 2011;56(3):721–30.
56. Hadi V, Kheirouri S, Alizadeh M, Khabbazi A, Hosseini H. Effects of *Nigella sativa* oil extract on inflammatory cytokine response and oxidative stress status in patients with rheumatoid arthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Avicenna J Phytomed*. 2016;6(1):34–43.
57. Alrafiah A, Kulkarni P. Thymoquinone protects neurons in the cerebellum of rats through mitigating oxidative stress and inflammation following high-fat diet supplementation. Vol. 11, *Biomolecules*. 2021. p. 1–11.

58. Rathore V, Singh N, Rastogi P, Mahat RK, Mishra MK, Shrivastava R. Lipid profile and its correlation with C-reactive protein in patients of acute myocardial infarction. *Int J Res Med Sci.* 2017;5(5):2182.
59. Seyyed A, Ghajari H. Changes in Lipid Profile and C-Reactive Protein in Response to High Interval Intensity Training in Physically Active and Inactive Women. *Ann Mil Heal Sci Res.* 2019;17(4):e97274.
60. Al Asoom L. Is Nigella sativa an Effective Bodyweight Lowering Agent and a Mitigator of Obesity Risk? A Literature Review. *Vasc Health Risk Manag.* 2022;18:495–505.
61. Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *J Am Med Assoc.* 1999;282(22):2131–5.
62. Ellulu MS, Patimah I, Khaza H, Rahmat A, Abed Y, Sci AM. Obesity and Inflammation : The Linking Mechanism and the Complications. *Arch Med Sci.* 2016;851–63.
63. Asgary S, Ghannadi A, Dashti G, Helalat A, Sahebkar A, Najafi S. Nigella sativa L. improves lipid profile and prevents atherosclerosis: Evidence from an experimental study on hypercholesterolemic rabbits. *J Funct Foods.* 2013;5(1):228–34.
64. Tavakoly R, Arab A, Vallianou N, Clark CCT, Hadi A, Ghaedi E, et al. The effect of Nigella sativa L. supplementation on serum C-reactive protein: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Complement Ther Med.* 2019;45:149–55.
65. Hannan MA, Zahan MS, Sarker PP, Moni A, Ha H, Uddin MJ. Protective effects of black cumin (Nigella sativa) and its bioactive constituent, thymoquinone against kidney injury: An aspect on pharmacological insights. *Int J Mol Sci.* 2021;22(16):99078.
66. Ardiana M. Jintan Hitam Pencegah Kerusakan Endotel Karena Rokok. Surabaya: Airlangga University Press; 2023. 50 p.
67. Arnaud C, Burger F, Steffens S, Veillard NR, Nguyen TH, Trono D, et al. Statins Reduce Interleukin-6-Induced C-Reactive Protein in Human Hepatocytes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:1231–1236.
68. Ipandi, I., Sa'adi, A. & Sudjarwo, S. Verifikasi Metode ELISA (Enzym Linked Immunosorbent Assay) Untuk Penentuan Kadar AMH (Anti Mullerian Hormone). *J. Surya Med.* 5, 201–208 (2019).