

# BAB I

## PENDAHULUAN

### Latar Belakang

Obesitas merupakan penumpukan lemak yang berlebihan akibat ketidak seimbangan asupan energi (energi intake) dengan energi yang digunakan (energi expenditure) dalam waktu lama. Beberapa mekanisme fisiologis berperan penting dalam tubuh individu untuk menjaga keseimbangan antara asupan energi dengan keseluruhan energi yang digunakan dan untuk menjaga berat badan stabil. Hal ini akan mengakibatkan perubahan pada sistem pertahanan tubuh dan kelainan pada organ organ vital lain seperti jantung, ginjal dan pembuluh darah dan dapat menyebabkan penyakit diabetes, kanker, Chronic kidney disease (CKD) dan kelainan metabolik lainnya. Obesitas ditemukan pada orang dewasa, remaja dan anak-anak. Lebih dari 1,9 miliar orang dewasa yang overweight dan lebih dari 650 juta orang dewasa di dunia mengalami obesitas (WHO 2021). Menurut WHO obesitas menyebabkan kematian pada 2.8 Juta orang dewasa setiap tahunnya (WHO, 2021)

Beberapa tahun terakhir, tanaman obat telah menarik perhatian komunitas farmasi dan ilmiah sebagai sumber zat antimikroba. (Junita, dkk, 2023). Salah satunya adalah penggunaan propolis sebagai terapi, dimana Propolis (bee glue) adalah substansi resin (getah) yang diambil dan diakumulasi oleh lebah *Apis mellifera* dari beberapa sumber tumbuhan (Ramos,dkk, 2007; Nilawati, dkk,2016). Dari berbagai penelitian saat ini, ditemukan bahwa propolis bermanfaat dalam dunia kesehatan dengan berbagai efek terapeutik diantaranya anti inflamasi, antioksidan, antikarsinogenik, antibakteri, antifungal, antiprotozoa, antivirus, antidiabetik (Paspuleti, dkk, 2017, Feni, dkk, 2022). Senyawa utama yang berperan dalam fungsi tersebut adalah flavonoid (Ramos, dkk 2007). Propolis juga telah teruji menjadi agen potensial anti inflamasi dan agen untuk menurunkan produksi radikal bebas sehingga dipikirkan dapat bermanfaat untuk mengobati penyakit-penyakit inflamasi (Yangi, dkk, 2018). Pada uji secara in vivo untuk melihat manfaat propolis terhadap sistem pernapasan dalam pertahanan tikus terhadap asap rokok, didapat kesimpulan bahwa pemberian propolis dapat menormalkan parameter biokimiawi inflamasi dan stress oksidatif termasuk nitrit, myeloperoksidase, serta aktivitas n diantaranya superoxide dismutase, katalase, dan glutathion peroxidase ).



Jaringan adiposa yang berlebihan pada obesitas mengeluarkan angiotensin 2 (ACE2), yang merupakan hormon dengan sifat inflamasi dan dihasilkan di jalur sistem renin-angiotensin (RAS). Obesitas dan resistensi insulin sangat terkait dengan aktivitas RAS. Selain itu, stres oksidatif dan respons inflamasi serta disfungsi mitokondria memodulasi fungsi RAS. Ketika fungsi RAS terganggu, hal ini menyebabkan disfungsi yang meluas di sebagian besar jaringan, melalui proses berbahaya yang disebutkan di atas (Patel dan Verma, 2020). Obesitas berhubungan erat dengan kelainan metabolisme yang disebabkan adanya stress dan disfungsi pada jaringan. Beberapa respon tubuh yang dapat terjadi akibat obesitas antara lain peningkatan produksi T helper 1 dan 17 yang merangsang terjadinya proses inflamasi melalui produksi sitokin proinflamasi seperti IL-2, IFN $\gamma$ , IL6 production. (Schmidt, dkk, 2022; Catherine, dkk, 2016). Nuclear factor kB (NFkB) adalah regulator yang penting dalam proses terjadi inflamasi dan dapat berhubungan dengan terjadinya ketidakseimbangan metabolisme tubuh seperti obesitas. Berdasarkan latar belakang diatas maka pada penelitian ini akan melihat sampai sejauh mana pengaruh Propolis terhadap Berat badan dan kadar protein NFkB serum pada mencit dengan diet lemak tinggi (HFD).

### 1.1.1 Hubungan Obesitas, inflamasi dan NFkB

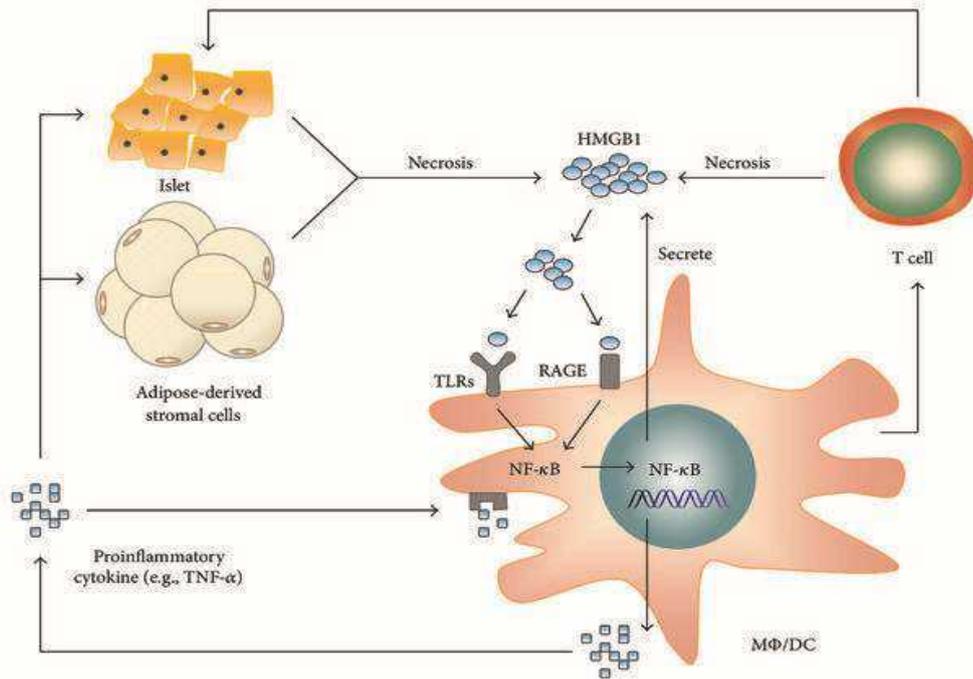
Obesitas dapat didefinisikan sebagai penyakit yang menyebabkan inflamasi ringan secara kronis. Obesitas menginduksi metaflamasi: peradangan kronis tingkat rendah yang dimulai pada sel-sel metabolik sebagai respons terhadap kelebihan nutrisi dan energi.

Nuclear factor kappa B (NFkB) secara krusial terlibat dalam semua aspek proses inflamasi yang bertanggung jawab untuk perkembangan penyakit metabolik terkait obesitas. NFkB diaktifkan oleh kelebihan gizi, stres metabolik, endotoksemia metabolik, dan sitokin proinflamasi. Aktivasi NFkB selanjutnya menambah keadaan proinflamasi yang terkait dengan obesitas dan memiliki efek merugikan pada resistensi insulin.

Pensinyalan NFkB memiliki konsekuensi spesifik tipe sel untuk pengembangan resistensi insulin, yang dapat memiliki implikasi sistemik (Catrysse, dkk, 2017).

Obesitas menjadi masalah kesehatan yang kondisinya terkait dengan dalam sindrom metabolik. Kelebihan gizi mengaktifkan beberapa proinflamasi jalur sinyal, yang menyebabkan inflamasi peradangan tingkat rendah kronis di beberapa jaringan metabolisme yang fungsinya. Jalur penting dalam pensinyalan NFkB pada obesitas dan sindrom banyak dipelajari secara mendalam dan demikian pula tentang mekanisme fungsi inflamasi NFkB sebagai respons terhadap kelebihan gizi dan efeknya.





**Gambar 1.** Alur mekanisme hubungan jaringan adiposis, inflamasi dan NFκB

Potensi keterlibatan NFκB, obesitas pada diabetes tipe 2 dimana pada peradangan dini pada jaringan adiposa dan pulau pankreas menyebabkan nekrosis sel stroma dan sel pulau yang berasal dari adiposa. Sel nekrotik melepaskan HMGB1, mengaktifkan TLR dan RAGE pada makrofag dan sel dendritik. Aktivasi TLRs dan RAGE mengarah pada translokasi NFκB ke dalam nukleus untuk mengaktifkan ekspresi gen inflamasi, yang berkontribusi pada sekresi sitokin proinflamasi, termasuk HMGB1. Selain itu, makrofag aktif dan sel dendritik secara aktif mengeluarkan HMGB1, yang pada gilirannya memperburuk nekrosis jaringan adiposa dan islet pankreas.

Peningkatan aktivitas NFκB telah diamati pada obesitas dan dengan menekan NFκB akan dapat mencegah resistensi insulin pada diet lemak tinggi. Jalur pensinyalan NFκB dapat diaktifkan oleh reseptor pengenalan pola seperti TLRs dan RAGE, keduanya telah terbukti berinteraksi dengan HMGB1. Ini menunjukkan bahwa HMGB1 mungkin memainkan peran penting dalam resistensi insulin melalui pensinyalan NFκB. Segera setelah itu, ditemukan



HMGB1 dan NFκB dan TNF-α/vascular endothelial growth factor (VEGF) diregulasi pada diabetes tipe 2 dan blokade HMGB1 secara signifikan vitas NFκB dan sekresi VEGF pada sel ARPE-19 yang distimulasi dengan MGB1 secara signifikan diregulasi oleh glukosa tinggi melalui pensinyalan

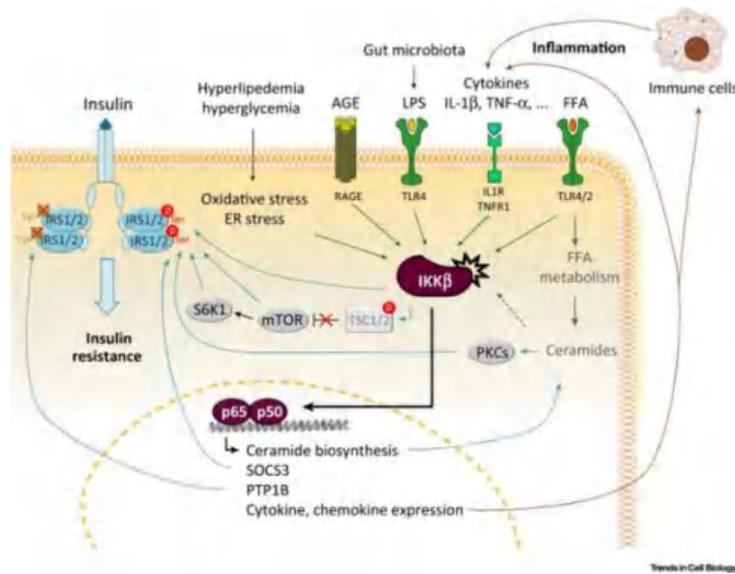
NFkB in vivo dan in vitro, dalam kaitannya dengan peningkatan sitokin proinflamasi. Oleh karena itu, HMGB1 mungkin terlibat dalam pengembangan resistensi insulin melalui aktivasi pensinyalan NFkB dan terkait dengan peningkatan ekspresi mediator proinflamasi (Wang dkk, 2016)

Obesitas terkait erat dengan diabetes mellitus tipe 2, penyakit kardiovaskular, penyakit hati, dan kanker. Obesitas secara patologis dalam keadaan peradangan tingkat rendah kronis akibat kelainan metabolisme yang dihasilkan dari aktivasi berbagai kaskade pensinyalan inflamasi yang mengarah ke aktivasi NFkB, Jun N-terminal kinase (JNK), dan peradangan. Faktor transkripsi NFkB merupakan fungsi utama dan memainkan peran kunci dalam semua aspek proses inflamasi yang bertanggung jawab untuk perkembangan penyakit metabolik yang terkait obesitas (Catrysse L, dkk, 2017).

### **1.1.2 Mekanisme Molekuler Hubungan NFkB dan Obesitas**

Dalam perjalanan evolusi, organisme selalu menyimpan energi untuk saat kekurangan makanan. Insulin adalah hormon penting dalam proses ini karena dilepaskan ketika kadar glukosa meningkat setelah makan. Akibatnya, sinyal insulin ke otot dan lemak untuk menyimpan energi ini sebagai glikogen atau trigliserida, atau keduanya dalam kasus hati. Jalur penghasil energi seperti hati produksi glukosa dan menghasilkan penyimpanan energi. Dalam kondisi kelebihan gizi kronis, kelebihan energi pada akhirnya akan melebihi kapasitas penyimpanan jaringan metabolisme kita, yang menyebabkan stres metabolik. Stres metabolik dan tingkat nutrisi superfisiologis ini akan mengaktifkan inflamasi jalur sinyal menyebabkan perkembangan resistensi insulin, produksi sitokin, dan akhirnya melibatkan sel imun (Gambar 7), peradangan yang lebih parah dan mengarah ke keadaan sistemik peradangan tingkat rendah dan resistensi insulin.





**Gambar 2.** Hubungan NFκB dan obesitas

Hubungan NFκB dengan obesitas pada penderita DM resisten Insulin mempunyai beberapa jalur. NFκB pada obesitas dapat diaktifkan dengan berbagai cara antara lain melalui microbiota-derived LPS, free fatty acids (FFAs), advanced glycation end products (AGEs), inflammatory cytokines, oxidative stress, dan endoplasmic reticulum (ER) yang mengakibatkan aktivasi signal inflamasi NFκB kinase subunit 2 (IKK2). Pada aktivasi IKK2 akan memfosforilasi protein substrat reseptor insulin (IRS) dan menginduksi resistensi insulin. Selain itu, IKK2 dapat menginduksi aktivasi protein yang mengatur penghambatan insulin melalui mammalian target of rapamycin (mTOR) dan ribosomal protein S6 kinase1 (S6K1) dengan menekan aktivitas tuberous sclerosis 1/2 (TSC1/2). NFκB juga mempengaruhi pensinyalan insulin dengan menginduksi transkripsi protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) dan suppressor of cytokine signaling 3 (SOCS3) 5ingkakedua protein ini dapat mengganggu keadaan fosforilasi protein IRS. Selain itu, gen ceramidebiosintesis akan meningkat yang mengakibatkan kenaikan produksi ceramide. Aktivasi dari protein kinase C (PKC), yang berkontribusi terjadinya resistensi insulin. Pensinyalan NFκB juga menyebabkan terjadinya proses inflamasi 5ingkat rendah dan menghasilkan berbagai kemokin dan sitokin proinflamasi yang berperan dalam proses aktivitas sel imun dan respon peradangan (Catrysse L, dkk, 2017).



### NFκB pada Obesitas

Obesitas, kelebihan gizi, obesitas dikaitkan dengan hiper lipidemia dan hiperglikemia, yang mengaktifkan jalur inflamasi melalui reseptor Toll-like (TLRs). Asam lemak

jenuh diyakini mengaktifkan inhibitor NFκB kinase subunit 2 (IKK2; juga dikenal sebagai IKKβ) dengan langsung mengikat TLR4 dalam adiposit, makrofag, dan otot, yang menyebabkan penurunan sensitivitas insulin. Sebaliknya, asam lemak tak jenuh tidak dapat mengaktifkan pensinyalan TLR4 dan asam lemak omega-3 bahkan telah terbukti menghambat pensinyalan NFκB. Fetuin A, suatu glikoprotein yang disekresikan dari hati, juga diduga bertindak sebagai ligan endogen TLR4 yang melaluinya lipid menginduksi resistensi insulin. Selain TLR4, TLR2 juga berkontribusi terhadap resistensi insulin yang diinduksi asam lemak. Selain mengaktifkan TLR dan aktivasi IKK2 yang diinduksi TLR, metabolisme FFA juga mengarah pada akumulasi diasilgliserol (DAG) dan ceramide dan aktivasi PKC, yang mengganggu resistensi insulin dan melibatkan aktivasi NFκB dan JNK.

Pensinyalan NFκB mempunyai kontribusi penting terhadap perkembangan obesitas dan penyakit metabolik lainnya. Pensinyalan IKK2 / NFκB memodulasi sensitivitas insulin dalam beberapa cara tetapi memainkan peran sentral dalam proses terjadinya inflamasi tingkat rendah di berbagai jaringan tubuh. NFκB juga sangat mempengaruhi insulin dan leptin, total adipositas tubuh melalui perubahan asupan makanan dan pengeluaran energi. Ini berbeda dari pensinyalan NFκB pada makrofag, di mana NFκB menginduksi sitokin proinflamasi, mempengaruhi sensitivitas insulin di semua jaringan tubuh tanpa mempengaruhi berat badan atau pensinyalan insulin sistemik. Fungsi NFκB dalam adiposit mempunyai jalur yang lebih rumit dan terlihat mempengaruhi pengeluaran energi dan termogenesis dan meningkatkan proses inflamasi. Karena NFκB posisinya sentral dalam semua proses inflamasi yang terkait dengan obesitas dan penyakit metabolik, strategi terapi yang menargetkan NFκB mungkin merupakan cara untuk meningkatkan sensitivitas insulin dan mengurangi perkembangan DM tipe 2. Beberapa uji klinis Fase II telah menunjukkan bahwa bentuk aspirin non-asetilasi, seperti salsalat, mampu menghambat pensinyalan NFκB dan meningkatkan sensitivitas insulin pada pasien DM tipe 2 tanpa mempengaruhi berat badan. Lebih banyak studi jangka panjang telah mengkonfirmasi efek positif dari pengobatan salsalate pada kontrol glikemik dalam percobaan Targeting Inflammation Using Salsalate for Type 2 Diabetes (TINSAL-T2D) (Goldfine AB). Namun, inhibitor spesifik yang menekan pensinyalan NFκB belum ada di pasaran dan lebih banyak studi klinis diperlukan untuk memeriksa kemungkinan efek samping dari pengobatan jangka panjang. Sehingga diperlukan untuk menilai sampai sejauh mana peran NFκB terhadap

mana dinamika bila NFκB digunakan sebagai biomarker dan terapi alternatif sitas.



### 1.1.4 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Sekilas, mungkin tampak tidak masuk akal bahwa manusia dan tikus, dua spesies yang tampaknya sangat berbeda, dapat memiliki kemiripan genetik. Namun, penelitian ilmiah telah mengungkapkan bahwa manusia dan tikus memiliki sekitar 90% kesamaan materi genetik, sehingga keduanya sangat mirip pada tingkat molekuler.

Penelitian genetika telah mengungkap banyak gen dan jalur genetika yang sama antara manusia dan tikus. Khususnya, kedua spesies memiliki gen yang bertanggung jawab atas proses biologis dasar seperti metabolisme, reproduksi, pertumbuhan, dan perkembangan. Ciri-ciri genetika yang sama ini menjelaskan keterkaitan kehidupan di Bumi dan menyoroti sifat dasar fungsi biologis tertentu.

Penelitian yang membandingkan genom manusia dan tikus juga telah mengungkap kesamaan dalam gen-gen tertentu yang terkait dengan penyakit dan gangguan tertentu. Paralelisme genetika ini telah menjadikan tikus sebagai organisme model penting dalam penelitian medis, yang memungkinkan para ilmuwan untuk lebih memahami dan menemukan pengobatan potensial untuk penyakit manusia seperti diabetes, penyakit kardiovaskular, dan kanker.

Salah satu aspek menarik dalam mempelajari kesamaan genetik antara manusia dan tikus adalah eksplorasi jalur metabolisme mereka. Jalur metabolisme adalah serangkaian reaksi kimia yang terjadi di dalam sel organisme, yang memungkinkannya mengubah nutrisi menjadi energi dan melakukan berbagai proses biologis.

Pada manusia dan tikus, terdapat banyak kesamaan dalam jalur metabolisme yang penting untuk berfungsinya tubuh dengan baik. Kesamaan ini menunjukkan bahwa manusia dan tikus memiliki proses metabolisme yang sama, yang tidak mengherankan mengingat kesamaan genetik antara kedua spesies tersebut.

Kesamaan komposisi genetik antara tikus dan manusia memungkinkan para ilmuwan untuk melakukan eksperimen dan penelitian pada tikus guna memperoleh wawasan tentang biologi manusia dan potensi intervensi terapeutik. Tikus berfungsi sebagai model penting dalam penelitian praklinis dan pengembangan obat, membantu para peneliti memahami efek zat atau intervensi tertentu pada kesehatan manusia.



Salah satu aspek paling menarik dalam mengeksplorasi kesamaan genetik antara manusia dan tikus adalah pemeriksaan pola ekspresi gen. Ekspresi gen mengacu pada proses transkripsi dari gen untuk menciptakan produk fungsional, seperti protein. Dengan membandingkan pola ekspresi gen antara manusia dan tikus, para ilmuwan dapat memperoleh

wawasan tentang persamaan dan perbedaan dalam cara organisme ini berfungsi pada tingkat molekuler.

Penelitian telah mengungkapkan kesamaan yang luar biasa dalam pola ekspresi gen antara manusia dan tikus. Misalnya, banyak gen yang terlibat dalam proses biologis dasar, seperti pencernaan, respirasi, dan metabolisme, diekspresikan dengan cara yang sama pada kedua spesies. Hal ini menunjukkan bahwa mekanisme molekuler yang mendasari yang mengatur proses ini dilestarikan sepanjang evolusi.

Namun, ada juga perbedaan penting dalam pola ekspresi gen antara manusia dan tikus. Gen tertentu mungkin diekspresikan lebih kuat pada satu spesies dibandingkan dengan yang lain, atau mungkin unik untuk satu spesies secara keseluruhan. Perbedaan dalam ekspresi gen ini dapat membantu menjelaskan sifat dan karakteristik berbeda yang ditunjukkan oleh manusia dan tikus.

Pengembangan model tikus yang dimanusiakan memiliki harapan besar untuk penelitian di masa mendatang. Dengan meningkatkan kesamaan genetik antara tikus dan manusia, para ilmuwan mampu menciptakan model penyakit manusia yang lebih akurat, yang mengarah pada kemajuan dalam pemahaman dan penanganan kondisi ini. Selain itu, model tikus yang dimanusiakan dapat digunakan untuk mempelajari efek variasi genetik pada populasi yang berbeda, sehingga memberikan wawasan tentang pengobatan yang dipersonalisasi.

Singkatnya, model tikus yang dimanusiakan telah menjadi alat yang berharga dalam penelitian genetik karena tingginya tingkat kesamaan antara manusia dan tikus pada tingkat genetik. Model-model ini memungkinkan untuk mempelajari penyakit manusia dan mengevaluasi pengobatan potensial dengan cara yang lebih akurat dan relevan.

Memahami pola ekspresi gen pada manusia dan tikus tidak hanya menjelaskan hubungan evolusi kita tetapi juga memiliki implikasi praktis. Dengan mempelajari ekspresi gen pada tikus, para ilmuwan dapat memperoleh wawasan tentang penyakit manusia dan mengembangkan pengobatan yang lebih baik. Tikus umumnya digunakan sebagai model untuk mempelajari penyakit manusia karena kesamaan genetik dan fisiologisnya menjadikannya alat yang berharga untuk penelitian biomedis.



## Rumusan masalah

Bagaimana Efek propolis terhadap Berat badan dan kadar protein NFkB serum pada tikus wistar dengan diet lemak tinggi (HFD)

## Pertanyaan Penelitian

1. Apakah terdapat perbedaan Berat badan dan kadar protein NFkB serum pada kelompok HFD dan normal diet pada tikus Wistar dengan HFD setelah pemberian propolis selama 8 minggu?
2. Apakah terdapat perbedaan Berat badan dan kadar protein NFkB pada kelompok HFD dan normal diet pada tikus Wistar dengan HFD setelah pemberian propolis selama 16 minggu?
3. Apakah terdapat korelasi antara Berat badan dan kadar protein NFkB serum pada kelompok HFD dan normal diet pada tikus Wistar dengan HFD setelah pemberian propolis selama 8 minggu dan 16 minggu?

## Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum :  
Mengetahui efek propolis terhadap Berat badan dan kadar protein NFkB serum pada tikus wistar setelah pemberian diet lemak tinggi (HFD).
2. Tujuan Khusus :
  1. Menentukan perbedaan berat badan dan kadar protein NFkB serum pada kelompok HFD pada tikus wistar dengan HFD setelah pemberian propolis selama 8 minggu dan 16 minggu ?
  2. Menentukan korelasi antara berat badan dan kadar protein NFkB serum pada kelompok HFD pada tikus wistar dengan HFD setelah pemberian propolis selama 8 minggu dan 16 minggu?

## Manfaat Penelitian

1. Pengembangan ilmu :



Memberikan kontribusi pengetahuan tentang peranan propolis dalam menekan Berat badan dan kadar protein NFkB serum pada obesitas, juga pengetahuan tentang fungsi renoprotektif NFkB terhadap inflamasi dan penurunan fungsi ginjal tahap dini pada obesitas.

Propolis dapat digunakan menekan peningkatan Berat badan dan kadar protein NFkB serum dapat juga digunakan sebagai biomarker dan terapi yang potensial terhadap inflamasi renal dan pencegahan penurunan gangguan fungsi ginjal tahap dini pada obesitas.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Obesitas

##### Definisi

Obesitas merupakan penyakit kronis yang menjadi perhatian utama kesehatan masyarakat. Obesitas adalah keadaan peradangan kronis jaringan adiposa yang ringan dan menyebabkan kelainan sistem imun penderita. Hal ini dapat terlihat dengan adanya penanda inflamasi yang disekresikan oleh penumpukan lemak berlebihan di jaringan adiposa, dan pengaruhnya terhadap penyakit kronis seperti hipertensi, diabetes, dan dislipidemia.

Terdapat istilah yaitu obesitas, overweight, dan obesitas sentral. Obesitas adalah peningkatan lemak tubuh (body fat). Overweight adalah peningkatan berat badan relatif apabila dibandingkan terhadap standar. Overweight kemudian menjadi istilah yang mewakili obesitas baik secara klinis maupun epidemiologis. Sedangkan obesitas sentral adalah peningkatan lemak tubuh yang lokasinya lebih banyak di daerah abdominal daripada di daerah pinggul, paha dan lengan (Bosomworth dkk, 2019).

Obesitas dapat mempengaruhi proses inflamasi, baik secara langsung dan tidak langsung yang dapat disebabkan terkait dengan penyakit kronis utama seperti diabetes, aterosklerosis, hipertensi, dan beberapa jenis kanker. (Velasco, Pedro. (2023). Individu yang kelebihan berat badan dan obesitas dapat meningkatkan tingkat sirkulasi sitokin proinflamasi inflamasi, seperti TNF $\alpha$ , IL-6, protein C-reaktif (CRP), IL-18, resistin, dan Visfatin (Oliveira, dlk, 2022; Abdalla, 2022 ) dan juga obesitas diduga mempunyai hubungan dengan aktifitas NFkB dan kemungkinan dapat dipakai sebagai biomarker untuk penentuan terjadi proses inflamasi pada obesitas (Ilyas, dkk-2017)

Mekanisme potensial terjadinya cedera ginjal progresif pada obesitas adalah multifaktor (gambar 2.1). mulai dari kompresi fisik ginjal yang mengarah kepada peningkatan jalur cedera yang berbahaya sampai ginjal rentan terhadap disfungsi progresif dan berkembang ke arah kerusakan parenkim. Selain hipertensi dan diabetes, obesitas dapat menyebabkan disfungsi ginjal, dan cedera meliputi hiperfiltrasi glomerulus, peningkatan tekanan dinding kapiler

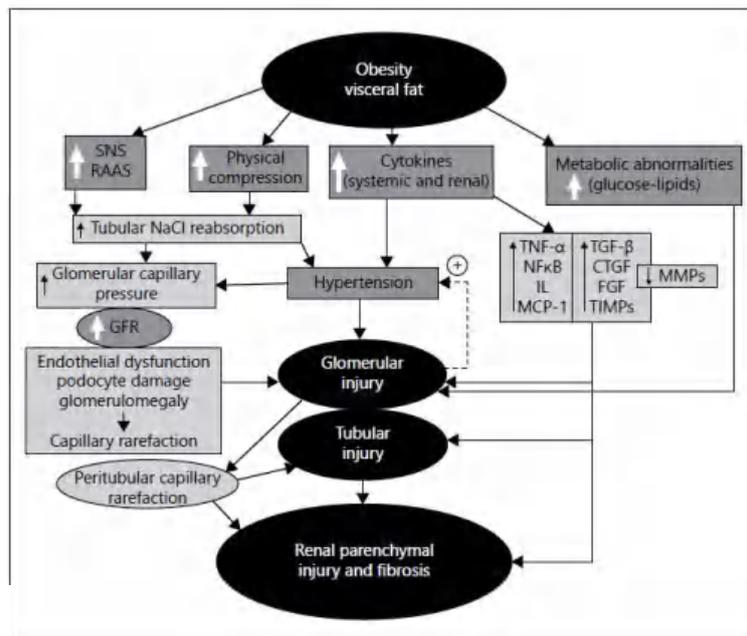


an metabolik (dislipidemia dan perubahan metabolisme glukosa), akumulasi glomerulus (lipotoksisitas), kesemuanya dapat menyebabkan perubahan gisional sel mesangial, sel tubulus proksimal dan podosit dan berkurangnya

jumlah nefron. Sebagai tambahan, peningkatan stres oksidatif sistemik dan ginjal, meningkatnya sitokin pro-inflamasi pada jaringan adiposa, inflamasi ginjal dan berkembangnya disfungsi mikrovaskular ginjal progresif adalah suatu proses patologis yang menetap yang mengarah kepada terjadinya cedera ginjal pada obesitas (Araújo dkk, 2020; Chade & Hall, 2016).

Disfungsi mikrosirkulasi terjadi di seluruh tubuh pada obesitas. Misalnya disfungsi kapiler pada tingkat resistensi pembuluh darah dan dasar kapiler pada otot rangka atau kulit dimulaipada usia dini dan fase dini obesitas dan berkembang progresif sebagai peningkatan adipositas, berakibat pada disfungsi endothelial dan remodeling vaskular progresif. Oleh karena itu, kemungkinan beberapa mekanisme tersebut yang menyebabkan kelainan MV juga diaktifkan ginjal, yang terkena obesitas (Araújo dkk, 2020).

Obesitas dapat meningkatkan risiko CKD di tahap awal dengan meningkatkan reabsorpsi tubulus ginjal dan laju metabolisme yang menyebabkan kompensasi vasodilatasi ginjal, hiperfiltrasi glomerulus, peningkatan tekanan kapiler glomerulus dan hipertrofi glomerulus. Meski hemodinamik ginjal berubah dan peningkatan glomerulus filtration rate (GFR) awalnya mengimbangi peningkatan reabsorpsi tubulus dan memungkinkan keseimbangan antara asupan dan keluaran garam dan air, yang harus dipelihara, dalam jangka panjang, tekanan mekanis pada kapiler glomerular mungkin terjadi menyebabkan perkembangan cedera yang lambat (Yim, dkk, 2021; Chade dan Hall, 2016).



gambaran skematis potensial mekanisme cedera ginjal akibat obesitas.



Beberapa jalur yang merugikan diaktifkan langsung dari obesitas dan lemak visceral. SNS : Sympathetic Nervous System, RAAS : Renin-Angiotensin Aldosteron Sistem. NFκB : Nukleus Faktor Kappa B, MCP-1 : Monosit Kemoattractant Protein-1, TGF-β : Transforming Growth Faktor-β, CTGF : Connective Tissue growth Factor, FGF : Fibroblast Growth faktor, TIMPs : Tissue Inhibitor of Metalloproteinase ([Chade dan Hall, 2016](#))

Melalui jaringan adiposa terbentuk di dalam dan sekitar ginjal dan akumulasi intrarenal dari matriks ekstraselular (ECM), ginjal juga terkena kompresi kekuatan konstan yang dapat merangsang renin-angiotensin aldosteron sistem dan meningkatkan reabsorpsi tubulus menyebabkan tekanan darah meningkat. (Mitchell dkk, 2021)

Selain mengompresi ginjal, lemak di sekitar ginjal bisa menjadi sumber sel induk dan sitokin inflamasi, pro-fibrotik dan angiogenik. Efek 'lipotoxic' lainnya dari lemak perinephric dan infiltrasi lipid pada parenkim ginjal mungkin berperan penting dalam perkembangan cedera ginjal ([Gritsenko dan Chumakova, 2021](#); [Chade & Hall, 2016](#)).

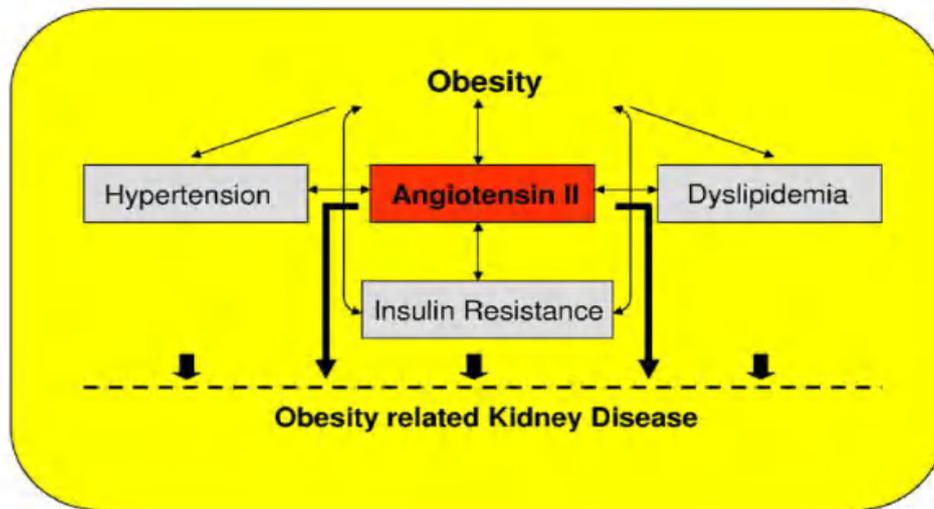
Adiposit memproduksi dan mengeluarkan beberapa protein yang disebut adipokin yang memainkan peran penting dalam proses inflamasi. Adipokin ini termasuk TNF-α, leptin, resistin, visfatin, IL-6, dan adiponektin. (Kirichenko, dkk, 2022). Ada lebih dari 50 adipokin yang diketahui, dan mereka terutama dibedakan berdasarkan perannya dalam peradangan. Kadar sekresi adipokin tergantung pada tingkat obesitas, dimana individu obesitas memiliki jaringan adiposa yang banyak akan mengeluarkan adipokin pro-inflamasi dan sebaliknya individu kurus akan banyak mengeluarkan adipokin anti-inflamasi. Adipokin yang terlibat dalam promosi peradangan termasuk TNFs, interleukin (IL)-6, leptin, angiotensin II, visfatin, dan resistin. Adipokin anti-inflamasi termasuk transforming growth factor-beta (TGF), IL-4, IL-10, IL-13, antagonis reseptor IL-1 (IL-1Ra), dan adiponektin. (Kirichenko, dkk, 2022)

Pada beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa regulasi sistem renin angiotensin dan aldosteron meningkat pada obesitas. Hal ini disebabkan oleh peningkatan aktivitas simpatis dan atau hiperinsulinemia dan atau peningkatan sintesis angiotensinogen dalam lemak visceral. Angiotensinogen dan angiotensin II tipe 1 reseptor mRNA meningkat dalam jaringan adiposa visceral dibandingkan jaringan adiposa subkutan (Cruz-López dkk, 2021)

Penurunan berat badan pada wanita obesitas disertai dengan penurunan angiotensinogen yang berkorelasi dengan pengurangan lingkar perut. Sistem renin angiotensin dalam degenerasi penyakit ginjal dan perkembangan obesitas karena berkaitan dengan perubahan hemodinamik dan mekanisme inflamasi. Dihambatnya angiotensin II secara langsung menghambat produksi TNF-α, MCP-1 dan stress oksidatif dan peningkatan kadar adiponektin.



Dengan demikian, peradangan dan gangguan mekanisme kadar adiponektin juga membantu sistem renin angiotensin dalam menyebabkan kerusakan ginjal pada individu obese (Mitchell dkk, 2021; Catrysse L dan van Loo G, 2017).



**Gambar 4. Obesitas dan hubungannya dengan penyakit ginjal**

berkaitan dengan semua komponen dari sindrom metabolik. Aktivasi renin-angiotensin-aldosteron-sistem dan efektor utama Angiotension II memainkan peran sentral dalam perubahan metabolik yang kompleks dan terkait cedera ginjal ([Ruster & Wolf, 2013](#))

Hiperfiltrasi glomerulus umumnya ditemukan pada individu obese menyebabkan peningkatan aktivitas simpatis, peningkatan level angiotensin II dan hiperinsulinemia. Individu obese mengalami peningkatan reabsorpsi natrium pada tubulus proksimal dan tidak dapat dengan cepat meningkatkan ekskresi natrium. Peningkatan reabsorpsi garam di tubulus proksimal menyebabkan berkurangnya pengiriman natrium ke macula densa dan karena itu menyebabkan vasodilatasi aferen dan peningkatan sintesis renin. Sehingga menimbulkan peningkatan kadar angiotensin II lokal dan vasokonstriksi arteriol efferent pada obesitas.

Glomerulopati dan Fokal Glomerulosclerosis (FGS) timbul sebagai kerusakan anatomi akibat glomerular hiperfiltrasi-hipertensi. Koch, 2021 dalam penelitiannya tentang hubungan antara obesitas dan GFR pada anak dan remaja, juga berkesimpulan bahwa obesitas dapat mempengaruhi hemodinamik ginjal seperti hiperfiltrasi (Koch, 2021)



ul secara progresif sebagai mediator penting penyakit glomerulus melalui ushipertensi serta efek nonhemodinamik termasuk produksi ROS, up-tumbuhan profibrotik misalnya platelet-derived growth faktor, TGF- $\beta$ , faktor  $\alpha$  dan aktivasi makrofag dan infiltrasi.(Oliveira, dkk, 2022)

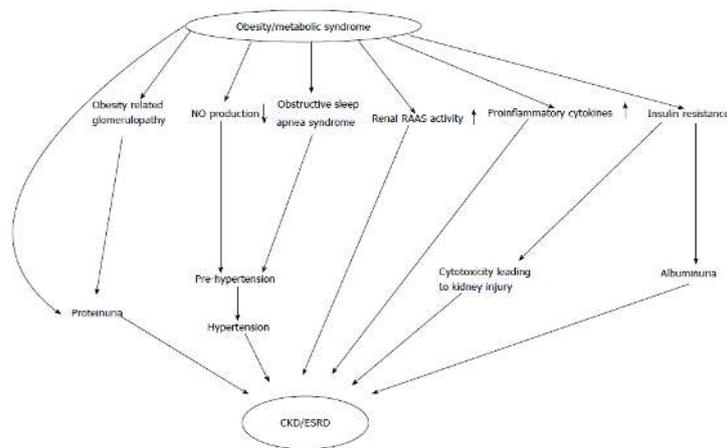
Beberapa penelitian sebelumnya mengaitkan peradangan dengan obesitas dan sindrom metabolik pada penderita CKD. Obesitas dianggap sebagai faktor risiko independen untuk CKD. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pasien yang memiliki CKD memiliki prevalensi sindrom metabolik dan resistensi insulin yang tinggi yang terkait dengan risiko tinggi diabetes dan penyakit kardiovaskular. Secara bersamaan, banyak penelitian juga menunjukkan hubungan independensi sindrom metabolik dan CKD pada pasien non-diabetes. (Yim dkk, 2021)

Obesitas diketahui menginduksi perubahan patofisiologis yang menyebabkan cedera ginjal. Akumulasi lipid makrofag dapat memodifikasi fenotipe sel-sel ini dan memudahkan terjadinya lingkungan proinflamasi, bertanggung jawab atas perubahan patofisiologis ginjal terkait obesitas. Beberapa sitokin proinflamasi yang dihasilkan oleh jaringan adiposa dan inflamasi sel telah dikaitkan dengan cedera ginjal akibat obesitas. Di antara mediator ini adalah plasminogen aktivator inhibitor-1 (PAI-1), monosit chemoattractant monosit 1 (MCP-1). Tingkat sirkulasi sitokin ini meningkat pada pasien dengan sindrom metabolik dan terkait dengan resistensi insulin, meningkatkan lipoprotein sirkulasi, aterogenesis dan trombogenesis, efek yang secara langsung atau tidak langsung mempengaruhi struktur dan fungsi ginjal. (Oliveira dkk, 2022). Sementara leptin memunculkan resistensi insulin dan hipertensi arterial, adiponektin meningkatkan sensitivitas insulin dan menciptakan antiinflamasi dan antiaterogenik (Shih dkk, 2022).

Ada hubungan yang kuat sindrom metabolik dan obesitas. Salah satu hal yang penting adalah gambaran sindrom metabolik adalah resistensi insulin. Resistensi insulin dapat menyebabkan keadaan proinflamasi pada anak-anak obesitas. Konsentrasi plasma beberapa mediator inflamasi seperti tumor nekrosis faktor (TNF- $\alpha$ ), C-reaktif protein (CRP) dan interleukin (IL)-6 meningkat pada pasien dengan sindrom metabolik. Hasil ini menunjukkan bahwa inflamasi merupakan risiko utama obesitas dan memiliki hubungan yang kuat dengan sindrom metabolik. Bukti terbaru menunjukkan bahwa inflamasi berkaitan dengan obesitas pada pasien dengan CKD. Penurunan sensitivitas insulin pada obesitas akan menyebabkan komplikasi metabolisme lainnya yang mengarah kepada CKD (Wu dan Ballantyne, 2020).

Inflamasi muncul dihubungkan dengan faktor risiko metabolik dan obesitas tidak hanya dengan atherosclerosis tetapi juga pada pasien dengan CKD. Dan diketahui dengan komplikasi atherosclerosis memiliki risiko tinggi menderita CKD dan (Yim dkk, 2021)





**Gambar 5.**Obesitas menyebabkan perkembangan penyakit ginjal kronis melalui berbagai jalur

Metabolisme lipid (asam lemak mengikat protein-3 dan regulasi sterol mengikat protein) serta gen inflamasi (TNF- $\alpha$  dan reseptornya, transduser sinyal IL-6 dan interferon) dan gen yang terlibat dalam resistensi insulin (glucose transport-1 dan vascular endothelial growth factor) over ekspresi di dalam glomeruli pasien obesitas yang berhubungan dengan nefropati. Meskipun penyelidikan antara adipokine dan kerusakan ginjal telah dimulai dalam beberapa tahun terakhir, terdapat bukti bahwa akumulasi lipid dan perubahan sitokin sel-sel lemak dapat diartikan kedalam perubahan inflamasi di dalam ginjal (Ding dkk, 2015).

Obesitas adalah kondisi inflamasi stadium awal yang kronis di mana jaringan adiposa (terutama visceral) berfungsi sebagai sumber sitokin inflamasi. Studi klinis eksperimental menunjukkan bahwa obesitas yang diinduksi inflamasi berkembang di hati, pembuluh besar dan kecil, otak dan ginjal. Tidak jelas apakah perkembangan inflamasi mempercepat atau meningkat secara linear dengan obesitas, tapi ada bukti bahwa inflamasi berkembang lebih awal dan cepat setelah kenaikan berat badan yang berlebihan dipertahankan dan dapat menyebabkan cedera organ akibat obesitas.

Bukti kuat mendukung peran TNF- $\alpha$  dan IL-6 sebagai pemicu kuat angiogenesis telah ditunjukkan pada beberapa kondisi patologis. Selanjutnya, peradangan pada obesitas juga bisa terjadi dan diperbesar oleh aktivitas sitokin pro-inflamasi angiogenik lainnya seperti IL-8,

3 dan beberapa sitokin lainnya (Catrysse L dan van Loo G, 2017)

2017 mengamati neovaskularisasi ginjal dengan dislipidemia kronis yang dikaitkan TNF- $\alpha$  dan lingkungan inflamasi di ginjal. Hal ini membuktikan bahwa TNF- $\alpha$  menyebabkan penurunan proliferasi vaskular dan penurunan



hemodinamika basal ginjal. Temuan ini mendukung gagasan tersebut bahwa neovaskularisasi yang diinduksi peradangan mungkin menjadi mekanisme kompensasi awal yang bertujuan untuk mempertahankan perfusi ginjal pada dislipidemia. Namun, seperti pada obesitas, neovaskularisasi yang dipicu peradangan dapat menyebabkan disfungsi atau immatur pembuluh darah dengan hilangnya penghubung endotel yang meningkatkan permeabilitas vaskular dan mencegah kompensasi perubahan vaskular menyebabkan abnormalnya pembersihan racun dan memfasilitasi ekstrasvasasi sitokin yang merugikan (John dkk, 2021).



## 2.2 Propolis

Propolis (*bee glue*) adalah substansi resin (getah) dengan berbagai konsistensi dan warna bergantung dari sumber tumbuhan yang diambil, mulai dari coklat gelap hingga coklat kemerahan dengan unsure kehijauan, yang diambil dan diakumulasi oleh lebah *Apis mellifera* dari beberapa sumber tumbuhan seperti kecambah, kuncup bunga, pohon dan eksudat resin dari jaringan tumbuhan lain (Ramos, dkk, 2007; Usman, dkk, 2016). Propolis berasal dari bahasa Greek, yaitu pro yang berarti "pertahanan" dan polis "kota atau komunitas" atau dengan kata lain adalah pertahanan sarang lebah. Propolis digunakan oleh lebah untuk melindunginya dari serangga dan mikroorganisme, sebagai semen untuk menutupi celah atau ruang terbuka di dalam sarangnya, mensterilisasi tempat lebah betina (dinding sel mengeras), dan memufikasi serangga yang masuk untuk mencegah predator masuk (Ramos, dkk, 2007), serta untuk menjaga suhu internal sarang 35°C, menghaluskan permukaan dalam sarang (Paspuleti, dkk 2017).

Propolis yang diambil dari sarang lebah (rude propolis), terdiri dari sekitar 50% balsam resin, 30% wax, 10% essential and aromatic oils, 5% pollen, dan 5% substansi lain termasuk *wood fragments*. Komposisi dari propolis ditentukan oleh karakter geografis di sekitar sarang lebah. Beberapa kontaminan yang dekat dengan sarang lebah dapat ikut terambil seperti bubuk aspal, pestisida, kelebihan zat besi, tembaga, magnesium dan bahkan timah. Secara umum, ethanol merupakan pelarut terbaik untuk sediaan propolis. Pelarut lain seperti ethyl ether, air, mathanol, dan chloroform juga dapat digunakan. Gliserin, propilen glikol, dan larutan lain digunakan dalam sediaan farmasi dan kosmetik (Usman, dkk, 2016; Ramos, dkk, 2007).

Terdapat lebih dari 300 senyawa berbeda yang telah diidentifikasi dari propolis diantaranya asam alifatik, ester, asam aromatik (fenol), flavonoid, asam lemak, karbohidrat, aldehida, asam amino, alkohol (keton), chalcones, dihydrochalcones, terpenoid, beta steroid, vitamin (B1, B2, B6, C, dan E), dan substansi inorganik atau mineral (magnesium, kalsium, kalium, natrium, tembaga, zinc, mangan, dan zat besi) juga beberapa enzim (succinic dehydrogenase, G6P, adenosine triphosphatase, dan asam fosfatase). Flavonoid adalah substansi yang paling sering diteliti memberikan efek terapeutik. Terdapat 12 jenis flavonoid berbeda yang terdapat pada propolis, yaitu pinocembrin, acacetin, chrysin, rutin, luteolin, nin, myracetin, cathecin, naringenin, galangin, dan quercetin; 2 asam fenolik dan cinnamic acid, serta senyawa turunan stilbene yaitu resveratrol (Junita, dkk, 2007).



## Manfaat Propolis

Propolis memiliki berbagai manfaat salah satunya adalah efek terapeutik. Bersamaan dengan produk lebah madu lainnya (madu, royal jelly, polen). Propolis memiliki efek terapeutik diantaranya aktivitas anti inflamasi, antioksidan, antikarsinogenik, antibakteri, antifungal, antiprotozoa, antivirus, antidiabetik (Paspuleti, dkk, 2017), antiulkus, penyembuhan luka, anestesi, serta imunomodulator (Ramos, dkk, 2007). Propolis telah digunakan sejak lebih dari 90 tahun lalu, salah satunya di Afrika Selatan saat terjadi perang Anglo-boer, dimana propolis dicampur dengan vaseline untuk menjadi sediaan salep penyembuh luka dan hal ini bermanfaat karena antibiotik belum ditemukan (Ramos, dkk, 2007). Aktivitas farmakologis dari propolis terjadi karena beberapa mekanisme, yaitu kecenderungan propolis untuk berikatan dengan polimer biologis, berikatan dengan ion logam berat, mengakselerasi transpor elektron, dan kemampuannya untuk membuang radikal bebas (Yangi B, dkk, 2018). Aktivitas farmakologis tersebut lebih banyak didapat pada negara tropis dibanding negara beriklim dimana tumbuhan yang menjadi sumber propolis lebih beragam (Ramos, dkk, 2007).

Propolis bermanfaat bagi kesehatan manusia di berbagai sistem organ tubuh. Pada saluran pencernaan, ekstrak propolis ethanol dapat menghambat pertumbuhan dan perlekatan dari trofozoit *Giardia duodenalis* serta dapat melepaskan parasit tersebut (studi in vitro). Studi lain juga menunjukkan propolis memiliki efek antihistamin, antiinflamasi, anti keasamaan, dan anti aktivitas *H. pylori* sehingga dapat dimanfaatkan dalam pengobatan ulkus gaster. Pada sistem ginekologi, aplikasi solusi dari propolis akuos menunjukkan perbaikan kesehatan vagina pada penyakit vaginitis. Selain efek antibiotik dan antifungalnya, propolis juga membuat gejala vaginitis lebih cepat berkurang karena efek anastesinya serta dapat menjadi antibiofilm. Propolis juga bermanfaat pada kebersihan oral dimana berdasarkan studi yang ada, propolis dapat menghambat pertumbuhan plak bakteri dan *periodontitis-causing pathogens* serta efek sitotoksiknya terhadap fibroblas gusi lebih rendah dibandingkan dengan *chlorhexidine*. Propolis juga sering digunakan sebagai krim dan salep untuk produk perawatan kulit karena efek antialergi, antiinflamasi, antimikroba, dan dapat memicu sintesis kolagen. Pada studi yang membandingkan propolis dengan obat konvensional silver sulfadiazine didapatkan penurunan aktivitas radikal bebas pada *wound beds* yang mendukung proses perbaikan jaringan (Paspuleti, dkk 2017).



in, propolis juga dapat menjadi pengobatan potensial untuk kanker payudara karena sifatnya yang bersifat antioksidan dan antikarsinogenik yang bisa memicu apoptosis dari sel kanker payudara. Selain itu, propolis juga bersifat lebih selektif dengan toksisitas yang rendah hingga tidak berbahaya bagi sel normal. Pada penelitian dengan turkish propolis, didapatkan

juga efek sitotoksik pada sel kanker paru manusia dengan menginduksi *endoplasmic reticulum stress*, apoptosis, dan aktivitas caspase serta dengan menurunkan potensial membran mitokondria sehingga dapat meminimalisasi proliferasi sel kanker (Paspuleti, dkk, 2017). Manfaat lain dari propolis adalah untuk regenerasi kartilago, tulang, dan pulpa gigi, manfaat imunologis, pertahanan dari hepar dan aktivitas antitoksik, serta antioksidan (Ramos, dkk, 2007). Pada table 1 dapat terlihat senyawa bioaktif penting dari propolis.



**Tabel 1.** Senyawa Bioaktif penting pada Propolis (Paspuleti, dkk, 2017)

No	Senyawabioaktif	Aktivitasbiologis
1	Senyawafenolik: 2,2-dimethyl-8-prenylchromene	Antimikroba
2	Senyawafenolik: 4-hydroxy-3, 5-diprenyl cinnamic acid (artepillin C)	Antimikroba, antiinflamasi, antikanker
3	Senyawafenolik: 3-prenyl cinnamic acid allyl ester	Antimikroba
4	Senyawafenolik: kaempferide	Antitumor, antikanker
5	Senyawafenolik: propolis benzofuran	Antifungal
6	Terpenoid: isocupressic acid, a labdane diterpenoid	Antifungal
7	Terpenoid: 13C-symphoreticolic acid, a clerodane diterpenoid	Antitumor
8	Terpenoid: esters of long-chain fatty acids, (3-hydroxystearic acid procrim a; 3-hydroxystearix acid, procrim b dan pentacyclic triterpenoid (lupeol)	Antioksidan, antimikroba, antitumor
9	Terpenoid: farnesol, sesquiterpenoid	Antifungal
10	Flavonoid: apigenin	Antibakteri, antiinflamasi
11	Flavonoid: Acacetin	Antialergi, antikanker
12	Flavonoid: Quercetin	Antikanker, antialergi, antibakteri, anti inflamasi
13	Flavonoid: Galangin	Antikanker, antioksidan
14	Flavonoid: Pinocembrin	Antimikroba, antikanker
15	Flavonoid: chrysin	Antibakteri, antiinflamasi, antikanker
16	Flavonoid: fisetin	Antibakteri, antialergi, antikanker
17	Flavonoid: caffeic acid phenetyl ester droxyl-2-decenoic acid	Antitumor, antikanker

**anti inflamasi dan stress oksidatif**



Propolis adalah agen potensial anti inflamasi baik untuk inflamasi tahap akut dan kronik. Inflamasi sendiri dapat mengakibatkan dampak toksik terhadap organisme sehingga harus dikendalikan agar tidak terjadi kerusakan yang diinduksi oleh produksi radikal bebas oleh makrofag dan neutrofil yang aktif sehingga terjadi degradasi dari asam lemak membran plasma, disrupsi protein membran, dan induksi mutasi DNA. Propolis seringkali digunakan untuk otot dan sendi, serta berbagai penyakit inflamasi, infeksi, rheumatism, dan torsio. Studi pada tikus dan kelinci, menunjukkan solusio hidroalkoholik dari propolis memiliki aktivitas antiinflamasi baik dengan pemberian secara topikal, injeksi, ataupun oral (Ramos, dkk, 2007).

Substansi antiinflamasi dari propolis berdasarkan penelitian diantaranya caffeic acid, quercetin, naringenin, dan caffeic acid phenethyl ester (CAPE) dapat mensupresi sintesis prostaglandin dan leukotrien oleh makrofag serta menghambat aktivitas myeloperoxidase, NADPH-oxidase, omithine decarboxylase, dan tyrosine-protein-kinase. Penelitian lain aktivitas anti inflamasi propolis akibat senyawa lain yaitu asam salisilat, apigenin, asam ferulat, dan galangin. Inhibisi dari produksi NO oleh makrofag dapat memberikan efek antiinflamasi. Pada studi ethanol dan water extracts (WSD), didapat keduanya dapat menghambat peningkatan PGE2 dan juga memiliki efek inhibisi signifikan terhadap NO dimana NO dapat mengakselerasi reaksi inflamasi dengan vasodilatasi dan menyebabkan edema. Akan tetapi, pada beberapa studi lain didapat makrofag meningkatkan produksi NO (Ramos, dkk, 2007).

Propolis yang memiliki polifenol juga bermanfaat untuk mengeluarkan kelebihan radikal bebas dari organisme yang dapat berkontribusi terhadap kerusakan jaringan. CAPE diidentifikasi sebagai salah satu bahan aktif utama yang memiliki efek anti inflamasi dan anti oksidan. Pada studi pemberian propolis untuk mencegah kerusakan oksidatif *Escherichia coli*-induced pyelonephritis di tikus dan didapatkan bahwa dengan pemberian CAPE, malondialdehyde berkurang dimana substansi tersebut adalah indikator pembentukan radikal bebas yang akan meningkat pada tahap akhir lipid peroksidase. Pada studi lain dikatakan juga bahwa CAPE dapat menghambat ekspresi iNOS dan produksi NO di makrofag yang merupakan substansi yang memicu kerusakan sel dan menyebabkan perubahan fisiologis jangka panjang. CAPE juga secara signifikan meningkatkan enzim antioksidan SOD dan GSH-Px pada ginjal dari tikus yang terinfeksi (Ramos, dkk, 2007).

Pada studi lain yang serupa secara *in vivo* dilihat potensi anti inflamasi, antioksidan, dan ekstrak propolis terhadap *lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation* diberikan secara intraperitoneal kemudian kelompok tikus dibagi menjadi tikus tikus inflamasi ditambah pemberian propolis 30 mg/kg, dan tikus dengan h propolis 90 mg/kg yang diberikan secara oral 24 jam setelah ineksi LPS.



Kemudian dinilai inflamasi jaringan paru dan hati dengan FDG-PET dan ditentukan kadar malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), katalase (CAT), NO, dan fragmen DNA. SOD, CAT, GPX adalah antioksidan endogen, sedangkan produksi NO menggambarkan peran patogenesis kerusakan jaringan akibat endotoksin. MDA ditemukan dalam kadar yang lebih rendah sedangkan Inhibisi SOD% lebih tinggi pada kelompok dengan propolis 90 mg/kg dibanding kelompok inflamasi. Di sisi lain, aktivitas katalase pada kelompok yang diberi propolis baik 30 mg/kg maupun 90 mg/kg didapatkan lebih tinggi dibanding kelompok inflamasi. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa propolis dapat bermanfaat untuk mengobati penyakit-penyakit inflamasi melalui efek yang bisa menurunkan produksi radikal bebas (Yangi B, dkk, 2018).

### **Manfaat Propolis pada Infeksi**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa propolis memiliki sifat anti mikroba, anti uniseluler, anti virus dan anti jamur (Fernandes, dkk, 2007). Sifat anti mikroba dari propolis dapat terjadi melalui aksi langsung pada mikroorganisme atau aksi tidak langsung dengan stimulasi system imun yang mengakibatkan membunuh lebih banyak mikroorganisme. Metode in vivo dan in vitro membuktikan bahwa propolis dapat mengaktifkan makrofag, meningkatkan aktivitas antimikroba dan juga merangsang produksi antibodi (Shahin, dkk., 2012). Studi yang dilakukan oleh Taufik, 2022. menunjukkan bahwa pelarut yang digunakan untuk ekstraksi propolis dapat mempengaruhi potensi aktivitas antimikroba. Sediaan propolis menunjukkan aktivitas anti-mikroba in vitro terutama melawan bakteri Gram-positif (*Staphylococci* dan *Streptococci spp.*) Dan Gram-negatif (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris* dan *P. aeruginosa*), *Helicobacter pylori*, protozoa (*T. cruzi*), jamur (*Candida albicans*) dan virus (HIV, virus Herpes atau virus influenza). Faktanya, sediaan minyak memiliki berbagai macam aktivitas anti-mikroba; larutan gliserin menunjukkan sedikit penghambatan bakteri Gram-positif, sedangkan larutan etanol dan propilen glikol menunjukkan aktivitas yang baik melawan ragi. Studi juga menunjukkan efek sinergis yang ditandai dari propolis pada aktivitas anti bakteri streptomisin dan cloxacillin, dan efek sinergis moderat pada aktivitas anti-bakteri kloramfenikol, cefradine dan polymyxin B dalam media kultur yang mengandung sejumlah tetap strain standar *Staphylococcus aureus*. Studi juga telah dilakukan pada 15 strain bakteri evansi klinis dalam kedokteran gigi: ekstrak propolis menunjukkan aktivitas tro, penghambatan kepatuhan sel dan penghambatan pembentukan glukosa dalam air. (Shahin, dkk, 2012; Taufik, dkk, 2022; Usman, dkk, 2016).



propolis, bernama *water-soluble derivative* (WSD), yang terkait dengan perlindungan antibakteri dan antijamur, dan mekanisme aksi seluler. Studi yang dilakukan untuk melihat fungsi imunomodulator dari turunan yang larut dalam air (WSD) dari propolis alami. Pemberian oral dan parenteral dari WSD meningkatkan tingkat kelangsungan hidup dan waktu kelangsungan hidup rata-rata pada infeksi bakteri eksperimental (*Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*) dan jamur (*Candida albicans*) pada mencit. Peningkatan resistensi diamati juga pada infeksi *Klebsiella pneumoniae* yang diinduksi setelah pengobatan siklofosamid. WSD merangsang makrofag peritoneal untuk menghasilkan interleukin-1 in vitro, yang berhubungan dengan peningkatan sekresi protein totalnya. Selain itu, WSD gagal memicu proliferasi limfosit seperti yang ditentukan oleh uji kelenjar getah bening popliteal. WSD disarankan untuk meningkatkan pertahanan host non-spesifik melalui aktivasi makrofag. (Dimov, dkk, 1991)

### 2.3 Nuclear Factor kappa Beta (NFkB)

Pensinyalan aktivasi Nuclear Factor kappa Beta (NF- $\kappa$ B) dapat terjadi melalui dua jalur utama yaitu jalur kanonikal dan non-kanonikal. Jalur kanonikal memperantarai aktivasi NF- $\kappa$ B, p50, RELA dan c-REL (yang disebut juga anggota keluarga NF $\kappa$ B kanonikal), sedangkan jalur non-kanonikal secara selektif mengaktifkan anggota NF $\kappa$ B terikat p100, utamanya NF- $\kappa$ B2 p52 dan RELB (biasa disebut anggota keluarga NF $\kappa$ B non-kanonikal). (Barnabei dkk, 2021)

Proses aktivasi (kanonikal/klasikal) dimulai dengan aktivasi NF $\kappa$ B diinisiasi oleh degradasi protein I $\kappa$ B dalam merespon suatu stimulus sinyal. Hal ini terjadi terutama melalui aktivasi kinase yang disebut I $\kappa$ B kinase (IKK). IKK terdiri dari heterodimer dari subunit IKK $\alpha$  dan IKK $\beta$  katalitik dan protein pengatur "utama" yang disebut NEMO (modulator penting NF- $\kappa$ B) atau gamma IKK.

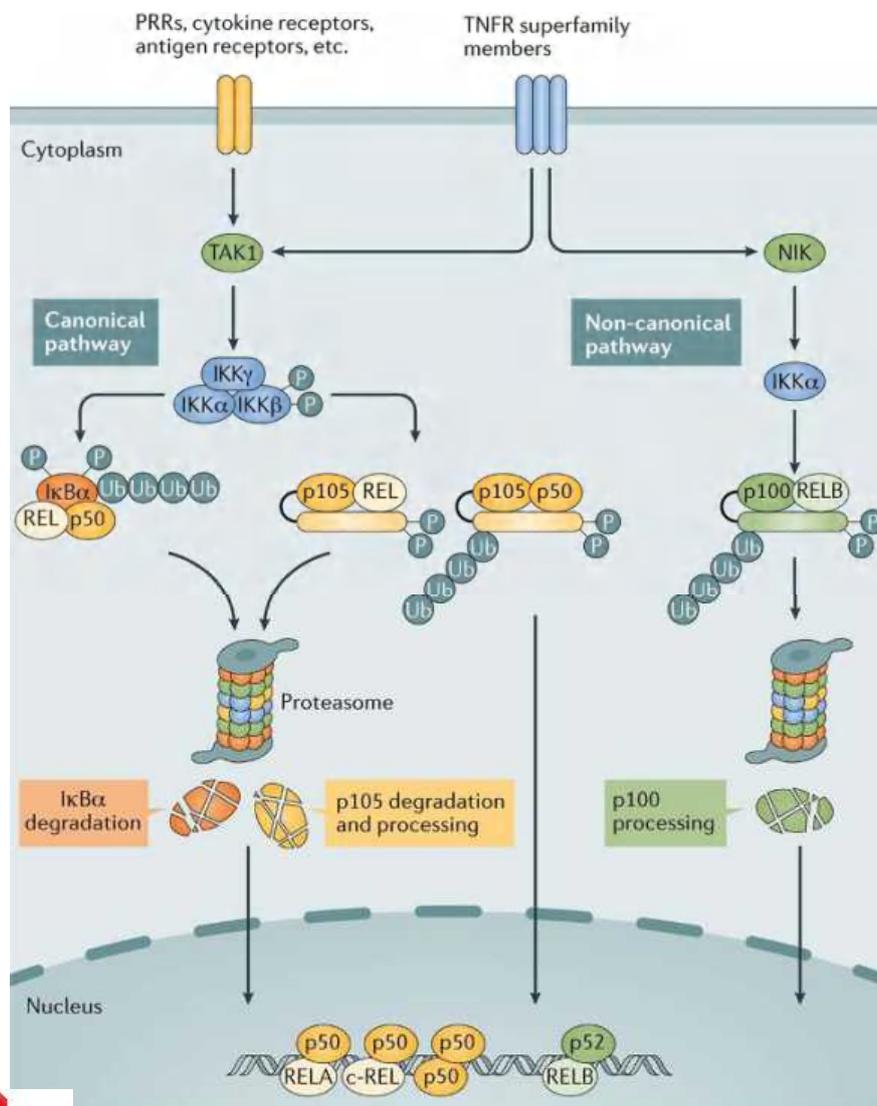
Bila diaktifkan oleh sinyal, biasanya berasal dari luar sel, kinase I $\kappa$ B memfosforilasi dua residu serin yang terletak di domain pengaturan I $\kappa$ B. Ketika fosforilasi pada serin ini (misalnya, serine 32 dan 36 pada manusia I $\kappa$ B $\alpha$ ), protein I $\kappa$ B dimodifikasi oleh proses yang disebut ubiquitinasi, yang kemudian menyebabkannya terdegradasi oleh organel sel yang disebut proteasom (Barnabei dkk, 2022; Shifera, 2010).



jalur NF $\kappa$ B non-kanonikal didasarkan pada proses p100. Berbeda dengan jalur kanonikal, pemrosesan p100 dikontrol dengan ketat dan terjadi dengan cara

diinduksi. Pengolahan p100 yang diinduksi sinyal mengarah pada pembentukan NF- $\kappa$ B2 p52 serta translokasi inti anggota NF $\kappa$ Bp100, yang sebagian besar adalah RELB dan NF- $\kappa$ B2 p52.

Proses p100 diinduksi melalui fosforilasi pada residu serin C-terminal spesifik (serine 866 dan 870), yang memicu ubilutilasi p100 melalui perekrutan E3 ubiquitin ligase  $\beta$ TrCP. Komponen pensinyalan sentral dari jalur NF $\kappa$ B non-kanonikal adalah NF- $\kappa$ B-inducing kinase (NIK; juga dikenal sebagai MAP3K14), yang menginduksi fosforilasi p100 melalui aktivasi kinase IKK $\alpha$ 1 (Trares dkk, 2022). Berbeda dengan aktivasi jalur NF $\kappa$ B kanonikal yang cepat dan sementara, aktivasi jalur NF $\kappa$ B non-kanonikal sangat lambat dan terus-menerus. Pendorong khas jalur NF $\kappa$ B non-kanonikal adalah ligan dari subset anggota superfamili reseptor faktor nekrosis tumor (TNFR). (Sun SC, 2017; Trares dkk, 2022)



Nature Reviews | Immunology



Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

### **Gambar 6.** Aktifitas jalur NFkB kanonikal dan non kanonikal

Aktivasi NFkB dimediasi oleh dua jalur pensinyalan utama, jalur kanonikal dan non-kanonikal, yang berbeda dalam mekanisme pensinyalan dan fungsi biologis.

Jalur NFkB kanonikal distimulasi oleh ligan dari beragam reseptor imun dan melibatkan aktivasi IκB kinase (IKK) yang cepat dan sementara, fosforilasi IκBα yang dimediasi IKK, dan degradasi IκBα berikutnya dan translokasi nuklir anggota NFkB kanonikal, termasuk p50, RELA dan c-REL.

Jalur NFkB non-kanonikal secara selektif merespons sinyal dari subset anggota superfamili tumor necrosis factor receptor (TNFR) dan melibatkan aktivasi lambat dan persisten dari NF-κB-inducing kinase (NIK), fosforilasi p100 yang dimediasi NIK, dan selanjutnya p100 pemrosesan dan translokasi nuklir anggota NFkB non-kanonikal, termasuk p52 dan RELB.

Jalur NFkB non-kanonikal dikontrol secara ketat oleh degradasi NIK yang bergantung pada ubiquitin yang dimediasi oleh kompleks ligase ubiquitin E3 yang terdiri dari anggota keluarga cIAP, faktor terkait TNFR 2 (TRAF2) dan TRAF3; aktivasi NFkB non-kanonik melibatkan gangguan yang diinduksi sinyal dari kompleks cIAP E3, biasanya melalui degradasi TRAF3, dan akumulasi NIK.

Jalur NFkB non-kanonikal mengatur aspek-aspek penting dari fungsi kekebalan, termasuk pengembangan organ limfoid, fungsi lintas-priming sel dendritik, kelangsungan hidup sel B dan reaksi pusat germinal, pembentukan dan pemeliharaan efektor dan sel T memori, dan antivirus bawaan. kekebalan.

Jalur NFkB non-kanonik terlibat dalam berbagai penyakit peradangan, seperti rheumatoid arthritis, lupus eritematosus sistemik, peradangan dan cedera ginjal, peradangan metabolik, dan peradangan sistem saraf pusat. (Sun SC, 2017)

NFkB diaktifkan oleh jalur pensinyalan kanonik dan non-kanonik, yang berbeda dalam komponen pensinyalan dan fungsi biologis. Peran penting untuk jalur NFkB non-kanonikal dalam mengatur berbagai aspek fungsi kekebalan. Cacat dalam pensinyalan NFkB non-kanonikal dikaitkan dengan defisiensi imun yang parah, sedangkan aktivasi yang tidak teratur dari jalur ini berkontribusi pada patogenesis berbagai penyakit autoimun dan inflamasi. Di sini kami meninjau mekanisme pensinyalan dan fungsi biologis dari jalur NFkB non-kanonikal.



Regulator yang mengatur aktivasi jalur NFkB non-kanonikal, yang dapat menjadi target baru untuk strategi terapeutik. (Sun SC, 2017)

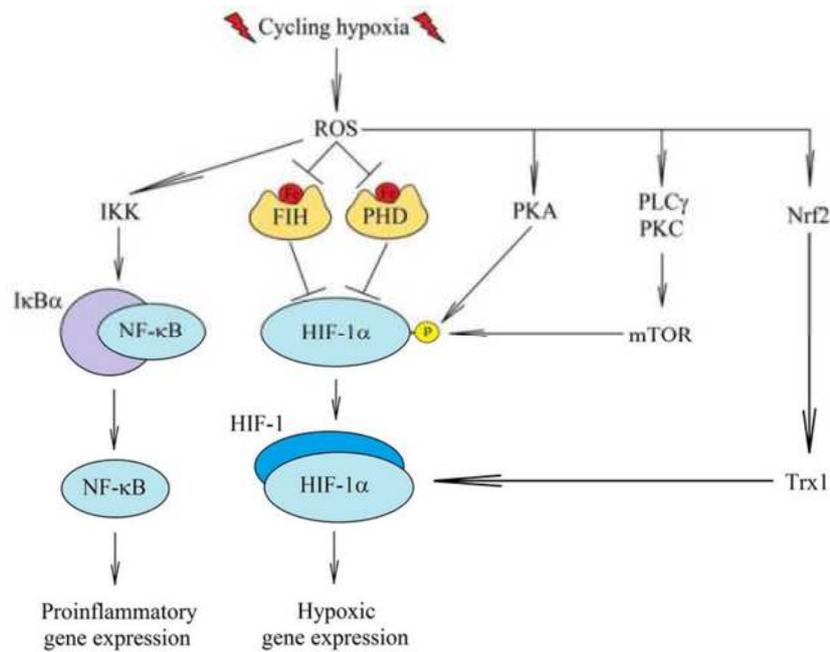
### 2.3.1 Mekanisme kerja NFkB

Protein NFkB pada nukleus terdiri dari keluarga faktor transkripsi dari golongan eukariotik yang terkait secara struktural. Pada awalnya NFkB ditemukan dalam limfosit, tetapi kemudian ditemukan di seluruh sel tubuh dan diekspresikan di hampir semua jenis sel manusia. Pada mamalia, keluarga NFkB (juga dikenal sebagai keluarga Rel) terdiri dari lima anggota: p50 (produk dari gen NFkB1), p52 (produk dari gen NFkB), p65 (juga dikenal sebagai RelA), c-Rel dan RelB. Dimer NFkB ada dalam bentuk laten di sitoplasma yang terikat oleh protein penghambat Ikb. Dengan adanya stimulus akan menginduksi NFkB(stres, sitokin, radikal bebas, radiasi UV, LDL teroksidasi, antigen bakteri atau virus) dan mengaktifkan kompleks IKK yang memfosforilasi Ikb, menyebabkan ubiquitinasi dan degradasi selanjutnya. Degradasi Ikb mengekspos domain pengikatan DNA dan urutan lokalisasi nuklir NFkB dan memungkinkan translokasi stabilnya ke nukleus dan regulasi gen target. Jalur pensinyalan NFkB memainkan peran kunci dalam inflamasi, respons imun, kontrol pertumbuhan sel, dan perlindungan terhadap apoptosis. Downregulation / penghambatan NFkB dianggap sebagai target obat potensial untuk intervensi terapeutik pada banyak penyakit seperti kanker, penyakit inflamasi dan autoimun (Al-Rasheed dkk, 2016; Karnina dkk, 2021)

Nuclear factor kappa Beta (NFkB) terdeteksi dalam berbagai jenis sel yang mengekspresikan sitokin, kemokin, faktor pertumbuhan, molekul adhesi sel, dan beberapa protein fase akut dalam keadaan sehat maupun kondisi sakit (Park dkk, 2016).

NFkB diaktifkan oleh berbagai macam rangsangan seperti sitokin, radikal bebas oksidan, partikel inhalasi, iradiasi ultraviolet, dan produk bakteri atau virus. Aktivasi yang tidak tepat dari NFkB telah dikaitkan dengan peristiwa inflamasi yang terkait dengan arthritis autoimun, asma, syok septik, fibrosis paru, glomerulonefritis, aterosklerosis, dan AIDS. Sebaliknya, penghambatan NFkB yang lengkap dan persisten telah dikaitkan langsung dengan apoptosis, perkembangan sel imun yang tidak tepat, dan keterlambatan pertumbuhan sel (Park, dkk, 2016).





**Gambar 7.** Pengaruh ROS dalam keadaan hipoksia dan aktivasi HIF-1 dan NFκB

Dengan adanya ke hipoksia maka akan menginduksi pembentukan Reactive Oxygen Species (ROS), yang menyebabkan peningkatan aktivasi HIF-1 $\alpha$  dan NFκB. Secara khusus, ROS menonaktifkan HIF asparaginyl hydroxylase (FIH) dan prolyl hydroxylase (PHD), yang menghasilkan peningkatan stabilitas protein HIF-1 $\alpha$ . ROS juga mengaktifkan cAMP-dependent protein kinase A (PKA) dan mammalian target of rapamycin (mTOR), yang memfosforilasi HIF-1 $\alpha$  dan dengan demikian meningkatkan stabilitas protein ini dan akumulasinya di dalam sel. ROS juga menyebabkan peningkatan ekspresi three prime exonucleases-1 (Trx1), yang meningkatkan aktivitas transkripsi HIF-1 $\alpha$  (Korbecki, dkk, 2021)

NFκB1 atau NFκB2 terikat ke REL, RELA, atau RELB untuk membentuk kompleks NFκB. Kompleks NFκB dihambat oleh protein IκB (NFκBIA atau NFκBIB), yang menonaktifkan NFκB dengan memerangkapnya dalam sitoplasma.

Fosforilasi residu serin pada protein IκB oleh kinase (IKKα atau IKKβ) menandai mereka untuk dihancurkan melalui jalur ubiquitinasi, sehingga memungkinkan aktivasi kompleks NFκB. Kompleks NFκB teraktivasi mentranslokasi ke dalam nukleus dan mengikat DNA pada motif pengikat kappa-β seperti 5-prime GGGRNNYYCC 3-prime atau 5-prime 3-prime (di mana H adalah A, C, atau T; R adalah A atau G purin, dan Y irimidin) (Sun dkk, 2016).

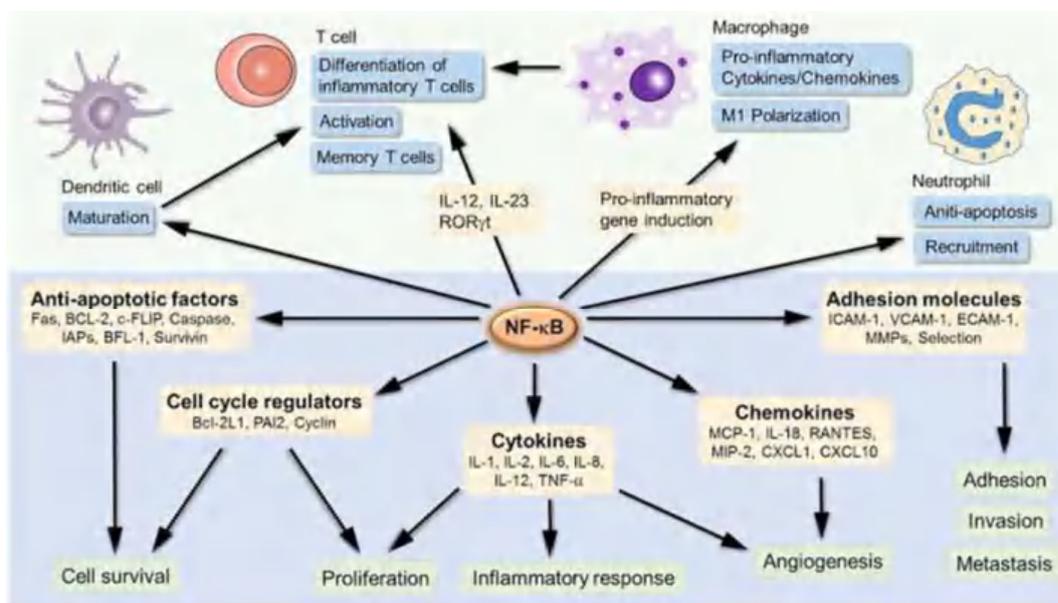


### 2.3.2 Target NF- $\kappa$ B.

Faktor transkripsi NF $\kappa$ B berfungsi untuk mengatur berbagai aspek fungsi imun innate (bawaan) dan adaptif dan berfungsi sebagai mediator penting dari respons inflamasi. NF $\kappa$ B menginduksi ekspresi berbagai gen pro-inflamasi, termasuk yang mengkode sitokin dan kemokin, dan juga berpartisipasi dalam regulasi inflamasi. Selain itu, NF $\kappa$ B memainkan peran penting dalam mengatur kelangsungan hidup, aktivasi dan diferensiasi sel imun bawaan dan sel T inflamasi.

Akibatnya, aktivasi NF $\kappa$ B yang dideregulasi berkontribusi pada proses patogen berbagai penyakit inflamasi. Berdasarkan hal tersebut maka aktivasi dan fungsi NF $\kappa$ B dalam kaitannya dengan penyakit inflamasi dan dapat dikembangkan sebagai terapi berdasarkan penghambatan aktifitas NF $\kappa$ B. (Liu, dkk, 2017)

Gen target NF $\kappa$ B selalu terlibat dalam perkembangan dan progresivitas proses inflamasi NF $\kappa$ B adalah faktor transkripsi yang dapat diinduksi oleh perubahan metabolisme tubuh, hormonal, dan infeksi mikroorganisme. Setelah teraktivasi maka NF $\kappa$ B dapat mengaktifkan proses transkripsi berbagai gen dimana dapat mengatur proses peradangan. NF $\kappa$ B akan menargetkan proses inflamasi tidak hanya secara langsung dengan meningkatkan produksi sitokin inflamasi, kemokin dan molekul adhesi, tetapi juga mengatur proliferasi sel, apoptosis, morfogenesis dan diferensiasi (Liu, dkk, 2017)



**Cambar 8.** Target gen NF $\kappa$ B yang terlibat dalam proses inflamasi.



adalah respon protektif dari tubuh terhadap infeksi dan kerusakan jaringan, gan serangkaian reaksi, termasuk vasodilatasi dan peningkatan sel imun dan tempat infeksi atau cedera jaringan. Biasanya, inflamasi bermanfaat bagi

tubuh penderita dan akan menurun kembali sesuai waktu, akan tetapi bila respon inflamasi yang tidak terderegulasi maka akan dapat menyebabkan kerusakan jaringan yang berlebihan atau bertahan lama, berkontribusi pada perkembangan penyakit inflamasi akut atau kronis. NFκB adalah mediator sentral dari induksi gen pro-inflamasi dan berfungsi baik pada sel imun bawaan maupun adaptif (Liu, dkk, 2017).

Sel imun bawaan, termasuk makrofag, sel dendritik dan neutrofil, adalah pemain penting dari imunitas bawaan dan peradangan. Sel-sel ini mengekspresikan PRR yang mendeteksi berbagai komponen mikroba, yang disebut pola molekul terkait patogen (patogen-associated molecular pattern/PAMPs). PRR juga mengenali pola molekul terkait kerusakan (DAMPs), yang merupakan molekul yang dilepaskan oleh sel nekrotik dan jaringan yang rusak. (Kusniati dkk, 2022)

Sel mamalia mengekspresikan lima keluarga PRR, termasuk reseptor seperti tol (TLR), reseptor seperti RIG-I, reseptor seperti NOD (NLR), reseptor seperti lektin tipe-C dan sensor DNA sitosolik. keluarga PRR yang berbeda memiliki sifat struktural yang berbeda dan merespons PAMP dan DAMP yang berbeda, tetapi mereka memiliki banyak kesamaan dalam jalur transduksi sinyal hilir (Liu, dkk, 2017).

Inflammasome adalah sekelompok kompleks multi-protein intraseluler yang dirancang sebagai respon terhadap PAMP dan DAMP, dan dicirikan oleh aktivasi caspases inflamasi. Inflammasome mekanik terdiri dari reseptor penginderaan ligan, yang mencakup anggota keluarga NLR serta Absent in melanoma 2 (AIM2), protein adaptor dari apoptosis-associated speck-like protein containing CARD (ASC) dan pro-caspase 1. Di antara reseptor inflammasome yang ditandai dengan baik adalah NLRP1, NLRP3, NLRC4 dan AIM2. Setelah stimulasi, reseptor inflammasome oligomerisasi dan merekrut pro-caspase 1 melalui ASC, sehingga merangsang pemrosesan dan konversi pro-caspase 1 menjadi caspase aktif 1. Caspase 1 yang diaktifkan kemudian membelah pro-IL-1β dan pro-IL-18 menjadi bentuk matangnya dan akan mengarah ke sekresi sitokin pro-inflamasi ini. (Liu dkk, 2017)

