

**PENGARUH EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*)
TERHADAP KADAR INTERLEUKIN-6 (IL-6)
(Studi Eksperimental pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi
Karagenan)**

Skripsi

Untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan
Mencapai Gelar Sarjana Kedokteran



Oleh :

Cantika Rizki Dewinda Putri

30102000040

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG
2024**

SKRIPSI

PENGARUH EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*)

TERHADAP KADAR INTERLEUKIN-6 (IL-6)

(Studi Eksperimental pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Karagenan)

Yang dipersiapkan dan disusun oleh

Cantika Rizki Dewinda Putri
30102000040

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji pada tanggal 11 Januari 2024
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I



dr. Sampurna, M.Kes

Penguji I



dr. Nurina Tyagita, M.Biomed

Pembimbing II



dr. Bagas Widiyanto, M.Biomed

Penguji II



dr. Meidona Nurul Milla, MCE

Semarang, 29 Januari 2024
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung



Dekan,



Dr. dr. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

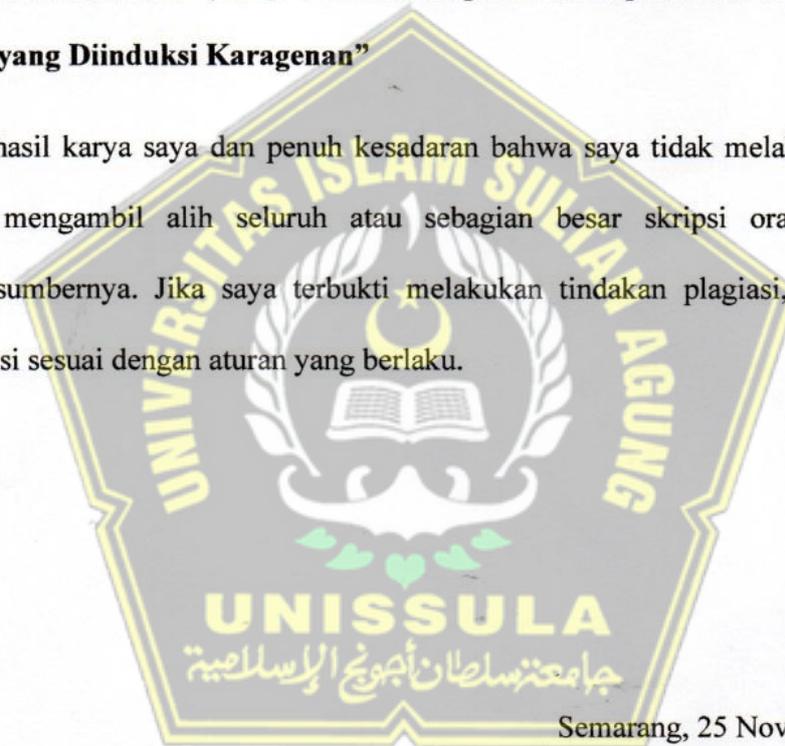
Nama : Cantika Rizki Dewinda Putri

NIM : 30102000040

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

“PENGARUH EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) TERHADAP KADAR INTERLEUKIN-6 (IL-6) : Studi Eksperimental pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Karagenan”

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar skripsi orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.



Semarang, 25 November 2023



Cantika Rizki Dewinda Putri

PRAKATA

Assalamu'alaikum wr. wb.

Alhamdulillahirobbil'alamin, puji syukur kehadiran Allah SWT atas anugrah dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul **“PENGARUH EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) TERHADAP KADAR INTERLEUKIN-6 (IL-6) : Studi Eksperimental pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Karagenan”** dengan tepat waktu. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran di Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Terselesainya penyusunan skripsi ini tidak lepas dari doa, dukungan, dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada :

1. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp. KF., S.H. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. dr. Sampurna, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing I dan dr. Bagas Widiyanto, M.Biomed. selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, saran, dan dorongan sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.
3. dr. Nurina Tyagita, M. Biomed. Selaku Dosen Penguji I dan dr. Meidona Nurul Milla, MCE. Selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktu, pikiran, ilmu serta kesabarannya dalam memberikan masukan dalam penyempurnaan skripsi ini.
4. Kepala Bagian Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada serta staff dan jajarannya yang telah membantu dan menyediakan tempat untuk penelitian ini dari awal hingga selesai.
5. Kedua orang tua yang saya sayangi dan saya cintai, serta keluarga besar yang telah memberikan doa, semangat, serta dukungan moral, dan spiritual selama penyusunan skripsi ini.

6. Sahabat kelompok skripsi saya Nisrina Adiba Aysar dan Muhammad Brave Sinatrya yang selalu berjuang bersama dari awal penyusunan proposal, proses penelitian, hingga selesai dalam pengerjaan skripsi ini.
7. Asisten-asisten Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
8. Sahabat-sahabat yang selalu ada buat saya, *Sixlife* (Nabila Triyunia, Fiani Yustin, Arvidya Sukma, Novita Sintya, Azzahra Lintang), Aliche Damarani, Lulu, Tiara Bintang, Elfrida Noer dan Abid Haidar Sulthan yang telah memberikan semangat, motivasi dan dukungan mental secara penuh selama penyusunan skripsi ini.
9. Teman-teman *Boli Sweet Home* (Arzalia, Hisana, Rosyidini, Hasna) yang kebersamaian saya dalam preklinik ini sehingga saya tetap semangat untuk menyelesaikan penulisan skripsi ini.
10. Serta pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini baik secara langsung ataupun tidak langsung.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun demi perbaikan di waktu mendatang. Besar harapan saya skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi serta bermanfaat bagi pembaca.

Wassalamu 'alaikum wr. wb.

Semarang, 06 September 2023

Penulis



Cantika Rizki Dewinda Putri

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR SINGKATAN.....	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4.1 Tujuan Umum	3
1.4.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Teori.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Interleukin-6 (IL-6)	5
2.1.1. Definisi dan Peran IL-6.....	5
2.1.2. Nilai Rujukan IL-6	7
2.1.3. Faktor Yang Memengaruhi Kadar IL-6	8
2.2. Inflamasi.....	10
2.2.1. Definisi Inflamasi.....	10
2.2.2. Jenis Inflamasi.....	11
2.2.3. Mekanisme Terjadinya Inflamasi.....	12
2.2.4. Tanda Inflamasi.....	15
2.2.5. Mediator Inflamasi	17
2.3. Daun Salam	19

2.3.1.	Daun Salam Secara Umum	19
2.3.2.	Morfologi Daun Salam.....	20
2.3.3.	Kandungan Daun Salam.....	21
2.4.	Karagenan.....	23
2.4.1.	Definisi Karagenan.....	23
2.4.2.	Struktur Karagenan	23
2.4.3.	Karagenan untuk Induksi Inflamasi	25
2.5.	Hubungan Ekstrak Daun Salam terhadap Kadar IL-6 pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang diinduksi Karagenan	26
2.6.	Kerangka Teori.....	28
2.7.	Kerangka Konsep	28
2.8.	Hipotesis.....	28
BAB III METODE PENELITIAN		29
3.1.	Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	29
3.2.	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	29
3.2.1.	Variabel.....	29
3.2.1.1.	Variabel Bebas	29
3.2.1.2.	Variabel Tergantung	29
3.2.2.	Definisi Operasional.....	29
3.2.2.1.	Ekstrak Daun Salam.....	29
3.2.2.2.	Kadar IL-6.....	30
3.3.	Populasi dan Sampel	30
3.3.1.	Populasi.....	30
3.3.2.	Sampel.....	30
3.4.	Instrumen dan Bahan Penelitian.....	31
3.4.1.	Instrumen Penelitian.....	31
3.4.2.	Bahan Penelitian.....	32
3.5.	Cara Penelitian	33
3.5.1.	Pengajuan <i>Etichal Clearence</i>	33
3.5.2.	Pembuatan Ekstrak Daun Salam	33
3.5.3.	Pemberian Karagenan terhadap Hewan Uji Coba.....	33
3.5.4.	Dosis Penelitian.....	34
3.5.4.1.	Penetapan Dosis Ekstrak Daun Salam	34

3.5.4.2. Penetapan Dosis Karagenan.....	35
3.5.5. Pemberian Perlakuan.....	35
3.6. Prosedur Pengambilan Darah Tikus	36
3.7. Pemeriksaan Kadar Interleukin – 6	36
3.8. Tempat dan Waktu Penelitian	37
3.8.1. Tempat Penelitian.....	37
3.8.2. Waktu Penelitian	38
3.9. Alur Penelitian.....	39
3.10. Analisis Data	40
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	41
4.1. Hasil Penelitian	41
4.1.1. Deskripsi Data.....	41
4.1.2. Analisa Statistik.....	42
4.2. Pembahasan.....	43
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	46
5.1. Kesimpulan.....	46
5.2. Saran.....	47
DAFTAR PUSTAKA.....	48
LAMPIRAN	



DAFTAR SINGKATAN

IL-6	: Interleukin 6
TLR	: <i>Toll-Like Receptor</i>
JAK-STAT	: <i>Janus Kinase-Signal Transducer And Activator Of Transcription</i>
RAS-MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase Pathway</i>
DHEA	: Dehydroepiandrosterone
COX	: Siklooksigenase
COX-1	: Siklooksigenase 1
COX-2	: Siklooksigenase 2
LOX	: Lipooksigenase
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor Kappa B</i>
CRP	: <i>C-reactive protein</i>
IL-1	: Interleukin 1
IL-8	: Interleukin 8
PGH	: Prostaglandin H
PGE1	: Prostaglandin E1
PGE2	: Prostaglandin E2
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
TGF- β	: <i>Transforming growth factor beta</i>

DAFTAR TABEL

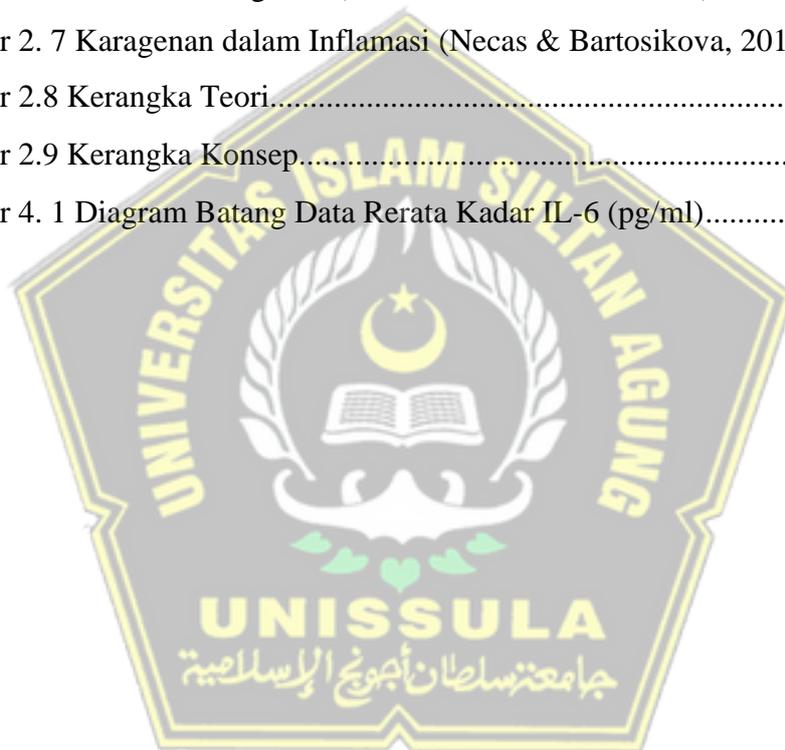
Tabel 4. 1 Hasil Analisa Uji Normalitas, Homogenitas, One Way Anova..... 42

Tabel 4. 2 Hasil analisa statistik kadar IL-6 antar kelompok uji 43



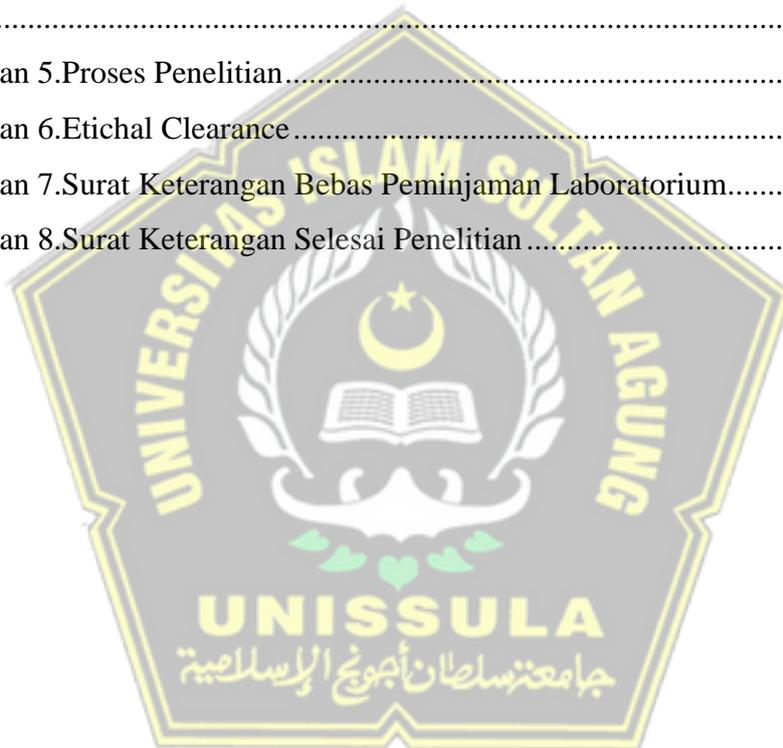
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Jalur Signaling IL-6 (Noack & Miossec, 2017).....	6
Gambar 2. 2 Efek IL-6 terhadap sel target (Kumar & Abbas, 2015).....	7
Gambar 2. 3 Proses Asam Arakidonat (Kumar & Abbas, 2015).....	15
Gambar 2. 4 Sumber Mediator Inflamasi (Kumar & Abbas, 2015).....	19
Gambar 2. 5 Daun Salam (Warta et al., 2016).....	20
Gambar 2. 6 Struktur Karagenan (Necas & Bartosikova, 2013).....	24
Gambar 2. 7 Karagenan dalam Inflamasi (Necas & Bartosikova, 2013.).....	25
Gambar 2.8 Kerangka Teori.....	28
Gambar 2.9 Kerangka Konsep.....	28
Gambar 4. 1 Diagram Batang Data Rerata Kadar IL-6 (pg/ml).....	40



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Perhitungan Kadar IL-6.....	52
Lampiran 2. Hasil Perhitungan Rata – Rata Kadar IL-6 dan Standar Deviasi dengan Uji Deskriptif.....	53
Lampiran 3. Hasil Analisis Uji Normalitas dan Homogenitas Data Kadar IL-6 dengan Saphiro-Wilk dan Levene Test.....	54
Lampiran 4. Hasil Uji Analisis Statistik Parametrik One Way Anova dan Post Hoc LSD.....	55
Lampiran 5. Proses Penelitian.....	56
Lampiran 6. Etichal Clearance.....	58
Lampiran 7. Surat Keterangan Bebas Peminjaman Laboratorium.....	59
Lampiran 8. Surat Keterangan Selesai Penelitian.....	60



INTISARI

Inflamasi atau peradangan dapat terjadi akibat pemberian induksi karagenan 1% dengan cara mengaktivasi *Toll Like Receptor-4* (TLR-4) yang ditandai dengan peningkatan kadar Interleukin-6 (IL-6) di dalam darah. Daun salam mengandung flavonoid, tannin, dan saponin yang berpotensi sebagai anti-inflamasi dengan cara menghambat aktivasi TLR-4. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun salam terhadap kadar interleukin-6 pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi karagenan 1%.

Jenis penelitian eksperimental dengan rancangan “*post test only control group design*” dengan sampel penelitian 24 ekor tikus putih jantan galur wistar, dibagi menjadi 4 kelompok secara acak. KN (kontrol normal), KS (kontrol negatif dengan induksi karagenan 1%), KP1 (ekstrak daun salam 100mg/kgBB), KP2 (ekstrak daun salam 200 mg/kgBB). Setelah itu dilakukan pemeriksaan kadar IL-6 menggunakan ELISA. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji normalitas, homogenitas, *One Way Anova* dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD*.

Hasil rerata IL-6 pada KN (63,47 pg/ml), KS (131,09 pg/ml), KP1 (89,56 pg/ml), dan KP2 (75,95 pg/ml). Hasil uji normalitas data ($p > 0,05$), uji homogenitas ($p > 0,05$), *One Way Anova* didapatkan beda signifikan 0,000. Uji *Post Hoc LSD* menunjukkan adanya perbedaan signifikan rerata kadar IL-6 pada semua kelompok.

Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun salam berpengaruh terhadap kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi karagenan 1%.

Kata kunci : Ekstrak Daun Salam, Kadar Interleukin-6, Induksi Karagenan 1%

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Inflamasi (peradangan) merupakan suatu reaksi alami yang muncul akibat cedera jaringan di dalam tubuh atau infeksi. Inflamasi mendasari banyak kelainan seperti penyakit kardiovaskular (Rahmawati, 2014). Proses inflamasi dapat juga dipicu oleh antigen yang masuk, sehingga terjadi fagositosis oleh leukosit untuk menghancurkan patogen dan memperbaiki jaringan yang rusak. Interleukin-6 (IL-6) adalah salah satu sitokin pro-inflamasi yang dihasilkan oleh sel imun dan disekresi lebih banyak jika ada antigen masuk kedalam tubuh manusia (Taniguchi & Karin, 2014). Karagenan berperan sebagai patogen yang dapat melekat pada *Toll Like Receptor-4* (TLR4) sehingga dapat memicu aktivasi makrofag dan meningkatkan produksi sitokin pro-inflamasi (Myers et al., 2019). Flavonoid, seperti yang terkandung dalam daun salam (*Syzygium polyanthum*) berperan sebagai anti-inflamasi karena menghambat aktivasi TLR4, sehingga *Nuclear Factor Kappa B* (NF- κ B) menghentikan produksi IL-6 (Lim et al., 2019) (Nuning et al., 2022). Penelitian mengenai pengaruh pemberian daun salam saat inflamasi akut terhadap kadar IL-6 masih terbatas, oleh karena itu obat herbal dapat menjadi alternatif pengobatan yang lebih murah dan aman untuk menekan adanya tanda inflamasi.

Inflamasi mendasari berbagai penyakit. Inflamasi juga terjadi pada obesitas. Prevalensi obesitas di Indonesia mencapai 20,7% pada tahun 2016 dengan persentase perempuan lebih tinggi (41,6%) dibandingkan laki-laki (24,0%) (Wijayanti et al., 2019). Inflamasi juga berkaitan dengan penyakit kardiovaskuler seperti gagal jantung dengan prevalensi 57% dan Rheumatoid Arthritis 31,3% (Murphy et al., 2020). Inflamasi yang diabaikan akan memicu pelepasan sitokin dan prostaglandin sehingga semakin lama dapat menyebabkan kerusakan jaringan (Abbas et al., 2016). Beberapa sumber mengatakan bahwa inflamasi akut yang tidak segera ditangani akan meningkatkan resiko terjadinya penyakit seperti infeksi. Tanda inflamasi seperti nyeri masih disepelekan karena dirasa tidak menyebabkan kematian, akhirnya rasa sakit yang dihasilkan dapat mengganggu aktivitas sehari-hari. Untuk memperbaiki kualitas hidup seseorang, penurunan penanda inflamasi ini sangat penting dilakukan untuk mengurangi jumlah masyarakat yang beresiko terkena penyakit yang tidak diinginkan antara lain dengan menggunakan daun salam (Fritsch et al., 2021).

Syzygium polyanthum dikenal dengan “Daun Salam” adalah salah satu jenis tanaman yang memiliki kandungan utama flavonoid, tannin, dan saponin (Darussalam & Kartika, 2016). Hasil penelitian sebelumnya, flavonoid dapat menghambat aktivasi jalur intraseluler NF- κ B sehingga menyebabkan produksi IL-6 menjadi berkurang (Mujayanto et al., 2020). Penelitian Agustina et al (2015) juga membuktikan bahwa dosis ekstrak daun salam 50 mg/kgBB, 150 mg/kgBB dan 250 mg/kgBB yang diberikan pada tikus

inflamasi mampu mengurangi volume edema. Hal tersebut dibuktikan dengan perbedaan volume radang antara kelompok kontrol negatif dan kelompok dosis ekstrak etanol daun salam (Agustina et al., 2015).

IL-6 menjadi penanda inflamasi karena disekresi lebih banyak di sel-sel tubuh sehingga dapat menginduksi sel B untuk memproduksi antibodi. Produksi IL-6 yang meningkat karena efek inflamasi diharapkan dapat berkurang dengan pemberian ekstrak daun salam. Peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak daun salam sebagai antiinflamasi terhadap IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi oleh karagenan sehingga hasil penelitian dapat dipakai salah satu penyelesaian masalah inflamasi.

1.2 Perumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun salam terhadap kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi karagenan?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun salam terhadap kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi karagenan.

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1.3.2.1 Mengetahui rerata kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar yang mendapat diet pakan standar.
- 1.3.2.2 Mengetahui rerata kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi oleh karagenan.
- 1.3.2.3 Mengetahui rerata kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi oleh karagenan + ekstrak salam 100 mg/Kg BB.
- 1.3.2.4 Mengetahui rerata kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi oleh karagenan + ekstrak salam 200 mg/Kg BB.
- 1.3.2.5 Menganalisis perbedaan antar kelompok penelitian.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teori

Data analisa hasil pada penelitian ini diharapkan dapat dijadikan penelitian pendahuluan mengenai pengaruh ekstrak daun salam sebagai anti-inflamasi yang dapat menurunkan kadar IL-6.

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan bahan informasi masyarakat terkait pengaruh ekstrak daun salam yang digunakan sebagai terapi anti-inflamasi .

BAB II

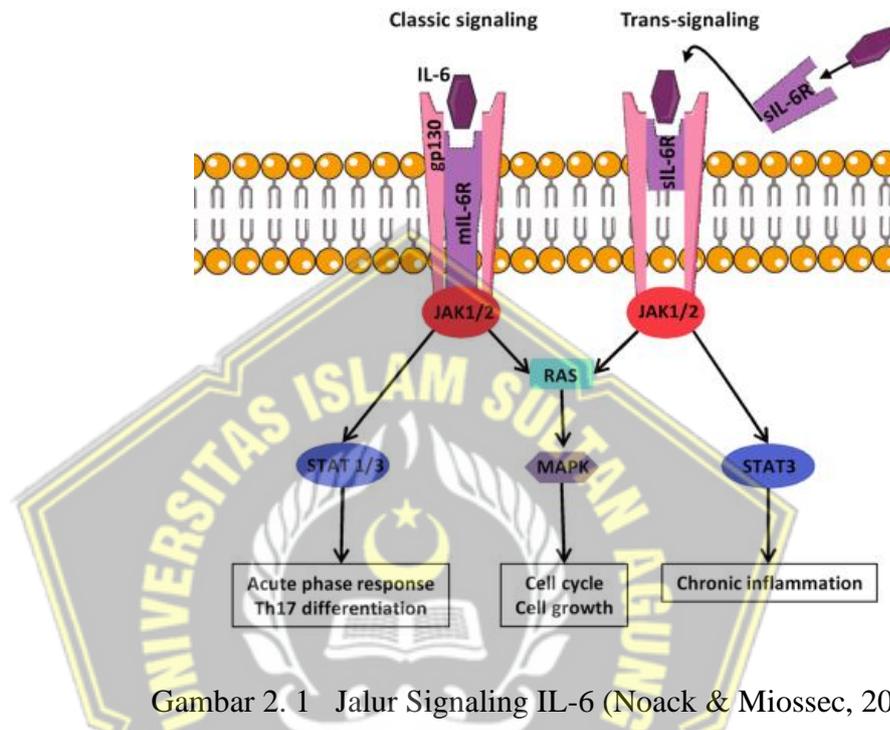
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Interleukin-6 (IL-6)

2.1.1. Definisi dan Peran IL-6

Interleukin-6 (IL-6) merupakan sitokin pro-inflamasi yang dihasilkan oleh sel makrofag yang teraktivasi untuk merangsang respon kekebalan tubuh selama inflamasi (Nurwidya et al., 2021). IL-6 juga dihasilkan dari *Nuclear Factor Kappa B* (NF- κ B) yang aktif akibat adanya sinyal yang dihasilkan oleh antigen atau zat asing lainnya. IL-6 memiliki sifat pleotropik yang mempunyai berbagai fungsi dan peran dalam aktivitas peradangan, respon imun, serta hematopoiesis (Tanaka et al., 2014). Reseptor IL-6 ini memiliki ciri khas reseptor yaitu IL-6R yang terdiri dari tipe I *cytokine α receptor subunit* (IL-6R) dan *common signal transducing β receptor subunit* (CD130 atau gp130). Tipe I IL-6R ini aktif di sel hepar, leukosit, dan megakariosit. Tipe gp130 dapat ditemukan di berbagai sel tubuh. Aktivitas IL-6R memiliki 2 jalur yaitu klasik dan *trans-signaling*. Jalur klasik IL-6R akan selalu melekat pada membran dan tidak lepas dari sel. Jalur trans-signal dihasilkan oleh sel-sel imun, tidak hanya melekat pada IL-6R di membran tetapi juga bisa melibatkan IL-6R terlarut untuk mengikat gp130 yang menyebabkan ekspresinya meluas di berbagai banyak sel. *Janus tyrosine kinase-signal transducer and*

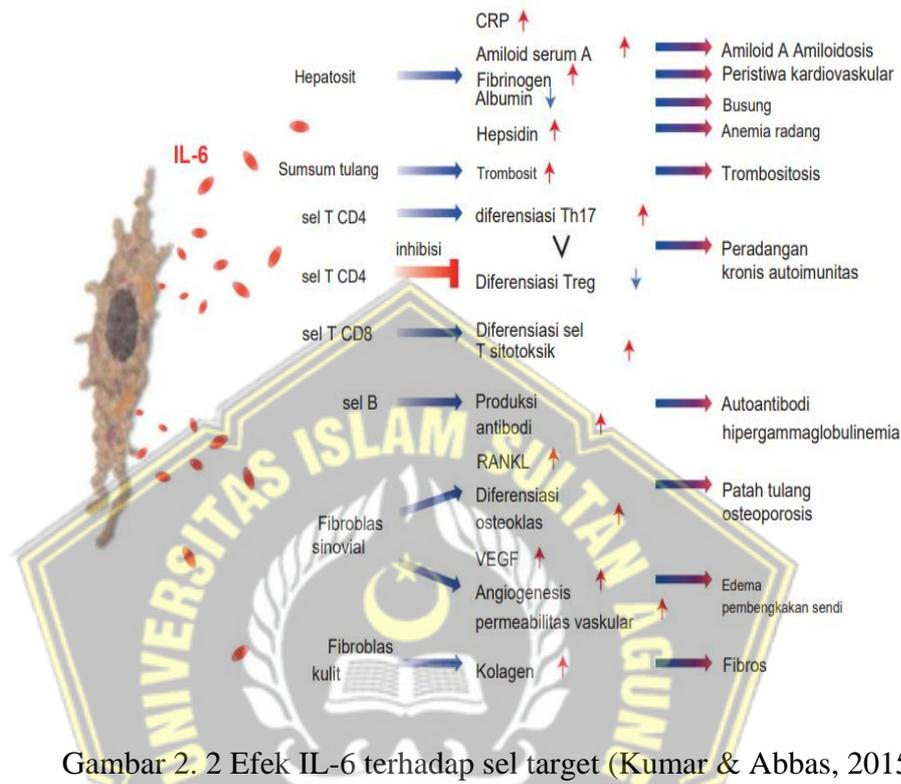
activator of transcription (JAK-STAT) dan RAS-MAPK merupakan jalur sinyal di intrasel yang di aktivasi oleh IL-6R (Gambar 2.1) (Noack & Miossec, 2017).



Gambar 2.1 Jalur Signaling IL-6 (Noack & Miossec, 2017).

Kelainan kardiovaskular dapat terjadi akibat induksi cepat protein fase akut seperti *C-reactive protein* (CRP), Serum amiloid A (SAA), dan fibrinogen, yang diproduksi selama tahap awal peradangan dan selanjutnya diangkut ke hati melalui aliran darah (Gambar 2.2) (Rahmawati, 2014). IL-6 memiliki peran penting pada respon imun dengan merangsang produksi antibodi dan perkembangan sel T efektor. Peningkatan kadar IL-6 ini memiliki hubungan dengan kerusakan jaringan dan inflamasi yang terjadi. Karena sifat pleiotropiknya, IL-6 dapat mengalami disregulasi, yang menyebabkan

timbulnya atau berkembangnya berbagai penyakit (Tanaka et al., 2014).



Gambar 2. 2 Efek IL-6 terhadap sel target (Kumar & Abbas, 2015).

2.1.2. Nilai Rujukan IL-6

Penelitian Liu et al (2020) mengatakan bahwa kisaran rata-rata kadar IL-6 pada individu sehat adalah 0-7 pg/ml. Penelitian Siagian (2008), kadar IL-6 dalam serum tidak boleh melebihi 4 pg/ml. Kadar IL-6 serum dianggap meningkat bila mencapai atau melebihi 4 pg/ml. Keadaan inflamasi ditandai dengan peningkatan kadar IL-6 (Niu et al., 2012).

Penelitian Liu et al (2020), kadar IL-6 antara 0 dan 7 pg/ml masih dianggap ringan dan non-inflamasi. Kondisi kronis berhubungan

dengan peningkatan kadar IL-6, yang tidak hanya meningkatkan suhu inti tubuh tetapi juga merusak jaringan melalui peningkatan produksi leukosit (Niu et al., 2012).

Peningkatan kadar IL-6 serum mungkin berkaitan seiring dengan bertambahnya usia. Pada kelompok usia 65-74 tahun, rata-rata kadar IL-6 adalah 1,4 pg/ml untuk pria dan 1,1 pg/ml untuk wanita. Rata-rata kadar IL-6 pada individu berusia 85 tahun ke atas adalah 3,5 pg/ml untuk pria dan 2,1 pg/ml untuk wanita. Peningkatan radikal bebas oksigen menyebabkan aktivasi produksi IL-6, yang mengakibatkan peningkatan kadar IL-6 seiring bertambahnya usia. Perubahan ekspresi gen yang biasanya dikontrol dan terlibat dalam produksi IL-6 juga mungkin berdampak pada kadar IL-6 (Taniguchi & Karin, 2014).

2.1.3. Faktor Yang Memengaruhi Kadar IL-6

Berikut ini adalah yang dapat memengaruhi tingkat IL-6 seseorang :

a. Usia

Usia mungkin berhubungan dengan peningkatan kadar IL-6 serum. Rata-rata kadar IL-6 pada pria berusia 65-74 tahun adalah 1,4 pg/ml, sedangkan pada wanita adalah 1,1 pg/ml. Pada pria dan wanita di atas usia 85 tahun, rata-rata kadar IL-6 masing-masing adalah 3,5 pg/ml dan 2,1 pg/ml. Penyebab lainnya adalah adanya gangguan regulasi normal pada ekspresi gen yang mengatur produksi IL-6 (Rahmawati, 2014).

b. Jenis kelamin

Korelasi antara jenis kelamin dan kadar IL-6 berasal dari penelitian yang menunjukkan bahwa kondisi pro-inflamasi ringan pada lansia disebabkan oleh penurunan produksi hormon steroid dan tingkat sirkulasi. Misalnya, *dehydroepiandrosterone* (DHEA) menghambat sekresi IL-6 dari sel mononuklear dan memiliki korelasi negatif dengan kadar IL-6 serum. Jadi, hormon seks yang diproduksi tubuh berhubungan dengan hubungan tingkat gender-IL-6. Kadar IL-6 akan meningkat pada wanita menopause. Menurut Tanaka et al (2016), kadar IL-6 yang bersirkulasi dapat diturunkan pada wanita pascamenopause dengan pemberian terapi estrogen (Tanaka et al., 2016).

c. Obesitas

Gangguan inflamasi kronis yang ditandai dengan infiltrasi progresif sel kekebalan ke dalam jaringan adiposa dikaitkan dengan obesitas. Peradangan jaringan yang disebabkan oleh sitokin sel kekebalan menyebabkan resistensi insulin. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa peningkatan kadar IL-6 umumnya dikaitkan dengan obesitas (Wijayanti et al., 2019).

2.2. Inflamasi

2.2.1. Definisi Inflamasi

Inflamasi merupakan suatu reaksi alami yang muncul akibat cedera jaringan di dalam tubuh atau infeksi (Abbas et al., 2016). Sesuai dengan gagasan Dori (2018) cedera pada jaringan baik akibat benda tumpul, bahan kimia beracun, atau mikroba, memicu respon peradangan tubuh yang berfungsi sebagai mekanisme pertahanan jaringan tersebut (Germolec et al., 2018). Reaksi inflamasi biasanya memicu pelepasan mediator dari jaringan untuk pertahanan dari sel inang dan protein yang ada di dalam darah menuju ke lokasi jaringan yang rusak. Proses inflamasi dapat terjadi akibat aktivasi dari sel imun tubuh yang mendapat sinyal ada patogen (Tanaka et al., 2014).

Proses migrasi sel dimulai dengan kemotaksis, ketika sistem pertahanan mulai bermigrasi menuju tempat infeksi. Tekanan osmotik dalam darah akan berubah dan pembuluh darah menjadi lebih permeabel. Hal ini memudahkan migrasi sel leukosit ke tempat infeksi. Cairan mudah keluar dari pembuluh darah karena perubahan tekanan osmotik, yang selanjutnya menyebabkan leukosit meninggalkan pembuluh darah, akibatnya edema terjadi ketika cairan terkumpul di tempat tertentu. Begitu antigen memasuki tubuh, TLR-4 mendeteksinya dan memicu aktivasi NF-kB, memicu rangkaian peristiwa inflamasi. Setelah itu hipotalamus menerima sinyal untuk meningkatkan suhu inti tubuh dari NF-kB, yang pada gilirannya

menyebabkan makrofag melepaskan IL-6 ke dalam aliran darah. Oleh karena itu, demam merupakan gejala umum dari reaksi peradangan ini (Kumar & Abbas, 2015).

2.2.2. Jenis Inflamasi

Jenis inflamasi dibedakan menjadi dua macam, yaitu :

a. Inflamasi akut

Inflamasi atau peradangan akut berlangsung paling lama beberapa menit hingga beberapa hari. Peradangan akut ditandai dengan migrasi keluar sel leukosit, terutama neutrofil, dan sekresi cairan dan protein plasma. Akibat peningkatan aliran darah dan pembengkakan, peradangan akut bermanifestasi sebagai kemerahan, panas, dan tumor. (Kumar & Abbas, 2015).

b. Inflamasi kronik

Penyembuhan inflamasi akut yang tidak sempurna, penyebab cedera yang menetap, atau penyebab ringan yang berulang semuanya berkontribusi terhadap inflamasi kronis. Reaksi imunologis merupakan sumber potensial peradangan kronis. Diperlukan waktu berminggu-minggu atau berbulan-bulan agar peradangan mereda. Pada peradangan kronis, terdapat lebih banyak limfosit, sel plasma, dan makrofag, dan jaringan granulasi, yang biasanya juga menyebabkan fibrosis (Kumar & Abbas, 2015).

2.2.3. Mekanisme Terjadinya Inflamasi

Infeksi adalah salah satu dari banyak rangsangan yang memicu peradangan, itu menjadi suatu reaksi fisiologis normal. Ketika antigen atau zat asing lainnya mengaktifkan sinyal NF- κ B, peradangan dapat terjadi. Regulasi peradangan, respon imun, dan penyembuhan luka merupakan salah satu fungsi NF- κ B. Peradangan akut merupakan reaksi pertama terhadap jaringan yang rusak dan menandai dimulainya peradangan. Perubahan pembuluh darah dan aktivitas sel adalah dua ciri utama peradangan akut (Myers et al., 2019).

Perubahan vaskular yang terjadi meliputi vasokonstriksi beberapa detik setelah cedera, diikuti vasodilatasi arteriol, yang menyebabkan peningkatan aliran darah dan gejala inflamasi klasik berupa panas dan kemerahan. Aliran cairan yang kaya protein ke jaringan ekstrasvaskular dan permeabilitas pembuluh darah kecil keduanya berkontribusi terhadap penurunan aliran darah. Permukaan endotel menjadi tempat berkumpulnya leukosit, khususnya neutrofil, setelah pembuluh darah berkontraksi akibat listrik statis. Ketika sel-sel endotel menyempit, ruang terbuka di venula pasca-kapiler. Hal ini meningkatkan tekanan osmotik cairan interstisial, yang pada gilirannya memungkinkan cairan masuk ke jaringan. Hal ini menyebabkan penumpukan eksudat, cairan kaya protein, dan edema, gejala peradangan (Sherwood, 2012).

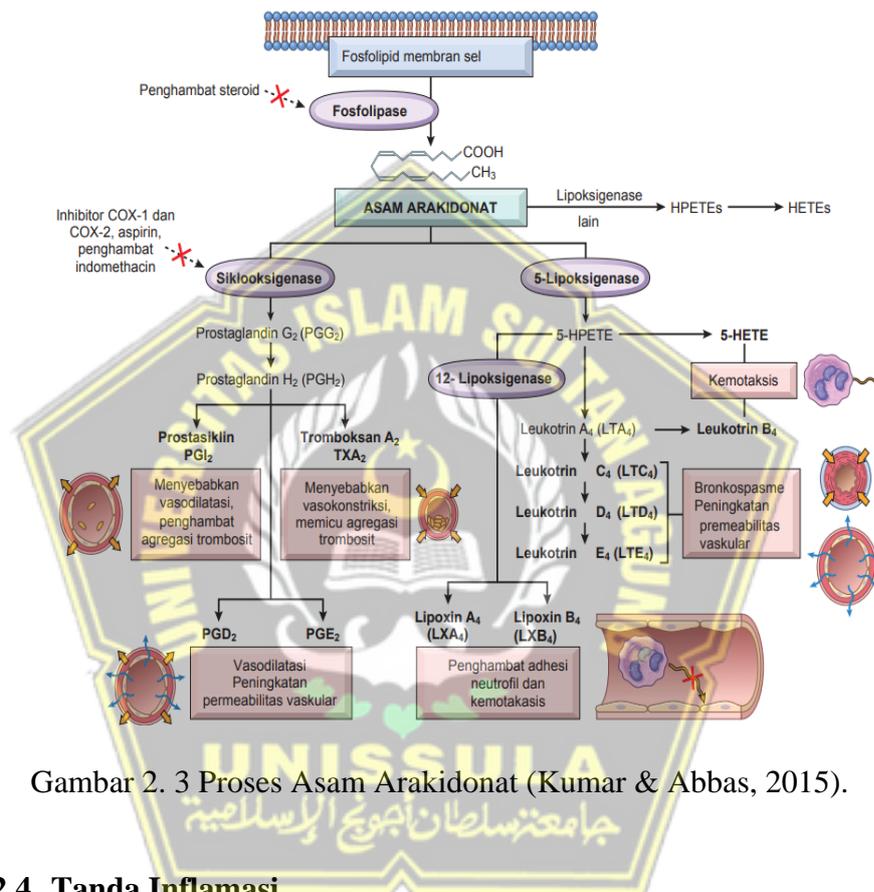
Ketika aliran darah ke area cedera meningkat, aktivitas seluler dimulai. Bahan kimia yang dilepaskan oleh sel yang rusak, sel mast, aktivasi komplemen, dan produksi sitokin setelah pengikatan antibodi-antigen oleh TLR4 menarik leukosit dan trombosit ke lokasi tersebut. Untuk menghentikan pendarahan dan menahan infeksi, trombosit menggumpal saat mencapai luka. Kemotaksis mengacu pada proses dimana leukosit, seperti monosit dan neutrofil, tertarik ke lokasi cedera. Sel-sel yang menarik pada lokasi luka akan membantu penyembuhan dalam jangka panjang. Dari lumen pembuluh darah ke ruang ekstrasvaskular, leukosit pertama-tama harus mengalami penggulungan dan marginasi, kemudian melekat dan bertransmigrasi antar sel endotel, dan akhirnya bermigrasi melalui jaringan interstisial sebagai respons terhadap stimulus kemotaktik (Kumar & Abbas, 2015).

Proses ini dipengaruhi oleh mediator kimia, seperti kemoatraktan dan sitokin, yang mengatur ekspresi atau afinitas molekul adhesi pada permukaan. Kerusakan membran sel akibat peradangan merangsang pelepasan enzim lisosom oleh leukosit, khususnya metabolit asam arakidonat. Enzim COX mengubah metabolit asam arakidonat spesifik menjadi prostaglandin, tromboksan, dan prostasiklin. Kumar dan Abbas (2015) menyatakan bahwa leukotrin diproduksi melalui modifikasi enzimatis berbagai metabolit asam arakidonat oleh lipoksigenase (Kumar & Abbas, 2015).

Enzim COX tersusun dari dua isoenzim, yaitu COX-1 dan COX-2. Untuk mempertahankan homeostasis, tubuh membutuhkan prostaglandin (PGE1, PGE2) dan tromboksan, yang disintesis dari PGH2 oleh enzim COX-1. Fibroblas sinovial, sel imun (seperti makrofag), dan sel endotel vaskular semuanya memiliki kemampuan untuk dengan mudah menjalani berbagai proses yang merangsang enzim COX-2 untuk mengubah PGH2 menjadi PGE2. Adanya prostaglandin E2 (PGE2) menyebabkan vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas pori-pori kapiler sehingga mengakibatkan peningkatan aliran darah. Hal ini diilustrasikan pada Gambar 2.3. Ketika pori-pori pembuluh darah membesar, protein plasma mempunyai kemampuan untuk keluar dari pembuluh darah dan masuk ke jaringan yang meradang. Kehadiran protein dalam jaringan interstisial menyebabkan peningkatan tekanan osmotik koloid dan tekanan darah kapiler. Fluktuasi tekanan kapiler berdampak langsung pada keluarnya cairan dari kapiler dan berkurangnya reabsorpsi cairan di dalamnya (Kumar & Abbas, 2015).

Pembengkakan yang terlokalisasi dapat terjadi ketika cairan menumpuk di jaringan interstisial (Mitchell et al, 2015). Prostaglandin memainkan peran penting dalam mengendalikan berbagai proses fisiologis, dan enzim COX-1 bertanggung jawab untuk memfasilitasi produksinya. Sintesis prostaglandin selama proses inflamasi, nyeri, dan demam dikaitkan dengan enzim COX-2, yang biasanya tidak ada di

jaringan tetapi dipicu oleh rangsangan berbeda seperti endotoksin, sitokin, dan mitogen. Kumar dan Abbas (2015) menemukan bahwa enzim COX-2 dapat distimulasi sebagai reaksi terhadap rangsangan inflamasi (Kumar & Abbas, 2015).



Gambar 2. 3 Proses Asam Arakidonat (Kumar & Abbas, 2015).

2.2.4. Tanda Inflamasi

a. Kemerahan (rubor)

Kemerahan (rubor) yang terjadi setelahnya biasanya merupakan tanda pertama peradangan di area yang terkena. Mikrosirkulasi lokal menerima peningkatan aliran darah karena arteri yang memasok darah melebar sebagai respons terhadap reaksi inflamasi. Vena yang kosong sebagian atau seluruhnya tiba-tiba melebar dan

terisi darah. Peradangan akut menyebabkan kemerahan pada kulit, gejala yang dikenal sebagai hiperemia atau kemacetan (Kumar et al., 2016).

b. Rasa Panas (kalor)

Rasa panas dan warna kemerahan terjadi secara bersamaan. Rasa panas dapat disebabkan karena jumlah darah lebih banyak di tempat inflamasi daripada di daerah lain. Fenomena panas ini biasanya dapat dirasakan langsung jika di permukaan kulit, sedangkan bila terjadi jauh di dalam tubuh tidak dapat dilihat dan dirasakan (Ramadhani & Sumiwi., 2016).

c. Rasa Sakit (dolor)

Rasa sakit akibat radang dapat disebabkan karena adanya peregangan jaringan akibat adanya edema sehingga terjadi peningkatan tekanan lokal yang dapat menimbulkan rasa nyeri, dan adanya pengeluaran zat-zat kimia atau mediator nyeri seperti prostaglandin, histamin, bradikinin yang dapat merangsang saraf perifer di sekitar radang sehingga dirasakan nyeri (Kumar et al., 2016).

d. Pembengkakan (tumor)

Peningkatan aliran darah dan cairan ke jaringan yang terluka, menyebabkan pembengkakan akibat peningkatan permeabilitas kapiler, merupakan gejala peradangan yang paling terlihat (Kumar et al., 2016).

e. Fungsi laesa

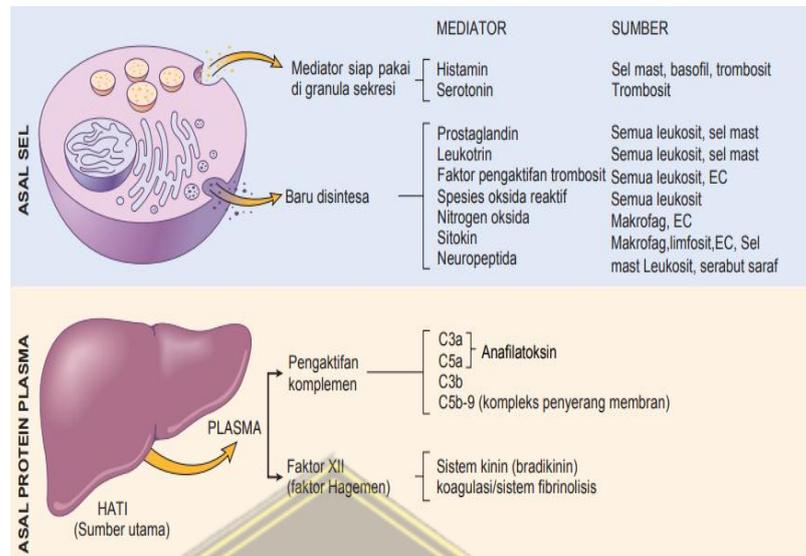
Ketika peradangan menyebabkan gangguan fungsi jaringan, kondisi ini dikenal sebagai *function laesa*. Saat menggerakkan otot atau jaringan lain di area peradangan, baik disengaja maupun tidak, anda akan merasakan nyeri dan pembengkakan yang signifikan, yang akan membatasi rentang gerak anda (Kumar et al., 2016).

2.2.5. Mediator Inflamasi

Peradangan dimulai dengan keluarnya sinyal oleh satu jaringan, yang selanjutnya memicu pelepasan mediator kimia oleh jaringan lain, termasuk jaringan ikat dan plasma. Pada gilirannya, mediator ini mempengaruhi reaksi yang terjadi di pembuluh darah dan sel. Respons inflamasi berakhir ketika pemicu inflamasi pada jaringan menghilang, dipecah, atau sekresinya berkurang. Mediator kimia dapat diproduksi oleh sel yang rusak atau komponen plasma, dan mediator ini dapat menyebabkan peradangan. Seperti ditunjukkan pada Gambar 2.4, sel menghasilkan berbagai mediator, termasuk prostaglandin, histamin, serotonin, leukotrin, limfokin, faktor neutrofil, protease, dan metabolit asam arakidonat. Sistem fibrinolitik, faktor koagulasi, kina (bradikinin), dan komplemen merupakan komponen plasma (Kumar & Abbas et al., 2016). Ada dua kategori utama mediator inflamasi yaitu mediator yang diproduksi secara lokal oleh sel-sel yang meradang dan mediator yang diproduksi secara sistemik oleh hati dan mampu bersirkulasi dalam

plasma. Mediator kimia memainkan peran multi-fungsi dalam peradangan akut, memfasilitasi kemotaksis, meningkatkan permeabilitas, dan dilatasi pembuluh darah. Produksi prostaglandin, bradikinin, serotonin, dan histamin semuanya berkontribusi terhadap pelebaran pembuluh darah. Permeabilitas dapat ditingkatkan oleh berbagai mediator kimia, termasuk radikal ozon, prostaglandin, leukotrien, protease lisosom, histamin, serotonin, bradikinin, komplemen 3a, komplemen 5a, dan lain-lain. Mediator kemotaksis antara lain prostaglandin, bradikinin, leukotrien, komplemen 3b (opsonin), dan komplemen 5a (Ramadhani & Sumiwi., 2016).

Mediator inflamasi lainnya adalah sitokin, yaitu zat-zat yang berperan pada sel sel leukosit. Sitokin akan aktif ketika terjadi inflamasi dengan merangsang sel sistem imun untuk berproliferasi atau menjadi aktif. Sitokin memiliki sifat sebagai pro-inflamasi dan antiinflamasi. Sitokin pro-inflamasi meliputi IL-6, IL-1, IL-2, TNF, dan interferon gamma. Sitokin pro-inflamasi ini berperan mengatur aktivasi sel, migrasi sel, dan untuk pengendalian patogen. IL-6 merupakan salah satu sitokin pro-inflamasi yang akan memberikan sinyal peringatan jika terjadi inflamasi atau kerusakan jaringan. IL-6 diskresi lebih banyak oleh makrofag dan berperan menginduksi sel B untuk menghasilkan antibodi. Sitokin antiinflamasi meliputi IL-4, IL-10, dan *Transforming growth factor beta* yang memiliki fungsi untuk menekan sekresi sitokin pro-inflamasi (Duque et al., 2014).



Gambar 2. 4 Sumber Mediator Inflamasi (Kumar & Abbas, 2015).

2.3. Daun Salam

2.3.1. Daun Salam Secara Umum

Nama ilmiah daun salam dalam bahasa latin biasanya dikenal dengan nama *Syzygium polyanthum*. Di Pulau Jawa, tanaman ini biasa disebut dengan salam. Bagi masyarakat Jawa, tanaman salam melambangkan penebusan melalui makna tersirat yang mereka internalisasikan dan gunakan dalam kehidupan sehari-hari. Hidup untuk kepentingan dunia dan akhirat merupakan titik eksistensi (Warta et al., 2016). Daun salam memiliki minyak atsiri dan pewarna antimikroba. Daun salam memiliki sejarah panjang digunakan sebagai obat gangguan pencernaan dan sembelit. Harissah dan Chusniatun (2016) mengatakan bahwa daun salam memiliki beragam kegunaan obat, antara lain untuk pengobatan

asam urat, stroke, kolesterol tinggi, gatal-gatal, dan gangguan peredaran darah.

Berikut klasifikasi daun salam menurut Van Steenis :

Kingdom : *Plantae*
 Divisi : *Spermatophyta*
 Kelas : *Dicotyledoneae*
 Ordo : *Myrtales*
 Famili : *Myrtaceae*
 Genus : *Syzygium*
 Spesies : *Syzygium polyanthum*

(Silalahi, 2017).



Gambar 2. 5 Daun Salam (Warta et al., 2016).

2.3.2. Morfologi Daun Salam

Tanaman daun salam biasanya daunnya digunakan dalam aplikasi kuliner. Ketinggian tanaman teluk pada umumnya berkisar antara lima hingga delapan ratus meter di atas permukaan laut (Silalahi, 2017). Beberapa ciri yang membedakan daun salam antara lain permukaannya yang gundul dan daun tunggal yang tersusun berlawanan. Panjang tangkai daun bisa mencapai 12 mm, dan ukuran helaian daun berkisar antara 5-16 cm x 2,5-7 cm, lonjong-elips (memanjang) hingga lanset.

Biasanya terlihat pada bagian bawah daun, namun kadang terlihat pada ketiak daun (*axillary*), bunganya berbentuk kelopak dengan panjang 2-8 cm. Bunga putihnya sesil, harum, dan biseksual. Kelopak berbentuk cangkir dengan empat lobus persisten dan empat kelopak bebas berwarna putih berukuran panjang empat milimeter (2,5–3,5 cm). Empat kelompok benang sari berwarna oranye-kuning berukuran diameter sekitar 3 mm. Buah salam juga merupakan buah *berry* yang memiliki 1 biji dengan diameter buah hingga 12 mm yang berwarna merah hingga ungu kehitaman. *Syzygium polyanthum* digunakan sebagai peneduh, sedangkan daunnya dapat digunakan sebagai penyedap masakan maupun obat-obatan herbal (Silalahi, 2017).

2.3.3. Kandungan Daun Salam

Komponen utama yang terdapat pada daun salam antara lain seperti flavonoid, tanin, dan saponin. Selain sifat anti inflamasi dan antioksidan, daun salam juga mengandung vitamin A, C, dan E. Sifat anti inflamasi dari kandungan tanin dan saponin pada daun salam dapat menghambat produksi sitokin pro inflamasi melalui berbagai jalur, sehingga menghentikan proses peradangan. Bahan kimia polifenol yang dikenal dengan nama flavonoid antara lain antosianidin, kalkon, katekin, isoflavon, flavonol, dan flavonon (Arifin et al., 2018). Tidak adanya gugus hidroksil pada atom C-3 membedakan flavon dengan flavonol. Apigenin dan luteolin adalah dua flavon yang umum. Buah-buahan dan sayur-sayuran, antara lain makanan nabati, kaya akan

flavonoid yang memiliki sifat anti inflamasi. Dalam mencegah peradangan, flavonoid bekerja sebagai antiinflamasi dengan menurunkan produksi sitokin pro-inflamasi dengan menghambat langsung TLR4. Hal ini memastikan bahwa NF- κ B tidak mengaktifkan kerja makrofag (Arifin et al., 2018).

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun salam dapat digunakan sebagai antiinflamasi telah diujikan pada dosis bervariasi sebesar 50mg, 150 mg, dan 250 mg, diberikan 30 menit sebelum induksi. Kandungan ekstrak daun salam akan dioksidasi oleh radikal sehingga menghasilkan radikal yang lebih stabil dan tidak reaktif, sehingga mampu menstabilkan ROS dengan bereaksi dengan senyawa reaktif dan lebih stabil. Flavonoid terpilih bisa langsung menangkap superoksida, sedangkan flavonoid lainnya bisa menangkap turunan radikal oksigen yang sangat reaktif disebut *peroxynitrit*. Kemampuan penangkapan karena aktivitas inhibitorynya pada enzim xantin oksidase. Dengan menangkap radikal, flavonoid dapat menghambat oksidasi LDL hingga mungkin memiliki tindakan pencegahan melawan aterosklerosis (Bustanul & Sanusi, 2018)

Dosis ekstrak daun salam yang digunakan sebagai antiinflamasi adalah 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB yang terbukti menurunkan volume edema saat terjadi inflamasi. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa kandungan pada ekstrak daun salam dapat menghambat mediator-mediator inflamasi (Rahayu, 2021).

2.4. Karagenan

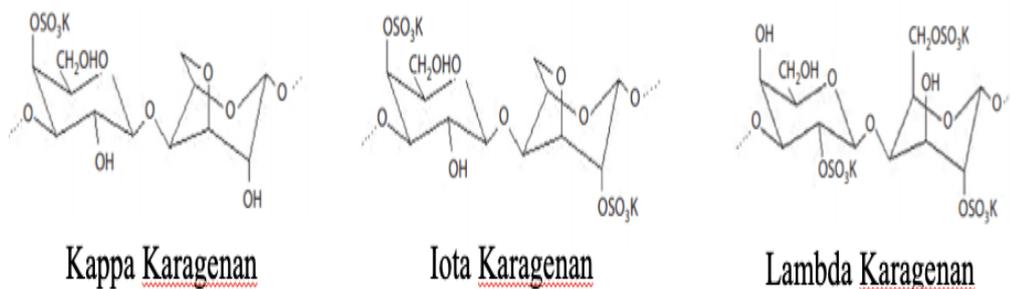
2.4.1. Definisi Karagenan

Rumput laut merah dan ganggang laut yang termasuk dalam kelas Rhodophyta mengandung karagenan, sejenis polisakarida galaktan, sebagai komponen matriks antar sel. Rumput laut mengandung karagenan, yang bersifat hidrofilik dan agar-agar serta memungkinkannya beradaptasi terhadap tekanan air dan pergerakan gelombang yang berbeda. Karagenan menstabilkan, mengentalkan, dan mengatur viskositas; itu juga dapat terurai secara hayati (Prihastuti & Abdassah, 2019)

Metode ekstraksi dalam air atau larutan, bersama dengan alkali untuk mengawetkan strukturnya, dapat digunakan untuk memproduksi karagenan. Kelemahan metode ini antara lain kesulitan ekstraksi karagenan dalam penyaringan karena viskositas produk lebih tinggi dibandingkan larutan. Pembersihan rumput laut untuk menghilangkan garam dan biota laut merupakan praktik umum sebelum ekstraksi (Necas & Bartosikova, 2013).

2.4.2. Struktur Karagenan

Tiga variasi utama karagenan diidentifikasi berdasarkan perbedaan strukturnya (Gambar 2.6), yaitu: kappa (κ), iota (ι), dan lambda (λ).



Gambar 2. 6 Struktur Karagenan (Necas & Bartosikova, 2013).

a) Kappa Karagenan

Menampilkan 3,66 unit D-galaktosa anhidro dan 4 unit D-galaktosa sulfat. Selain D-galaktosa 6 sulfat ester dan 3,6 anhidro D-galaktosa 2 sulfat ester, karagenan sering kali mengandung beberapa zat lain. Memiliki gugus 6-sulfat dalam karagenan dapat mengurangi pembentukan gel, tetapi menambahkan alkali dapat membuat gugus 6-sulfat mengalami transeliminasi, menghasilkan bentuk 3,6 anhidro Dgalaktosa.

b) Iota Karagenan

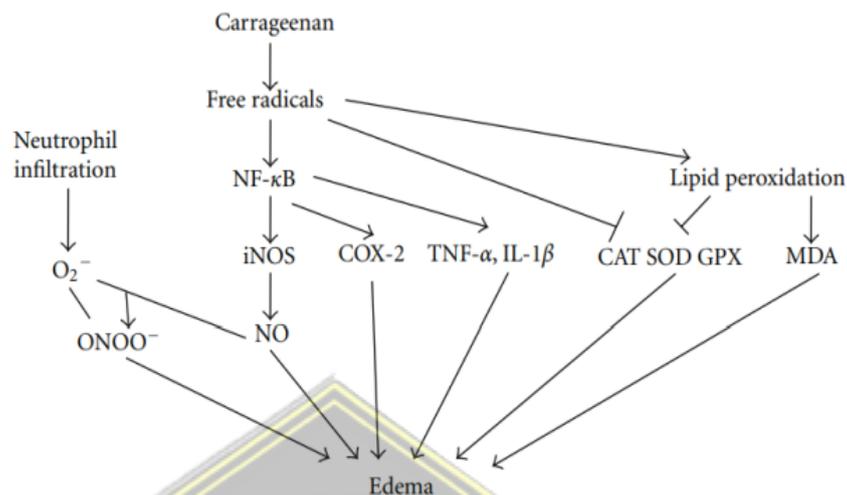
Karakteristik Iota karagenan meliputi empat ester sulfat untuk setiap residu D-galaktosa dan dua ester sulfat untuk setiap gugus 3,6 anhidro D-galaktosa. Berbeda dengan kapa karagenan, kedua gugus ester sulfat tersebut tetap ada setelah perlakuan basa.

c) Lamda Karagenan

Lamda karagenan berbeda dengan kapa dan Iota karagenan, karena memiliki sebuah residu disulfat α (1,4) D-galaktosa.

(Prihastuti & Abdassah, 2019).

2.4.3. Karagenan untuk Induksi Inflamasi



Gambar 2. 7 Karagenan dalam Inflamasi (Necas & Bartosikova, 2013.)

Beberapa jalur dapat diidentifikasi dimana karagenan dapat menginduksi peradangan, yang bermanifestasi sebagai edema (Gambar 2.7). Sitokin inflamasi dapat dilepaskan ketika karagenan mengaktifkan reseptor seperti tol (TLRs). Mekanisme induksi COX-2, yang menghasilkan produksi prostaglandin, merupakan jalur potensial lain untuk patogenesis inflamasi. Ketika tubuh melepaskan prostaglandin, mereka berinteraksi dengan jaringan di sekitarnya, menyebabkan perubahan vaskular pada pembuluh darah dan, akhirnya edema (Necas & Bartosikova, 2013).

Karagenan sudah banyak digunakan sebagai penginduksi inflamasi. Induksi dibuat dengan memberikan karagenan sebesar 0,1 ml atau dosis 1% selama 24 jam (Suryandari et al.,2021). Karagenan dapat memicu produksi *nitric oxide* yang merupakan mediator inflamasi akut. Penelitian mengungkapkan bahwa histamin, serotonin,

dan bradikinin adalah mediator yang dapat dideteksi pada fase awal inflamasi akibat induksi karagenan. Prostaglandin mempengaruhi peningkatan permeabilitas vaskular dan terdeteksi pada fase akhir inflamasi. Inflamasi lokal atau sistemik akan terjadi peningkatan dari *pro-inflammatory cytokine* yaitu TNF- α , IL-1, dan IL-6 (Necas & Bartosikova, 2013).

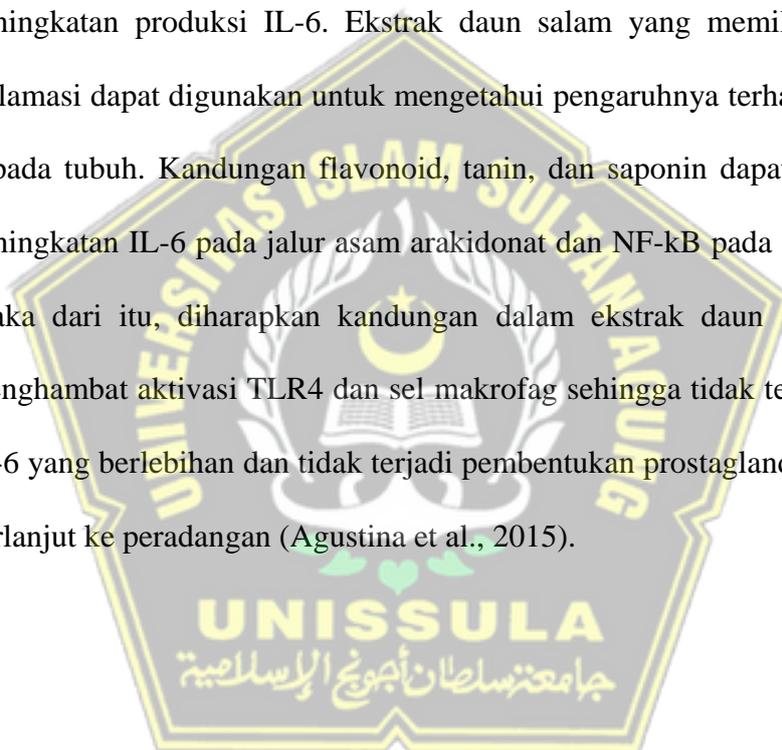
2.5. Hubungan Ekstrak Daun Salam terhadap Kadar IL-6 pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang diinduksi Karagenan

Ekstrak daun salam memiliki kandungan utama flavonoid, tanin, dan saponin yang dapat memberikan efek anti-inflamasi. Flavonoid memiliki kemampuan untuk menghambat produksi sitokin pro-inflamasi melalui penghambatan TLR4, NF- κ B, dan COX sehingga proses inflamasi tidak terjadi (Myers et al., 2019).

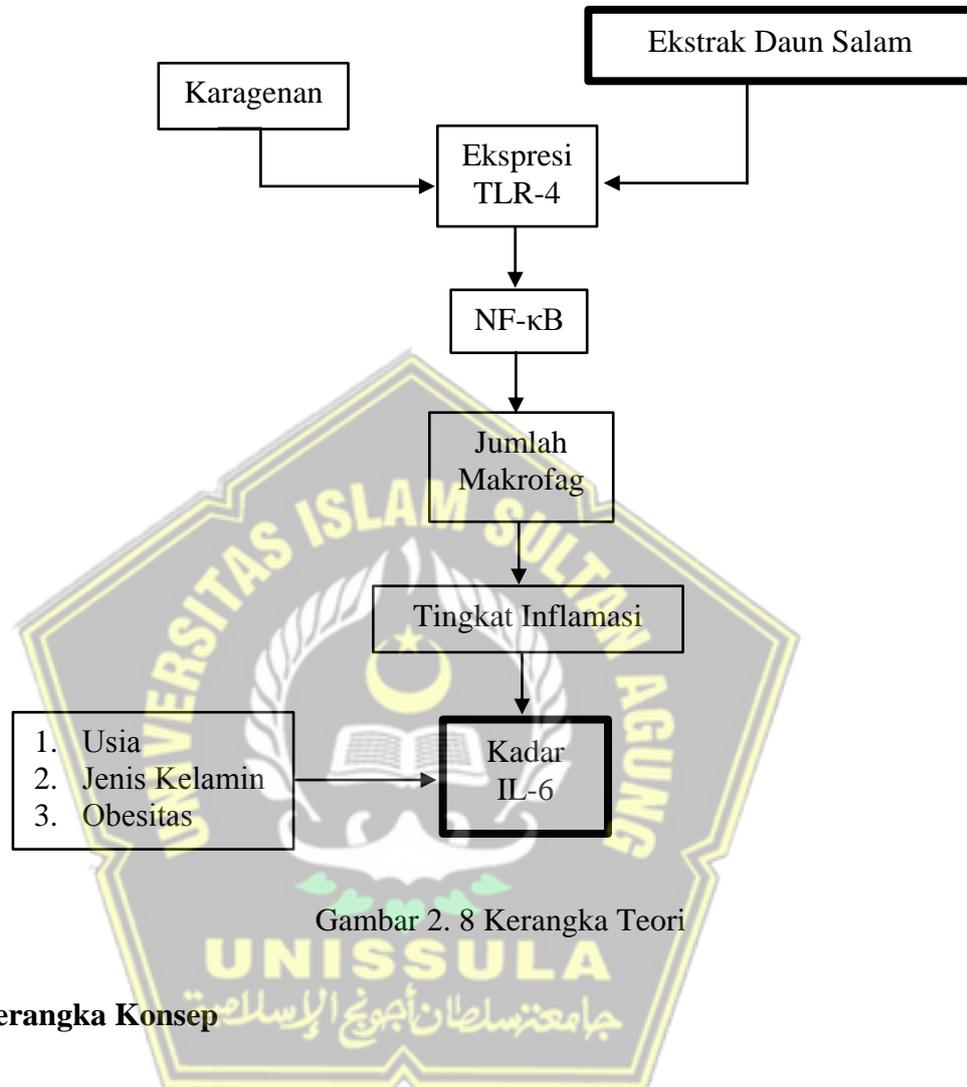
Inflamasi merupakan suatu reaksi yang merangsang pelepasan mediator-mediator inflamasi akibat adanya antigen atau zat asing lain yang masuk ke dalam tubuh. IL-6 menjadi salah satu sitokin utama yang terlibat pada proses inflamasi (Kumar & Abbas et al., 2016). Induksi karagenan dapat memicu proses inflamasi dengan mengaktifkan TLR4 sehingga mengaktifasi NF- κ B dan sel makrofag, kemudian mengirimkan sinyal untuk memproduksi IL-6 lebih banyak sebagai respon perlawanan imun dalam melawan patogen. Peningkatan produksi IL-6 dapat memicu proses siklooksigenase yaitu jalur arakidonat. Asam arakidonat berperan dalam biosintesis prostaglandin yang

termasuk ke dalam proses terjadinya inflamasi. Siklooksigenase-1(COX-1) berperan pada fungsi fisiologis normal misalnya untuk melindungi mukosa pencernaan. Siklooksigenase-2 (COX-2) merupakan enzim yang keberadaanya dipengaruhi oleh rangsangan sel imun di jaringan yang berupa sinyal dari sitokin dan beberapa kondisi patologis lainnya (Katzung, 2012).

Tubuh yang sedang mengalami inflamasi akan ditandai dengan peningkatan produksi IL-6. Ekstrak daun salam yang memiliki efek anti-inflamasi dapat digunakan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap kadar IL-6 pada tubuh. Kandungan flavonoid, tanin, dan saponin dapat menghambat peningkatan IL-6 pada jalur asam arakidonat dan NF-kB pada saat inflamasi. Maka dari itu, diharapkan kandungan dalam ekstrak daun salam mampu menghambat aktivasi TLR4 dan sel makrofag sehingga tidak terjadi produksi IL-6 yang berlebihan dan tidak terjadi pembentukan prostaglandin yang dapat berlanjut ke peradangan (Agustina et al., 2015).

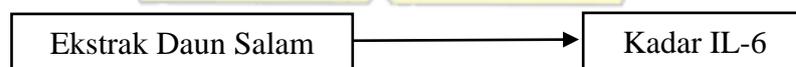


2.6. Kerangka Teori



Gambar 2. 8 Kerangka Teori

2.7. Kerangka Konsep



Gambar 2. 9 Kerangka Konsep

2.8. Hipotesis

Pemberian ekstrak daun salam berpengaruh terhadap kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi karagenan.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini dipilih dengan menggunakan jenis penelitian laboratorik eksperimental dengan rancangan penelitian “*post test only control group design*”. Penelitian eksperimen akan melihat pengaruh pemberian ekstrak daun salam terhadap kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi karagenan.

3.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel

3.2.1.1. Variabel Bebas

Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*)

3.2.1.2. Variabel Tergantung

Kadar Interleukin – 6 (IL-6)

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1. Ekstrak Daun Salam

Ekstrak daun salam adalah hasil ekstraksi daun salam (*Syzygium polyanthum*) hijau tua yang telah dikeringkan hingga membentuk serbuk, kemudian diekstraksi dengan pelarut etanol 70% yang diberikan ke hewan coba. Ekstrak

daun salam diberikan secara per oral menggunakan sonde dengan dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB.

Skala : Ordinal

3.2.2.2. Kadar IL-6

IL-6 merupakan sitokin pro-inflamasi yang diproduksi oleh makrofag ketika terjadi inflamasi. Kadar IL-6 dinyatakan dalam satuan pg/mL dan diukur menggunakan ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) melalui pengambilan sampel darah.

Skala : Rasio

3.3. Populasi dan Sampel

3.3.1. Populasi

Populasi yang terdapat pada penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipelihara di Laboratorium Gizi Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gadjah Mada.

3.3.2. Sampel

Sampel penelitian diambil secara acak sesuai standar yang diterapkan oleh WHO terkait penentuan besar sampel yaitu 5 ekor tikus per kelompok dengan rumus berikut :

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

$$4(n-4) \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4.7 = 5$$

Keterangan :

p = jumlah kelompok perlakuan

n = jumlah ulangan sampel yang diperlukan

Setiap kelompok akan ditambahkan 1 ekor tikus untuk menghindari *lost to follow*, sehingga jumlah sampel yang diperlukan adalah 24 ekor tikus dengan kriteria berikut :

- a. Kriteria Inklusi sebagai berikut :
 1. Umur : 2 Bulan
 2. Berat badan : 150-200 gram
- b. Kriteria Eksklusi sebagai berikut :
 1. Pernah digunakan untuk eksperimen lain
 2. Memiliki kelainan anatomis
 3. Tikus yang memiliki luka maupun cacat
- c. Kriteria drop out sebagai berikut :
 1. Tikus yang mati selama masa perlakuan.

3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian

3.4.1. Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian yang digunakan ialah sebagai berikut :

1. Kandang hewan coba serta tempat pakan dan minum
2. Timbangan hewan dan timbangan analitik
3. Sonde tikus
4. Rak dan tabung reaksi

5. Kapas steril
6. Mikrohematokrit untuk mengambil sampel darah tikus
7. Sentrifuge
8. Rak kuvet atau kuvet
9. Alat-alat gelas laboratorium (gelas ukur, gelas beker, dll)
10. Pisau
11. Pinset
12. Spuit
13. Gunting
14. Maserator
15. ELISA Kit reader
16. Penguap vakum / *rotatory evaporator*

3.4.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan ialah sebagai berikut :

1. Hewan coba
2. Ekstrak daun salam yang sudah dibuat dan siap digunakan
3. Pakan standar
4. Karagenan 1% (Sigma Aldrich)
5. Aquades
6. Etanol 70%
7. Serum darah tikus

3.5. Cara Penelitian

3.5.1. Pengajuan *Etichal Clearence*

Pengajuan *ethical clearance* penelitian diajukan ke Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran / Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

3.5.2. Pembuatan Ekstrak Daun Salam

Pembuatan ekstrak diawali dengan memilih daun salam (*S.polyanthum*) secara manual. Daun yang dipilih dikumpulkan dan dilakukan pencucian dengan air mengalir kemudian ditiriskan. Daun salam dipotong menjadi bagian yang lebih kecil dan dilanjutkan pengeringan di suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$. Setelah kering, daun salam dihaluskan untuk mendapatkan serbuk simplisia. Pembuatan ekstrak daun salam dilakukan dengan mengekstraksi daun salam dengan etanol 70% dengan perbandingan 1:5 lalu dimaserasi selama 2 hari. Setelah 2 hari hasil rendaman tersebut disaring menggunakan kertas saring dan diekstrak kembali dengan etanol 70% selama 2 hari. Langkah berikutnya filtrat diuapkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 60°C sampai menjadi ekstrak kental daun salam. Semua bahan diaduk sampai homogen dan tidak ada partikel yang berbeda.

(Shafia et al., 2020).

3.5.3. Pemberian Karagenan terhadap Hewan Uji Coba

Penelitian dilakukan menggunakan tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) sebanyak 24 ekor tikus yang berusia 2 bulan

dengan berat badan 150 - 200 gram. Tikus diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari dengan lingkungan sekitar, sebelum perlakuan dipuasakan \pm 18 jam dengan tetap diberi minum dan ditempatkan di kandang tikus yang sudah disiapkan agar sehat dan dapat menyesuaikan kriteria penelitian.

Perlakuan induksi karagenan dilakukan dengan membagi 4 kelompok tikus masing-masing diberikan 6 ekor. Setelah itu disuntikkan karagenan 1% secara sistemik melalui vena lateral ekor tikus lalu diukur kadar IL-6 menggunakan ELISA kit gelombang 450 nm.

(Agustina et al., 2015).

3.5.4. Dosis Penelitian

3.5.4.1. Penetapan Dosis Ekstrak Daun Salam

Suspensi ekstrak etanol daun salam dibuat untuk pemberian dua dosis yaitu 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB.

a. Besaran dosis ekstrak salam 100 mg/kgBB/hari

$$\rightarrow 200/1000 \times 100 = 20 \text{ mg}/200\text{gBB}$$

b. Besaran dosis ekstrak salam 200 mg/kgBB/hari

$$\rightarrow 200/1000 \times 200 = 40 \text{ mg}/200\text{gBB}$$

(Rahayu, 2021).

3.5.4.2. Penetapan Dosis Karagenan

Lambda karagenan ditimbang sebanyak 100 mg kemudian dilarutkan dalam larutan NaCl fisiologis 0,9% hingga volume 10 mL sampai garis tanda batas (untuk ekstraksi 100%).

$$\text{Karagenan } 1\% = 1/100 \times 10 \text{ ml} = 0,1 \text{ ml}$$

(Suryandari et al.,2021).

3.5.5.Pemberian Perlakuan

1. KN : Kelompok uji kontrol normal, tikus putih jantan galur wistar yang mendapat diet pakan standar.
2. KS : Kelompok uji kontrol negatif tikus putih jantan galur wistar yang mendapat diet pakan standar + diinduksi karagenan 1% dosis 0,1 ml.
3. KP1: Kelompok uji perlakuan I, tikus putih jantan galur wistar yang mendapat diet pakan standar + ekstrak daun salam 100 mg/kgBB selama 30 menit + diinduksi karagenan 1% dosis 0,1 ml.
4. KP2: Kelompok uji perlakuan II, tikus putih jantan galur wistar yang mendapat diet pakan standar + ekstrak daun salam 200 mg/kgBB selama 30 menit + diinduksi karagenan 1% dosis 0,1 ml.

3.6. Prosedur Pengambilan Darah Tikus

Pengambilan darah dilakukan pada sinus oribitalis tikus setelah 24 jam induksi karagenan 1% untuk menilai *marker* IL-6. Darah yang sudah diambil dapat dimasukkan dalam tabung yang berisi antikoagulan EDTA.

3.7. Pemeriksaan Kadar Interleukin – 6

- 1) Disiapkan semua reagen, larutan standar dan sampel. kemudian reagen dibiarkan pada suhu kamar sebelum digunakan. Pengujian dilakukan pada suhu kamar.
- 2) Strip dimasukkan dalam bingkai sesuai jumlah yang dibutuhkan dalam pengujian dan strip yang tidak digunakan disimpan pada suhu 2-8°C.
- 3) ditambahkan 50 µL larutan standar pada *well* standar.
- 4) Ditambakan 40 µL sampel pada *well* sampel dan ditambahkan 10 µL antibodi anti-IL-6 pada *well* sampel, kemudian ditambahkan 50 µL streptavidin-HRP pada *well* sampel dan *well* standar.
- 5) Dilakukan pengadukan pada *well* dan *plate* ditutup dengan menggunakan segel.
- 6) *Plate* diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C. Kemudian segel dibuka dan *plate* dicuci menggunakan wash buffer sebanyak 5 kali. Dilanjutkan dengan pencucian *well* dengan 0,35 mL wash buffer selama 30 detik hingga 1 menit pada setiap pencucian. Kemudian *plate* dibiarkan mengering atau dengan menggunakan tissue atau kertas absorben.

- 7) Ditambahkan 50 μ L larutan substrat A dan 50 μ L larutan substrat B pada tiap *well*. Kemudian *plate* ditutup dengan segel baru.
- 8) *Plate* diinkubasi dalam suasana gelap selama 10 menit pada suhu 37°C. Kemudian ditambahkan stop solution sebanyak 50 μ L pada tiap *well* dan terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning.
- 9) Dilakukan analisis kadar IL-6 pada ELISA Kit Reader menggunakan panjang gelombang 450 nm.

3.8. Tempat dan Waktu Penelitian

3.8.1. Tempat Penelitian

3.8.1.1. Perlakuan pada hewan coba (tikus) dilakukan di Laboratorium Gizi Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gadjah Mada (UGM).

3.8.1.2. Proses pembuatan ekstrak daun salam dilakukan di Laboratorium Gizi Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gadjah Mada (UGM).

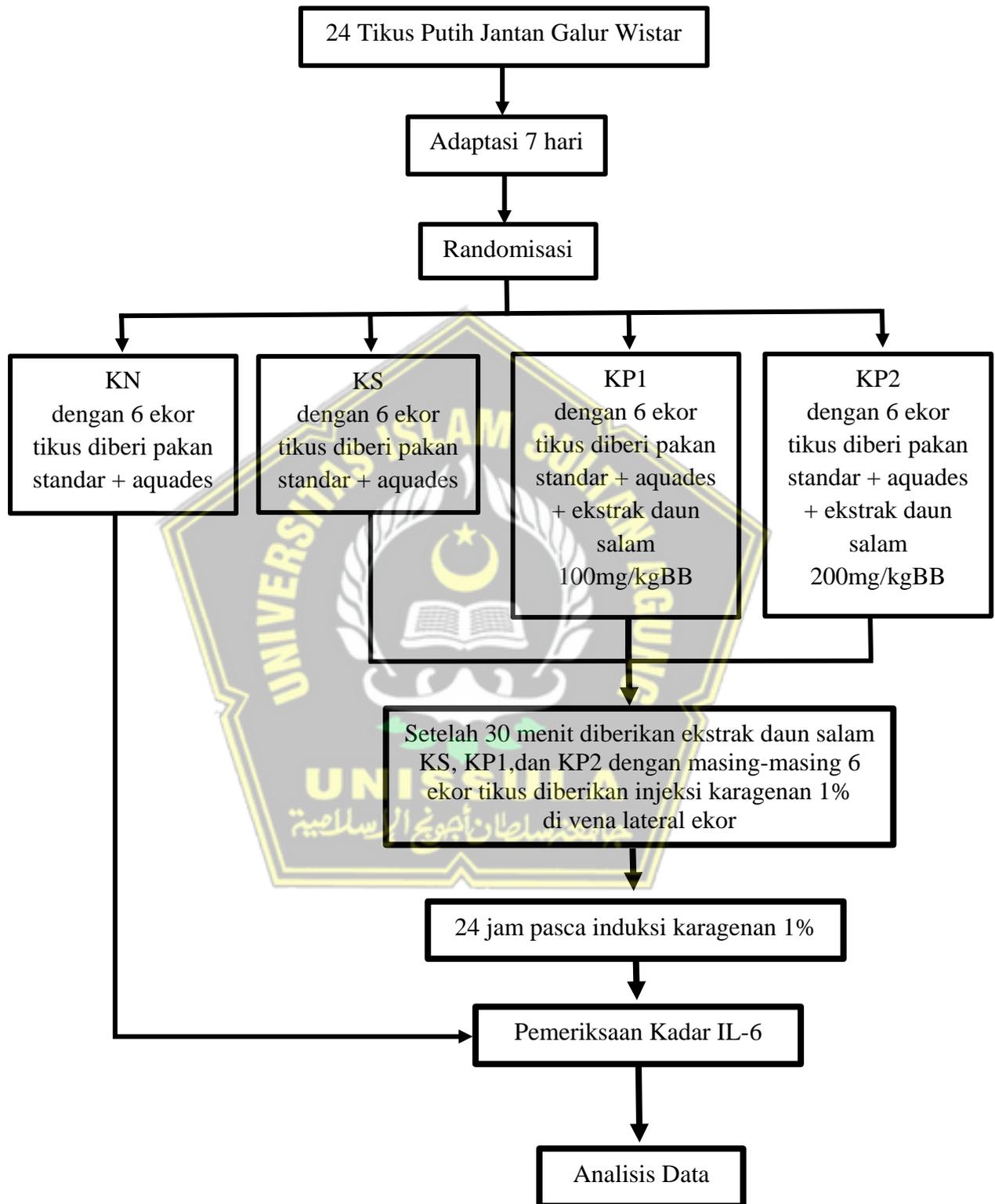
3.8.1.3. Proses penghitungan pemeriksaan kadar IL-6 dilakukan di Laboratorium Gizi Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gadjah Mada (UGM).

3.8.2. Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilakukan mulai bulan Agustus 2023 dan pemeriksaan kadar IL-6 dilakukan setelah perlakuan pada masing-masing kelompok.



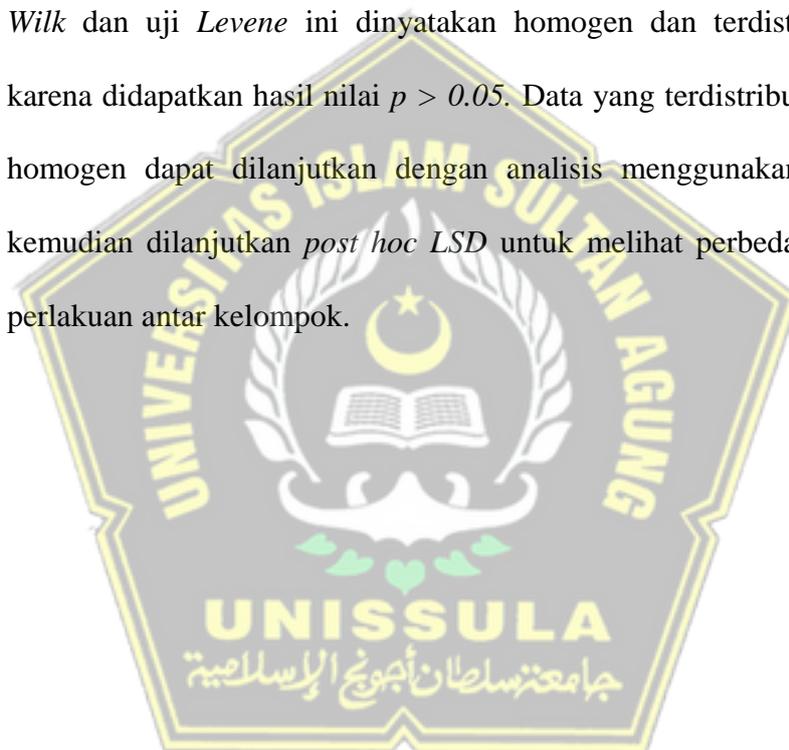
3.9. Alur Penelitian



Gambar 2. 10 Alur Penelitian

3.10. Analisis Data

Data didapatkan dengan melakukan penghitungan kadar IL-6 dengan metode ELISA. Uji diawali dengan uji parametrik *Shapiro-Wilk* dan uji *Levene* yang dipilih untuk mengetahui dari normalitas persebaran dan homogenitas data serta karena jumlah sampel ≤ 50 dan skala data dari variabel IL-6 adalah rasio maka kedua uji tersebut dipilih. Uji *Shapiro-Wilk* dan uji *Levene* ini dinyatakan homogen dan terdistribusi normal karena didapatkan hasil nilai $p > 0.05$. Data yang terdistribusi normal dan homogen dapat dilanjutkan dengan analisis menggunakan uji *ANOVA* kemudian dilanjutkan *post hoc LSD* untuk melihat perbedaan rerata tiap perlakuan antar kelompok.



BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

4.1.1. Deskripsi Data

Penelitian dilakukan menggunakan 24 ekor tikus putih jantan galur wistar sebagai hewan uji coba yang dibagi menjadi 4 kelompok secara acak. Kelompok normal (KN) diberi pakan standar dan aquades; kelompok sakit (KS) diberi pakan standar, aquades, dan karagenan 1%; kelompok perlakuan 1 (KP1) diberi pakan standar, aquades, ekstrak daun salam 100mg/kgBB, dan karagenan 1%; kelompok perlakuan 2 (KP2) diberi pakan standar, aquades, ekstrak daun salam 200mg/kgBB, dan karagenan 1%. Hasil pemeriksaan kadar IL-6 pada setiap kelompok ditunjukkan pada gambar 4.1.



Gambar 4.1. Diagram Batang Data Rerata Kadar IL-6 (pg/ml)

Rerata kadar IL-6 pada Gambar 4.1 memperlihatkan kadar IL-6 tertinggi pada kelompok sakit (KS) dengan rerata sebesar 131,06 pg/ml. Kelompok perlakuan, KP1 dan KP2 memiliki rerata kadar IL-6 yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok sakit (KS). Perbedaan rerata kadar IL-6 antara kelompok perlakuan KP2 terlihat lebih rendah dibandingkan kelompok perlakuan KP1.

4.1.2. Analisa Statistik

Tabel 4. 1 Hasil Analisa Uji Normalitas, Homogenitas, One Way Anova

Kelompok	<i>p-value</i>		
	Normalitas	Homogenitas	One Way Anova
KN	0,456*	0,082**	0,000
KS	0,866*		
KP1	0,829*		
KP2	0,755*		

Keterangan : * = distribusi data normal; ** = varian data homogen.

Hasil uji normalitas pada tiap kelompok terpenuhi ($p > 0,05$) dengan varian data homogen ($p > 0,05$), selanjutnya dilakukan uji parametrik *One Way Anova* yang didapatkan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$), dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada rerata kadar IL-6 keempat kelompok tersebut. Analisis lanjut untuk mengetahui perbedaan rerata kadar IL-6 antar kelompok dengan uji analisis *post hoc LSD*.

Tabel 4. 2 Hasil analisa statistik kadar IL-6 antar kelompok uji

Kelompok		Post Hoc LSD
KN	KS	0.000
	KP1	0.000
	KP2	0.000
KS	KP1	0.000
	KP2	0.000
KP1	KP2	0.000

Keterangan : Terdapat perbedaan rerata kadar IL-6 yang signifikan ($p < 0,05$) pada semua pasangan kelompok.

Hasil uji *Post Hoc* pada tabel 4.2 menunjukkan antara kelompok normal (KN) dengan kelompok sakit (KS) berbeda signifikan ($p < 0,05$) dimana rerata kadar IL-6 pada kelompok sakit lebih tinggi dengan rerata 131,09 pg/ml. Perbedaan kelompok sakit (KS) dengan kelompok perlakuan 1 (KP1) berbeda signifikan ($p < 0,05$) dimana rerata kadar IL-6 kelompok perlakuan 1 (KP1) lebih rendah dengan rerata sebesar 89,56 pg/ml. Hal yang sama juga ditemukan pada kelompok perlakuan 2 (KP2) yang berbeda signifikan ($p < 0,05$). Namun, apabila dibandingkan antar kelompok perlakuan KP1 dan KP2 didapatkan rerata IL-6 pada kelompok KP2 lebih rendah dan memiliki perbedaan rerata yang signifikan ($p < 0,05$).

4.2. Pembahasan

Hasil perbandingan rerata antara kelompok normal (KN) dan kelompok sakit (KS) memperlihatkan rerata kadar IL-6 kelompok sakit (KS) lebih tinggi ($p < 0,05$), yang menunjukkan bahwa terjadi proses inflamasi sistemik pada tikus putih jantan galur wistar setelah diinduksi karagenan 1%.

Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Myers (2019) bahwa pemberian karagenan dapat menyebabkan inflamasi karena mengaktifkan TLR-4 yang dapat memicu pelepasan sitokin pro-inflamasi melalui aktivasi NF- κ B, sehingga kadar IL-6 dalam darah meningkat (Myers et al., 2019). Hal yang sama, pada penelitian Necas (2013) memilih pemberian karagenan sebagai induktor inflamasi karena karagenan dapat memicu lepasnya mediator inflamasi yang dapat bereaksi terhadap antibodi hewan uji sehingga timbul inflamasi (Necas & Bartosikova, 2013).

Efek pemberian ekstrak daun salam dapat dilihat dari perbandingan kelompok perlakuan (KP1 dan KP2) dan kelompok sakit (KS), didapatkan rerata kadar IL-6 kelompok perlakuan lebih rendah dan berbeda secara signifikan ($p < 0,05$). Hal ini menandakan ekstrak daun salam pada penelitian ini memiliki potensi sebagai anti-inflamasi. Penelitian Agustina (2015) juga membuktikan bahwa ekstrak daun salam dapat menurunkan tingkat inflamasi, hal ini disebabkan karena ekstrak daun salam memiliki kandungan flavonoid, tannin, dan saponin yang bekerja menghambat aktivasi TLR-4 sehingga mampu menekan peningkatan sitokin pro inflamasi (Agustina et al., 2015).

Perbandingan kelompok perlakuan KP1 dan KP2 yang paling banyak menurunkan IL-6 adalah KP2, karena dosis ekstrak daun salam yang digunakan lebih besar tetapi hasil rerata kadar IL-6 belum bisa menyerupai rerata kadar IL-6 pada KN. Kandungan yang terdapat pada ekstrak daun salam berpotensi untuk menghambat aktivasi TLR-4 dan NF- κ B sehingga jalur siklooksigenase akan diblok dan mengurangi produksi sitokin pro-

inflamasi (Al-Khayri et al., 2022). Ekstrak daun salam bekerja dengan menghambat enzim pro-inflamasi seperti siklooksigenase (COX) dan lipooksigenase (LOX). Ketika terjadi cedera jaringan, asam arakidonat akan melepaskan prostaglandin dengan bantuan dari enzim siklooksigenase dan lipooksigenase, apabila kedua enzim tersebut dihambat maka mediator-mediator inflamasi pun ikut terhambat (Suryandari et al., 2021). Dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak daun salam yang diberikan semakin baik pula efek antiinflamasi yang didapatkan.

Hasil dari penelitian ini menyatakan bahwa ekstrak daun salam memberikan pengaruh terhadap kadar IL-6 terhadap inflamasi yang diakibatkan oleh induksi karagenan. Keterbatasan dalam penelitian ini yaitu tidak dilakukan uji kandungan ekstrak daun salam sehingga peneliti tidak dapat mengetahui kandungan apa yang paling besar pengaruhnya terhadap penurunan tingkat inflamasi yang terjadi. Keterbatasan lainnya adalah dosis ekstrak daun salam sebagai antiinflamasi yang diberikan kurang bervariasi sehingga perlu ditingkatkan untuk optimalisasi dosis.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

- 5.1.1. Rerata kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar yang mendapat diet pakan standar adalah sebesar 63,47 pg/ml.
- 5.1.2. Rerata kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi oleh karagenan adalah sebesar 131,09 pg/ml.
- 5.1.3. Rerata kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi oleh karagenan + ekstrak salam 100 mg/kgBB adalah sebesar 89,56 pg/ml.
- 5.1.4. Rerata kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi oleh karagenan + ekstrak salam 200 mg/kgBB adalah sebesar 77,95 pg/ml.
- 5.1.5. Terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) pada tiap kelompok penelitian.
- 5.1.6. Ekstrak daun salam berpengaruh terhadap kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi karagenan.

5.2. Saran

- 5.2.1. Perlu dilakukan uji kandungan ekstrak daun salam (flavonoid, saponin, tanin) untuk mengetahui senyawa yang paling berpengaruh terhadap kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi karagenan.
- 5.2.2. Perlu dilakukan penelitian mengenai penambahan dosis ekstrak daun salam untuk mengetahui efek optimal terhadap kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi karagenan.



DAFTAR PUSTAKA

- Abbas K, A., H. Lichtman, A., & Pillai, S. (2016). *Imunologi Dasar Abbas Fungsi dan Kelainan Sistem Imun* (6th Ed.). Elsevier.
- Agustina, R., Indrawati, D. T., & Masruhim, M. A. (2015). Aktivitas Ekstrak Daun Salam (*Eugenia Polyantha*) Sebagai Antiinflamasi Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*). *Journal Of Tropical Pharmacy And Chemistry*, 3(2), 120–123. <https://doi.org/10.25026/jtpc.v3i2.96>
- Bustanul, A., & Sanusi, I. (2018). Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21–29.
- Darussalam, M., & Kartika Rukmi, D. (2016). Peran Air Rebusan Daun Salam (*Syzgium Polyanthum*) Dalam Menurunkan Kadar Asam Urat. *Media Ilmu Kesehatan*, 5(2), 83–91. <https://doi.org/10.30989/mik.v5i2.55>
- Fritsch, J., Garces, L., Quintero, M. A., et al. (2021). Low-Fat, High-Fiber Diet Reduces Markers of Inflammation and Dysbiosis and Improves Quality of Life in Patients With Ulcerative Colitis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 19(6), 1189-1199.e30. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2020.05.026>
- Germolec, D. R., Shipkowski, K. A., Frawley, R. P., et al. (2018). Markers of Inflammation. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 1803, pp. 57–79). Humana Press Inc. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8549-4_5
- Harismah, K., & Chusniatun. (2016). Pemanfaatan Daun Salam (*Eugenia Polyantha*) Sebagai Obat Herbal Dan Rempah Penyedap Makanan. *WARTA LPM*.
- Katzung, B. G., Masters, S. B., & Trevor, A. J. (2013). Farmakologi Dasar & Klinik Edisi 12. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Issue 9). <http://www.usdoj.gov/dea/pubs/scheduling.html>
- Kumar, V., Abbas, A. k., & Aster, J. C. (2016). Robbins Basic Phatology. In *Elsevier*.
- Lim, H., Heo, M. Y., & Kim, H. P. (2019). Flavonoids: Broad Spectrum Agents on Chronic Inflammation. In *Biomolecules and Therapeutics* (Vol. 27, Issue 3, pp. 241–253). Korean Society of Applied Pharmacology. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2019.034>
- Liu, Q. Q., Cheng, A., Wang, Y., et al. (2020). Cytokines and Their Relationship with the Severity and Prognosis of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Retrospective Cohort Study. *BMJ Open*, 10(11). <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-041471>

- Mujayanto, R., Shafia, A., & Feranisa, A. (2020). Bay Leaf (*Syzygium Polyanthum*) Extract Effect On IL-10 Expression In Oral Ulcer. *ODONTO: Dental Journal*, 7(1), 53. <https://doi.org/10.30659/odj.7.1.53-59>
- Murphy, S. P., Kakkar, R., McCarthy, C. P., et al. (2020). Inflammation in Heart Failure: JACC State-of-the-Art Review. In *Journal of the American College of Cardiology* (Vol. 75, Issue 11, pp. 1324–1340). Elsevier USA. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.01.014>
- Myers, M. J., Deaver, C. M., & Lewandowski, A. J. (2019). Molecular Mechanism of Action Responsible for Carrageenan-Induced Inflammatory Response. *Molecular Immunology*, 109, 38–42. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2019.02.020>
- Necas, J., & Bartosikova, L. (2013). Carrageenan: A Review. In *Veterinarni Medicina* (Vol. 58, Issue 4, pp. 187–205). <https://doi.org/10.17221/6758-VETMED>
- Niu, W., Liu, Y., Qi, Y., et al. (2012). Association of Interleukin-6 Circulating Levels with Coronary Artery Disease: A Meta-Analysis Implementing Mendelian Randomization Approach. *International Journal of Cardiology*, 157(2), 243–252. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2011.12.098>
- Noack, M., & Miossec, P. (2017). Selected Cytokine Pathways in Rheumatoid Arthritis. In *Seminars in Immunopathology* (Vol. 39, Issue 4, pp. 365–383). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00281-017-0619-z>
- Nuning, N. F., Saranani, S., Agastia, G., et al. (2022). Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena Odorata* L.) Dan Pengaruhnya Terhadap Kadar Interleukin 6 (IL-6) Pada Tikus Jantan Galur Wistar. *Jurnal Pharmacia Mandala Waluya*, 1(2), 54–67. <https://doi.org/10.54883/jpmw.v1i2.24>
- Nurwidya, F., Zulfiyah, I. A., & Hidayat, M. (2021). Interleukin-6 Dan Potensi Terapi Inhibisi Interleukin-6 Dalam Tata Laksana Covid-19. *Unram Medical Journal*, 10(3), 537–541. <https://doi.org/10.29303/jku.v10i3.595>
- Prihastuti, D., & Abdassah, M. (2019). Karagenan Dan Aplikasinya Di Bidang Farmasetika. *Farmasetika.Com* (Online), 4(5). <https://doi.org/10.24198/farmasetika.v4i5.23066>
- Rahmawati, A. (2014). Mekanisme Terjadinya Inflamasi Dan Stres Oksidatif Pada Obesitas. *El-Hayah*, 5(1), 1. <https://doi.org/10.18860/elha.v5i1.3034>
- Sherwood L. (2012). *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem Edisi 6*. Jakarta: EGC
- Silalahi, M. (2017). *Syzygium polyanthum(Wight) Walp. (Botani, Metabolit Sekunder dan Pemanfaatan)*. JDP 10 (1), 1-16.

- Tanaka, T., Narazaki, M., & Kishimoto, T. (2014). IL-6 in Inflammation, Immunity, And Disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 6(10). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a016295>
- Tanaka, T., Narazaki, M., & Kishimoto, T. (2016). Immunotherapeutic Implications of IL-6 Blockade for Cytokine Storm. In *Immunotherapy* (Vol. 8, Issue 8, pp. 959–970). Future Medicine Ltd. <https://doi.org/10.2217/imt-2016-0020>
- Taniguchi, K., & Karin, M. (2014). IL-6 and Related Cytokines as the Critical Lynchpins between Inflammation and Cancer. In *Seminars in Immunology* (Vol. 26, Issue 1, pp. 54–74). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2014.01.001>
- Wijayanti, E., Retnoningrum, D., & Hendrianintyas, M. (2019). Hubungan Petanda Inflamasi Dan Hemoglobin Pada Obesitas Di Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Periode Mei-September 2018. *Intisari Sains Medis*, 10(1), 242–246. <https://doi.org/10.15562/ism.v10i1.347>
- Al-Khayri, J. M., Sahana, G. R., Nagella, P., Joseph, B. V., dan Alessa, F. M. 2022. Flavonoids as potential anti-inflammatory molecules. *Molecules*. 27 (9): pp. 1-24. <https://doi.org/10.3390/molecules27092901>
- Suryandari, S. S., De Queljoe, E., & Datu, O. S. (2021). Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Sesewanua (*Clerodendrum squamatum* Vahl.) Terhadap Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Yang Diinduksi Karagenan. *Pharmacon*. 10 (3), 1025-1032.
- Rahayu, R. (2021). Uji Aktivitas Ekstrak Metanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Sebagai Antiinflamasi Pada Edema Kaki Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar Yang Diinduksi Karagenin. Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi.
- Arango Duque, G., & Descoteaux, A. (2014). Macrophage Cytokines: Involvement in Immunity and Infectious Diseases. *Frontiers in Immunology*, 5. doi:10.3389/fimmu.2014.00491.
- Mitchell R., Kumar V., Abbas A. K. et al. (2015). Inflammation and Repair, In : Robbins and Cotran Pathologic Basis Of Disease, Philadelphia: Elsevier Saunders.
- Ramadhani, N & Sumiwi, S.A. (2016). Aktivitas Antiinflamasi Berbagai Tanaman Diduga Berasal dari Flavonoid [Versi elektronik]. *Farmaka*, 14 (4), 5-10.