

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

*Aging* (penuaan) merupakan suatu proses yang terjadi pada setiap manusia, dimulai sejak pembuahan dan berlangsung seumur hidup. Penuaan seringkali disertai dengan penurunan kapasitas dan fungsi jaringan tubuh secara perlahan disertai hilangnya kemampuan jaringan untuk memperbaiki dan mempertahankan struktur serta fungsi secara normal atau fisiologis. (Chalise, 2019; Gama et al., 2021) Penuaan bukanlah suatu penyakit, melainkan serangkaian perubahan progresif di tingkat molekul, sel, dan jaringan, yang menyebabkan penurunan kapasitas organisme dalam mempertahankan homeostasis. (Garrido et al., 2019)

Lebih dari 400 teori terkait proses penuaan telah diterbitkan, salah satu diantaranya yang paling banyak diterima adalah teori penuaan akibat radikal bebas (*free radical theory of aging*), pertama kali dikemukakan oleh Harman pada tahun 1956, yang kemudian dimodifikasi dan digabungkan dengan teori stres oksidatif penuaan (*oxidative stress theory of aging*). (Garrido et al., 2019; Martínez De Toda et al., 2020) Teori ini menjelaskan bahwa penuaan merupakan konsekuensi dari akumulasi kerusakan biomolekul akibat tingginya reaktivitas radikal bebas dalam sel. (Garrido et al., 2019) Stres oksidatif merupakan ketidakseimbangan antara radikal bebas (pro oksidan) dan antioksidan yang dipicu oleh dua kondisi umum yaitu kurangnya antioksidan dan kelebihan produksi radikal bebas. (Lisnawati Zalukhu et al., 2016)

Teori lain yang relevan dengan teori stres oksidatif penuaan adalah teori penuaan peradangan (*inflamm-aging theory*), dimana teori ini menjelaskan bahwa penuaan terjadi akibat meningkatnya penanda peradangan atau peradangan sistemik. Peradangan merupakan salah satu dari “tujuh pilar penuaan” (*pillars of aging*) yang telah ditetapkan pada penelitian geriatrik. Peradangan meningkat seiring bertambahnya usia dengan manifestasi sistemik menjadi penanda prognosis beberapa penyakit terkait usia, seperti penyakit kardiovaskular, diabetes mellitus dan beberapa jenis kanker, serta diperkirakan 20% dari seluruh kematian akibat kanker disebabkan oleh peradangan. (López-Otín et al., 2023; Piber et al., 2019)

Stres inflamasi kronis terjadi akibat ketidakseimbangan antara senyawa proinflamasi dan senyawa anti inflamasi. Diketahui bahwa sistem imunitas tubuh akan memproduksi mediator pro inflamasi untuk menjalankan fungsi pertahanannya. (de Toda et al., 2021; Federico et al., 2007)

Saat ini, teori penuaan oksidasi-inflamasi diusulkan untuk menggabungkan peningkatan oksidasi dan peradangan yang berkaitan dengan usia. Teori oksidatif inflamasi penuaan (*oxidative-inflammatory theory of aging*) yang menghubungkan peningkatan stres oksidatif dengan peradangan kronis tingkat rendah, yang disebut “peradangan penuaan” (*inflamm-aging*), melalui interaksi antar sistem imun. Teori ini menunjukkan bahwa perubahan yang berkaitan dengan usia dalam organisme berkaitan erat dengan perubahan kronis stres inflamasi oksidatif, yang akan merusak komponen seluler, termasuk protein, lipid dan DNA. (De Toda et al., 2019; Garrido et al., 2019)

Peningkatan stres oksidatif yang berkaitan dengan usia mengganggu fungsi sel yang normal. Mengingat bahwa oksidasi dan peradangan merupakan proses yang saling terkait, karena produksi radikal bebas yang berlebihan atau tidak terkendali dapat menyebabkan terjadinya peningkatan pelepasan mediator proinflamasi, sehingga menimbulkan stres oksidatif dan inflamasi kronis yang berkaitan dengan usia. (de Toda et al., 2021; Fuente & Miquel, 2009)

Konsentrasi sitokin inflamasi dan biomarker (seperti CRP) yang bersirkulasi meningkat seiring



Peningkatan kadar IL-6 dalam plasma merupakan biomarker prediktif dari semua pada populasi manusia yang menua. (Hirata et al., 2020)

MDA) merupakan penanda stres oksidatif dan telah dikaitkan dengan proses penuaan. menunjukkan bahwa kadar MDA plasma meningkat seiring bertambahnya usia, yang ingkatan stres oksidatif pada individu lanjut usia. (Gil et al., 2002; Mutlu-Türkoğlu et

al., 2003) MDA merupakan produk akhir peroksidasi lipid yang stabil dan dapat digunakan sebagai biomarker untuk kerusakan oksidatif.(Mao et al., 2020)

Interleukin-6 (IL-6) merupakan sitokin yang dikaitkan dengan proses penuaan. Peningkatan kadar IL-6 ini dikaitkan dengan peradangan kronis.(Brábek et al., 2020) Beberapa penelitian menunjukkan bahwa IL-6 dalam plasma meningkat seiring bertambahnya usia pada. Oleh karena itu, IL-6 dianggap sebagai molekul yang berperan penting dalam proses penuaan dan penyakit terkait usia.(Maggio et al., 2006)

Telah banyak penelitian dilakukan dalam ilmu penuaan (science of aging), yang menunjukkan kemajuan luar biasa di bidang gerontologi dalam menghadapi populasi lansia pada tahun 2025, yang diperkirakan melebihi 800 juta jiwa.(Fatemi et al., 2018; Gama et al., 2021) Penelitian terhadap penuaan dan penyakit yang berkaitan dengan usia dilakukan untuk membantu kita memahami patofisiologi penuaan. Berbagai model organisme dan intervensi menggunakan penanda molekuler yang dikembangkan oleh peneliti bidang gerontologi, salah satunya pemberian D-galaktosa yang dapat menginduksi terjadinya penuaan pada hewan coba normal. Paparan D-galaktosa akan memperburuk kerusakan oksidatif, termasuk terjadinya peningkatan kadar malondialdehid (MDA) dan kadar interleukin-6 (IL-6).(Fatemi et al., 2018)

Indonesia merupakan negara kepulauan terbesar di dunia yang terdiri dari 17.508 pulau dengan garis pantai sepanjang 81.000 km yang kaya akan sumber daya alam sektor kelautan dan perikanan. Salah satu biota laut yang berpotensi dimanfaatkan sebagai obat adalah landak laut (*D. setosum*). (Sabilu Y et al., 2022) Landak Laut (*D. setosum*) termasuk dalam filum *Echinodermata*, yang memiliki morfologi pada bagian luarnya berwarna hitam yang disertai duri-duri dan bagian dalamnya terdapat sel telur atau gonad yang banyak dikonsumsi masyarakat.(Karmilah et al., 2019; Savitri G G et al., 2023)

Berdasarkan berbagai penelitian terdahulu didapatkan beberapa senyawa aktif yang terkandung dalam landak laut, seperti *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) dan flavonoid yang dapat menghambat radikal bebas, sehingga dapat berfungsi sebagai antioxidant dan antiinflamasi alami.(Morrison et al., 2023; Ode Salma, 2016; Savitri G G et al., 2023)

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih jantan galur wistar, karena memiliki beberapa keuntungan yaitu ukurannya lebih besar dari mencit sehingga memudahkan pengamatan, mudah dipelihara dan karakter *fungsi* hewan pengerat ini mencerminkan sistem tubuh mamalia. Tikus putih yang digunakan adalah tikus putih jantan dengan umur 6-8 bulan dan berat 200-250 gram. Pemilihan tikus putih jantan dilakukan karena tikus putih jantan tidak mengalami siklus estrus sehingga sampel menjadi homogen, mudah dikendalikan dan hasilnya diharapkan lebih akurat.(Gama et al., 2021)

Salah satu model yang banyak digunakan dalam penelitian eksperimental proses penuaan adalah model induksi penuaan dengan D-galaktosa.(Azman & Zakaria, 2019) Pemberian D-galaktosa dalam dosis tinggi dan jangka panjang terbukti mampu meniru perubahan fisiologis dan biokimiawi yang menyerupai penuaan alami, seperti peningkatan stres oksidatif, peradangan sistemik kronis tingkat rendah (*low-grade chronic inflammation*), serta disfungsi mitokondria. Dalam kondisi berlebih, D-galaktosa mengalami auto-oksidasi yang menghasilkan radikal bebas seperti hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), yang memicu peroksidasi lipid dan kerusakan sel. Model ini telah menunjukkan peningkatan biomarker penuaan seperti malondialdehid (MDA) sebagai penanda stres oksidatif dan interleukin-6 (IL-6) sebagai indikator peradangan sistemik, yang sejalan dengan konsep *oxy-inflamm-aging*. (Azman & Zakaria, 2019)

D-galaktosa diberikan secara intraperitoneal dengan dosis 150 mg/kgBB per hari, berdasarkan sejumlah studi terdahulu dosis ini efektif untuk menginduksi stres oksidatif dan inflamasi kronis tanpa menyebabkan kematian hewan coba.(Fatemi et al., 2018) Durasi 6 minggu dipilih karena dianggap cukup untuk menimbulkan perubahan biologis yang signifikan terkait penuaan buatan (*accelerated aging*), sekaligus tetap berada dalam batas toleransi biologis hewan coba. Keunggulan dari model ini adalah kemampuannya mempercepat proses penuaan dalam waktu singkat dan secara konsisten menampilkan karakteristik molekuler serta fenotipik penuaan, sehingga sangat relevan digunakan untuk mengevaluasi efektivitas intervensi.(Azman & Zakaria, 2019)



lan dan antiinflamasi diyakini dapat menangkal reaksi stres oksidatif dan inflamasi pada proses penuaan. Penelitian mengenai aktivitas antioksidan dan antiinflamasi yang dikaitkan dengan proses *oxy-inflamm-aging* belum pernah dilakukan. Hal inilah yang menjadi motivasi peneliti untuk meneliti lebih jauh mengenai manfaat ekstrak gonad landak laut (*D. setosum*) sebagai antioksidan dan antiinflamasi alami pada proses penuaan.

## 1.2. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

Bagaimana efek pemberian gonad landak laut (*D. setosum*) sebagai antioksidan dan antiinflamasi alami terhadap kadar malondialdehid (MDA) dan interleukin-6 (IL-6) pada tikus wistar model penuaan yang diinduksi dengan D-galaktosa?

## 1.3. Tujuan Penelitian

### 1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui efek pemberian gonad landak laut (*D. setosum*) sebagai antioksidan alami terhadap kadar malondialdehid (MDA) dan interleukin-6 (IL-6) pada tikus wistar model penuaan yang diinduksi dengan D-galaktosa.

### 1.3.2. Tujuan Khusus

- Untuk mengetahui kadar malondialdehid (MDA) dan interleukin-6 (IL-6) pada tikus wistar model sehat
- Untuk mengetahui kadar malondialdehid (MDA) dan interleukin-6 (IL-6) pada tikus wistar model penuaan (diinduksi D-galaktosa selama 6 minggu)
- Untuk mengetahui kadar malondialdehid (MDA) dan interleukin-6 (IL-6) pada tikus wistar model penuaan yang diinduksi dengan D-galaktosa selama 6 minggu dan mendapatkan ekstrak landak laut (*D. setosum*) 100 mg/kgBB
- Untuk mengetahui kadar malondialdehid (MDA) dan interleukin-6 (IL-6) pada tikus wistar model penuaan yang diinduksi dengan D-galaktosa selama 6 minggu dan mendapatkan ekstrak landak laut (*D. setosum*) 300 mg/kgBB
- Membandingkan kadar malondialdehid (MDA) dan interleukin-6 (IL-6) pada tikus wistar antara kelompok model sehat, kelompok model penuaan, kelompok yang diinduksi dengan D-galaktosa selama 6 minggu dan mendapatkan ekstrak landak laut (*D. setosum*) 100 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB

## 1.4. Manfaat Penelitian

### 1.4.1. Manfaat Teoritik

Penelitian ini memberikan kontribusi keilmuan dalam mengungkap efek ekstrak landak laut (*D. setosum*) sebagai antioksidan alami terhadap kadar malondialdehid (MDA) dan interleukin-6 (IL-6) yang erat hubungannya dengan metabolisme tubuh yang berperan dalam proses penuaan.

### 1.4.2. Manfaat Praktis

- Bagi peneliti lain sebagai bahan referensi dan sumber bacaan untuk menambah wawasan dan pengetahuan tentang komponen biologis landak laut yang dapat memiliki potensi



yang dapat memberikan bukti ilmiah tentang potensi ekstrak gonad landak laut sebagai antiinflamasi alami dalam mengurangi proses penuaan terkait radikal bebas dan tingkat seluler.

Hal ini dapat membuka jalan bagi pengembangan suplemen atau obat alami yang berpotensi mencegah penyakit terkait usia melalui sumber daya alam.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Teori Penuaan

Penuaan telah menjadi fenomena global yang semakin signifikan dalam beberapa dekade terakhir, terutama seiring dengan peningkatan angka harapan hidup di seluruh dunia. Perubahan dramatis dalam struktur demografis populasi, ditandai dengan meningkatnya jumlah lansia, telah menjadi ciri khas abad ke-21. (Gama et al., 2021) Faktor-faktor seperti kemajuan dalam layanan medis, program vaksinasi yang lebih luas, dan peningkatan kesadaran akan kebersihan telah menjadi penyokong utama dalam memperpanjang usia harapan hidup dan meningkatkan kualitas hidup individu. (Eggleston & Fuchs, 2012; Rappuoli et al., 2014) Menurut WHO pada tahun 2015, rata-rata harapan hidup meningkat menjadi rata-rata 71,4 tahun, dan dari tahun 2015 hingga 2050, populasi global berusia 60 tahun ke atas diperkirakan akan tumbuh menjadi 12% menjadi 22%. (World Health Organisation, 2022) Menurut perkiraan yang tersedia, pada tahun 2025, jumlah populasi lansia di seluruh dunia diperkirakan akan melampaui angka 800 juta. (Fatemi et al., 2018; Gama et al., 2021) Hal ini mencerminkan pencapaian besar dalam bidang kesehatan, namun juga menimbulkan tantangan baru yang kompleks, baik dari segi sosial, ekonomi, maupun kesehatan. (Leyane et al., 2022a)

Definisi penuaan, pada dasarnya, merujuk pada serangkaian perubahan fisiologis, psikologis, dan sosial yang terjadi secara bertahap seiring berjalannya waktu. Proses ini sering kali ditandai dengan penurunan fungsi fisik dan kognitif, serta peningkatan resiko terhadap berbagai penyakit kronis yang berkaitan dengan usia, seperti kanker, diabetes mellitus tipe 2, dan penyakit kardiovaskular dan neurodegeneratif (Finkel et al., 2007; Samani dan van der Harst, 2008; Wyss-Coray, 2016).

Meskipun telah banyak teori yang diajukan, tidak ada satupun teori yang mampu menjelaskan proses penuaan secara komprehensif. Perubahan terkait usia secara tradisional digambarkan oleh sembilan ciri penuaan (*Hallmarks of Aging*) secara seluler dan molekuler yang mencakup 1) ketidakstabilan genom (*genomic instability*), 2) gesekan telomer (*telomere attrition*), 3) perubahan epigenetik (*epigenetic alterations*), 4) hilangnya proteostasis (*loss of proteostasis*), 5) deregulasi penginderaan nutrisi (*deregulated nutrient sensing*), 6) disfungsi mitokondria (*mitochondrial dysfunction*), 7) penuaan sel (*cellular senescence*), 8) kelelahan sel induk (*stem cell exhaustion*), 9) perubahan komunikasi antar sel (*altered intercellular communication*). (López-Otín et al., 2023)

Kemajuan dalam analisis multi-omik yang tinggi seperti transkriptomik, proteomik dan epigenomik menyebabkan beberapa konsep baru bermunculan. Dalam ulasan terbaru, López-Otín dan rekannya memperluas sembilan ciri penuaan menjadi 12 ciri penuaan dengan membagi menjadi 3 kelompok besar yaitu ciri utama (*primary*), ciri antagonis (*antagonistic*) dan ciri integratif (*integrative*). Ketidakstabilan genom (*genomic instability*), gesekan telomer (*telomere attrition*), perubahan epigenetik (*epigenetic alterations*), hilangnya proteostasis (*loss of proteostasis*), dan makroautofagi yang tidak berfungsi (*disable macroautophagy*) dikelompokkan sebagai ciri utama. Ciri-ciri utama, baik secara individu atau bersamaan/sinergi, dapat menyebabkan kerusakan pada tingkat molekuler dan sel. Dampak kumulatif dari kerusakan pada ciri ini umumnya bersifat negatif dan diyakini berperan dalam memicu dan perkembangan penyakit terkait usia. (Federico et al., 2007; López-Otín et al., 2023)

Deregulasi penginderaan nutrisi (*deregulated nutrient sensing*), disfungsi mitokondria (*mitochondrial dysfunction*), penuaan sel (*cellular senescence*) dikelompokkan sebagai ciri antagonis. Ciri-ciri antagonis merupakan respon terhadap kerusakan yang disebabkan oleh ciri-ciri utama. Awalnya, respon tersebut

merupakan respon terhadap kerusakan yang disebabkan oleh ciri-ciri utama. Awalnya, respon tersebut mengakibatkan kerusakan dan memberikan manfaat. Namun secara kebetulan atau dengan diperpanjang, mekanisme tersebut menjadi berbahaya dan berkontribusi terhadap perkembangan penyakit terkait usia. (Federico et al., 2007)





Gambar 1. The New Hallmark of Aging (López-Otín et al., 2023)

Kelelahan sel induk (*stem cell exhaustion*), 9) perubahan komunikasi antar sel (*altered intercellular communication*), disbiosis (*dysbiosis*), dan peradangan kronis (*chronic inflammation*) dikelompokkan sebagai ciri integratif. Ciri-ciri integratif muncul ketika homeostatis dari jaringan yang menua gagal menyelesaikan akumulasi kerusakan dengan ciri-ciri primer dan antagonis. Karena etiologi spesifik jaringan yang luas yang mendasari ciri-ciri integratif, permulaan dan perkembangannya dapat memperburuk ciri-ciri primer dan antagonis, sehingga menimbulkan sejumlah besar patologi penyakit terkait usia pada tingkat sistemik. (Federico et al., 2007; López-Otín et al., 2023)

Mekanisme penuaan sangat kompleks dan belum sepenuhnya dipahami. Namun, stres oksidatif kumulatif dan peradangan kronis adalah gambaran utama yang diteorikan memainkan peran penting dalam perkembangan usia dan penyakit degeneratif kronis. (Jia et al., 2013)

## 2.2. Radikal Bebas dan Stres Oksidatif

### 2.2.1. Radikal Bebas (*Free Radical*)

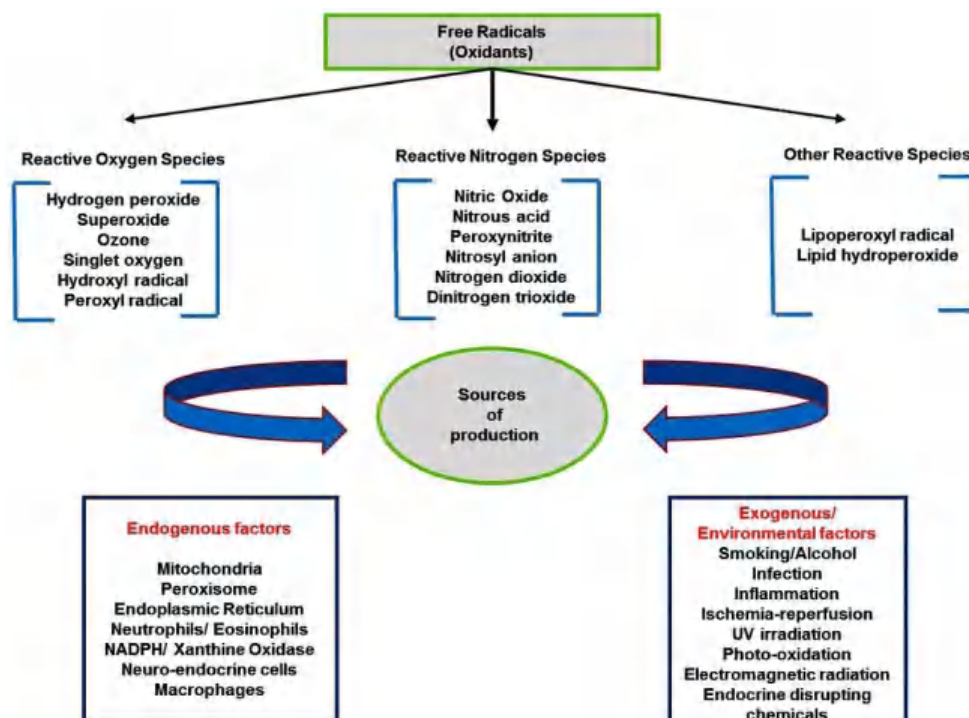
Radikal bebas merupakan produk metabolisme sel normal. (Phaniendra et al., 2015) Definisi radikal bebas adalah atom atau molekul yang sangat reaktif dengan satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada kulit valensi atau orbit terluarnya dan dapat terbentuk ketika oksigen berinteraksi dengan molekul tertentu, baik secara endogen melalui proses biologis alami, ataupun dihasilkan oleh paparan rangsangan eksternal. (Chandrasekaran et al., 2017) Radikal bebas memiliki ukuran yang sangat kecil dan berat molekul lebih rendah dibandingkan protein dan beberapa molekul pemberi sinyal yang membuat beberapa radikal bebas mampu menembus membran. (Chandrasekaran et al., 2017; Liguori et al., 2018) Radikal bebas dapat menyumbangkan elektron atau menerima elektron dari molekul lain, sehingga berperilaku sebagai oksidan dan reduktor. (Leyane et al., 2022b; Liguori et al., 2018) sumber radikal bebas bersifat endogen dan eksogen. Sumber endogen produksi radikal bebas meliputi respirasi aerobik di mitokondria, peroksisom, neutrophil, eosinophil, NADPH (*Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*) oksidase, dan makrofag. Sumber eksogen produksi radikal bebas meliputi radiasi pengion, sinar UV, agen kemoterapi dan faktor lingkungan seperti agen infeksi, makanan, polusi, bahan kimia, dan lain-lain. (Bisht & Dada, 2017; Leyane et al., 2022b; Liguori et al.,



diri dari *Reactive Oxygen Species* (ROS), *Reactive Nitrogen Species* (RNS) dan merupakan senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif yang



terdiri atas kelompok radikal dan non radikal. Kelompok radikal bebas misalnya superoxide anion, hydroxyl radicals, dan peroxy radicals. Kelompok non radikal seperti hidrogen peroksida dan organik peroksida. Selain itu terdapat pula radikal bebas lain seperti 6 hydroperoxyl, alkoxyl, karbonat, karbon dioksida, atomic chlorine dan nitrogen dioksida. (Park et al., 2008; Phaniendra et al., 2015)



Gambar 2. Klasifikasi dan Sumber Radikal Bebas (Bisht & Dada, 2017)

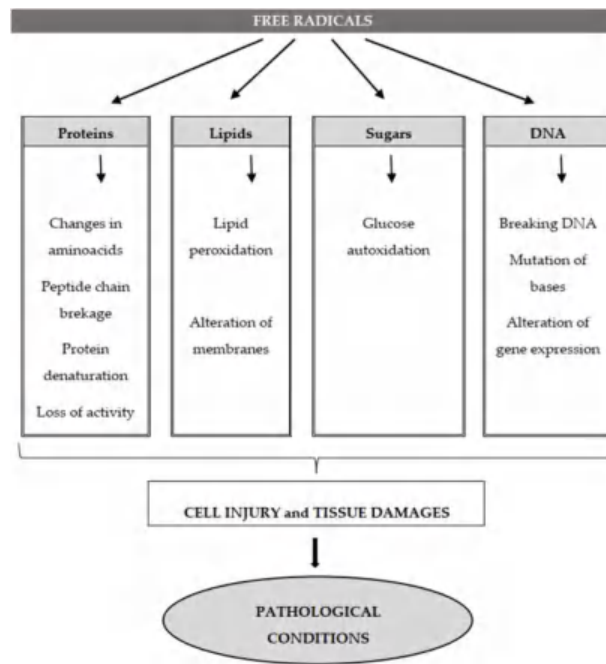
Radikal bebas yang paling banyak terbentuk di dalam tubuh adalah superoksida. Superoksida ini akan diubah menjadi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Hidrogen ini dalam tahap propagasi akan diubah menjadi radikal hidroksil ( $\cdot OH$ ). Radikal hidroksil inilah yang menyebabkan terjadinya peroksidasi lemak pada membran sel sehingga sel mengalami kerusakan. (Sharifi-Rad et al., 2020)

Radikal bebas memiliki dua sifat yaitu memiliki reaktivitas yang tinggi karena memiliki kecenderungan menarik elektron dan dapat mengubah suatu molekul menjadi suatu radikal. Sifat kecenderungan untuk menarik elektron merupakan sifat radikal bebas yang mirip dengan oksidan sehingga disebut juga penerima elektron. Namun tidak setiap oksidan adalah radikal bebas. Reaksi rantai (*chain reaction*) terbentuk karena kedua sifat radikal bebas diatas yang apabila menjumpai molekul lain akan membentuk radikal baru lagi.

Radikal hidroksil merupakan senyawa yang paling berbahaya karena memiliki reaktivitas yang sangat tinggi. Awal dari kerusakan-kerusakan sel terjadi apabila radikal bebas sempat bertemu dengan enzim atau asam lemak tak jenuh yang disertai dengan penurunan mekanisme pertahanan tubuh. Kerusakan tersebut dapat berupa kerusakan *deoxyribonucleic acid* pada inti sel, kerusakan membran sel, kerusakan protein, kerusakan lipid peroksida, autooksidasi glukosa dan proses penuaan. (Iakovou & Kourti, 2022; Phaniendra et al., 2015)

Produksi ROS dan/atau RNS yang berlebihan dapat mempengaruhi molekul protein yang mengakibatkan perubahan pada asam amino, kerusakan rantai peptida, aktivasi enzimatik, denaturasi dan aktivitas dari oksidasi protein. Pengaruh radikal bebas terhadap molekul lemak yaitu perubahan fungsi membran. Pada molekul gula terjadi autooksidasi glukosa dan pada asasi filamen DNA, 6egene basa dan perubahan ekspresi gen. Keempat molekul target cedera sel, kerusakan jaringan dan kelainan patologis selanjutnya. (Phaniendra et





Gambar 3. Target Molekul Radikal Bebas dan Kerusakan Oksidatif.  
(Phaniendra et al., 2015)

Radikal bebas di dalam tubuh merupakan hasil samping dari proses oksidasi dan pembakaran sel yang berlangsung pada waktu bernafas, metabolisme sel, olahraga yang berlebihan, peradangan, dan terpapar polusi (asap kendaraan, asap rokok, makanan, logam berat, dan radiasi matahari). Radikal bebas akan bereaksi dengan molekul sel di sekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron sehingga menjadi lebih stabil, tetapi molekul sel tubuh yang diambil elektronnya akan berubah menjadi radikal bebas. Reaksi ini akan berlangsung terus menerus dalam tubuh dan bila tidak dihentikan akan menimbulkan efek oksidatif yang menyebabkan suatu peradangan, kerusakan DNA atau sel dan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya. (Park et al., 2008; Phaniendra et al., 2015; Yuslianti, 2018)

Keberadaan radikal bebas tidak selamanya merugikan tubuh manusia akan tetapi ada juga yang mempunyai efek yang menguntungkan, seperti membantu destruksi sel-sel mikroorganisme, kanker dan proses pematangan sel-sel di dalam tubuh. Akan tetapi produksi radikal bebas yang berlebihan dan produksi antioksidan yang tidak memadai dapat menyebabkan kerusakan sel-sel jaringan dan enzim-enzim. Kerusakan jaringan dapat terjadi akibat gangguan oksidatif yang disebabkan radikal bebas asam lemak atau dikenal sebagai peroksidasi lipid. (Phaniendra et al., 2015; Yuslianti, 2018)

### Tahap Pembentukan Radikal Bebas

Pembentukan awal radikal bebas yaitu inisiasi, lalu perambatan atau terbentuknya radikal baru yaitu propagasi, dan tahap terakhir yaitu terminasi yaitu pemusnahan atau pengubahan menjadi radikal bebas stabil dan tidak reaktif. (Yuslianti, 2018)

Pada tahap inisiasi, radikal bebas yang terbentuk akan menyerang lipid sehingga terbentuk radikal lipid. Kemudian pada tahapan selanjutnya, radikal lipid akan bereaksi dengan molekul oksigen yang akan membentuk radikal lipid peroksil. Radikal lipid peroksil menyerang molekul lipid yang lain dan mengambil molekul hidrogen untuk membentuk lipid hidroperoksid dan pada saat yang sama akan menyerang molekul



tahap propagasi akan terjadi pemanjangan rantai radikal bebas. Pada reaksi ini proses oksidasi kedua sehingga akan menyebar dan satu molekul radikal dari proses menyebabkan oksidasi banyak molekul. (Yuslianti, 2018)

Tahap terakhir yaitu terminasi akan terjadi reaksi senyawa radikal dengan senyawa lainnya untuk menangkap radikal sehingga potensi dari proses propagasi rendah. (Yuslianti, 2018)

## **Stres Oksidatif**

Stres oksidatif adalah kondisi ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan. Radikal bebas dapat melakukan reaksinya pada peroksidasi lipid berantai dengan cara menambahkan atom hidrogen dari sisi rantai karbon metilen kemudian akan bereaksi dengan oksigen untuk membentuk radikal peroksil. Radikal peroksil inilah yang akan menginisiasi reaksi berantai dan akan mengubah *Polyunsaturated fatty acid* (PUFA) menjadi peroksidasi lipid. (Yuslianti, 2018)

Peroksidasi lipid memiliki sifat yang tidak stabil dan mudah diurai menjadi produk sekunder seperti aldehid dan malondialdehid. Malondialdehid dapat digunakan sebagai penanda kerusakan suatu sel atau jaringan yang disebabkan oleh stres oksidatif. Proses peroksidasi lipid yang terjadi akan mengganggu integritas dari membran sel dan akan menyebabkan perubahan susunan struktur membran. (Yuslianti, 2018)

### **2.2.2. Hubungan Stres Oksidatif dengan Penuaan**

Ketika terjadi ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas (ROS/RNS) dan pertahanan antioksidan, radikal bebas akan diproduksi dalam konsentrasi yang lebih tinggi sehingga menyebabkan stres oksidatif. Karena radikal bebas sangat reaktif, sehingga dapat merusak asam nukleat, protein dan lipid. (Phaniendra et al., 2015)

Radikal bebas terlibat dalam berbagai kondisi patologis penyakit seperti penuaan, diabetes, penyakit neurodegenerative, penyakit kardiovaskular, kanker, katarak, asma, rheumatoid arthritis dan diabetes mellitus. (Sharifi-Rad et al., 2020)

Saat ini, teori radikal bebas dan teori mitokondria adalah dua teori yang diakui mengenai mekanisme penuaan. Mekanisme penuaan didasarkan pada hipotesis bahwa peningkatan konsentrasi radikal bebas intraseluler menyebabkan disfungsi mitokondria dan mengubah fungsi struktural dan regenerasi seluler. Mitokondria dan sistem NOX adalah pemain utama yang terlibat dalam menghasilkan stres oksidatif seluler secara berlebihan. (Egea et al., 2017), (Park et al., 2008), dan (Zhang et al., 2004) menunjukkan bahwa penyakit degeneratif kronis menunjukkan peningkatan ekspresi dan/atau aktivitas NOX. Ada spekulasi bahwa peningkatan konsentrasi RONS dan stres oksidatif menyebabkan penuaan sel, yang ditandai dengan terhentinya proliferasi sel dalam proses normal dan patofisiologis. Selain itu, *senescence-associated secretory phenotype* (SASP) dipicu oleh berbagai rangsangan, seperti sekresi matriks metalloproteases (MMPs) degeneratif, komponen matriks ekstraseluler (ECM) yang tidak larut, dan kemokin terlarut, sitokin, dan faktor pertumbuhan. (Chandrasekaran et al., 2017)

### **2.2.3. Malondialdehid (MDA) sebagai penanda oksidatif**

Malondialdehid (MDA) merupakan salah satu produk final dari peroksidasi lipid. Senyawa ini terbentuk akibat degradasi radikal bebas *OH* terhadap asam lemak tak jenuh yang nantinya menjadi radikal yang sangat reaktif. Senyawa ini memiliki tiga rantai karbon dengan rumus molekul  $C_3H_4O_2$ . MDA juga merupakan produk dekomposisi dari asam amino, karbohidrat kompleks, pentosa dan heksosa. Selain itu, MDA juga merupakan produk yang dihasilkan oleh radikal bebas melalui reaksi ionisasi dalam tubuh dan produk samping biosintesis prostaglandin yang merupakan produk akhir oksidasi lipid membran. Di samping itu, MDA juga merupakan metabolit komponen sel yang dihasilkan oleh radikal bebas. Oleh sebab itu, konsentrasi MDA yang tinggi menunjukkan adanya proses oksidasi dalam membran sel. Status

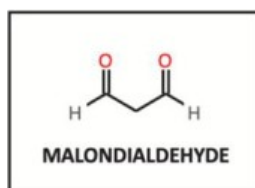
gi biasanya diikuti oleh penurunan kadar MDA. (Birben et al., 2012)

ering terjadi sebagai respons terhadap stres oksidatif, dimana spesies oksigen reaktif oksidasi lipid yang mengandung ikatan rangkap karbon-karbon pada lapisan ganda oksidasi lipid terjadi dalam tiga fase utama yaitu inisiasi, propagasi rantai dan terminasi. al akan menghasilkan 200-400 siklus propagasi, menghasilkan aldehida tak jenuh (4- $\alpha$  acrolein), dialdehida (malondialdehid dan glioksal) dan ketoaldehida (4-okso-2-



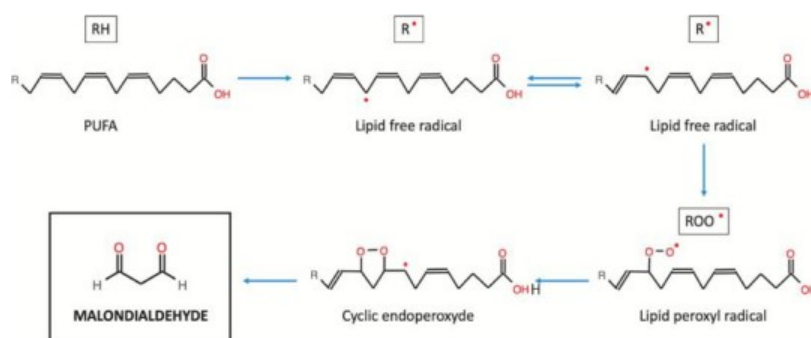


noneal). Beberapa diantaranya sangat reaktif dan dianggap sebagai pembawa pesan toksik kedua, yang menyebarkan dan memperbesar kerusakan oksidatif.(Mas-Bargues et al., 2021)



Gambar 4. Struktur Kimia Malondialdehid (MDA)  
(Mas-Bargues et al., 2021)

Malondialdehid diproduksi dalam jumlah besar selama peroksidasi lipid, hal ini menjadikan MDA sebagai biomarker dalam mengukur stres oksidatif. MDA berasal dari asam lemak tak jenuh ganda (*Polyunsaturated Fatty Acid*/PUFA), ketika ikatan rangkap karbon-karbon diserang oleh radikal bebas, akan dibentuk radikal lipid tak jenuh dengan pelepasan H<sub>2</sub>O. Penangkapan O<sub>2</sub> lebih lanjut akan menyebabkan terbentuknya radikal peroksil dan hidroperoksida lipid. Di satu sisi, radikal peroksil dapat mengembangkan siklisasi. Radikal bebas yang terbentuk setelah siklisasi dapat bersiklisasi lagi untuk membentuk endoperoksida, yang secara struktural berkaitan dengan prostaglandin dan mengalami pembelahan untuk menghasilkan MDA.(Mas-Bargues et al., 2021)



Gambar 5. Proses terbentuknya MDA oleh Peroksidasi Lipid  
(Mas-Bargues et al., 2021)

Kadar malondialdehid dapat diukur dengan 3 cara yaitu *Thiobarbituric Acid Related Substance* (TBARS), *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), dan *Enzim-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Metode HPLC dan ELISA memiliki sensitivitas yang lebih baik dibanding TBARS. Metode ELISA pengerjaannya relatif lebih mudah dan cepat, tetapi lebih mahal dan harus dikerjakan di laboratorium oleh seorang ahli dibandingkan metode TBARS yang merupakan metode yang sederhana dan lebih murah (Anggraeni et al., 2017)

#### 2.2.4. Antioksidan

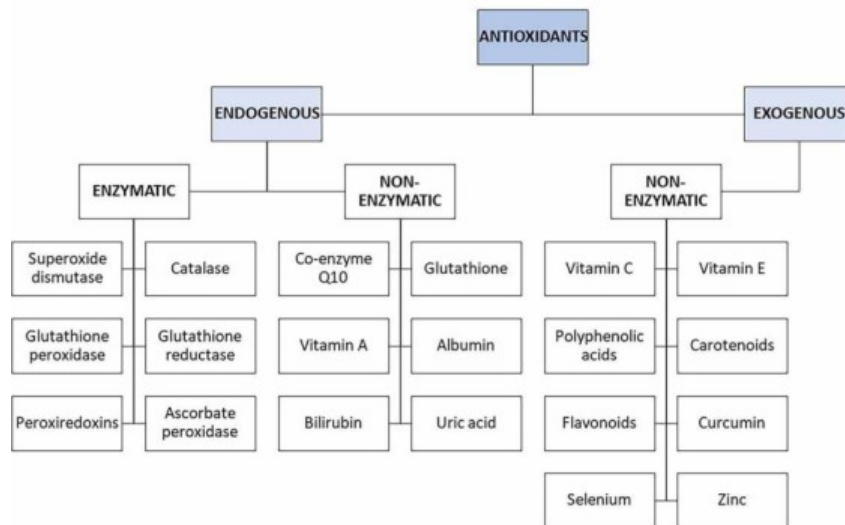
Antioksidan merupakan substansi yang diperlukan oleh tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal



yang dapat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang menimbulkan kerusakan (Anggraeni et al., 2012; Iakovou & Kourti, 2022)

Antioksidan diproduksi secara endogen dan eksogen, yang melindungi sel dari efek berbahaya dengan menyumbangkan elektronnya sendiri untuk menetralkan radikal bebas. Antioksidan endogen bekerja sendiri sebagai penangkal radikal bebas eksogen maupun radikal bebas endogen. Selain itu, ada juga antioksidan sekunder yaitu antioksidan yang berfungsi menangkap radikal bebas untuk menghentikan pembentukan radikal bebas. Adapun yang termasuk dalam antioksidan

enzimatik yaitu (*Superoxide dismutase (SOD)*, *Glutathione peroxidase (GPx)*, *Catalase (CAT)*, *Glutathione reductase (GRx)*, *Peroxiredoxins* dan *ascorbate peroxidase*).



Gambar 6. Skema antioksidan (Iakovou & Kourti, 2022)

Antioksidan non enzimatik (*Glutathione*, *Co-enzym Q10*, *Vitamin A*, *Albumin*, *Bilirubin* dan *Uric Acid*). Sedangkan antioksidan eksogen contohnya *Vitamin C*, *Vitamin E*, *Carotenoids*, *Polyphenolic acids*, *Flavonoids*, *Curcumin*, *Selenium* dan *Zinc*. (Iakovou & Kourti, 2022; Sindhi et al., 2013)

## 2.3. Inflammaging

Proses penuaan merupakan fenomena yang dapat menyebabkan beberapa penyakit kronis karena respon inflamasi. (Nurmahliati et al., 2020) Peradangan pada penuaan (*Inflammaging*) merupakan studi penuaan yang pertama kali dipaparkan oleh Franceschi et al pada tahun 2000. *Inflammaging* merupakan cabang baru yang menantang dan menjanjikan di bidang penelitian terkait penuaan dan berperan penting dalam laju penuaan dan penyakit terkait usia. (Xia et al., 2016)

### 2.3.1. Konsep *Inflammaging*

Ciri utama dari proses penuaan adalah terjadinya peningkatan yang progresif dan kronis pada molekul proinflamasi. *Inflammaging* merupakan inflamasi sistemik yang terjadi akibat proses penuaan tanpa adanya infeksi dari luar dan merupakan faktor yang sangat mempengaruhi morbiditas dan mortalitas pada usia lanjut. (Nurmahliati et al., 2020; Xia et al., 2016)

Berikut beberapa mekanisme seluler spesifik yang terlibat dalam penuaan (*Aging-Associated Cellular Mechanisms*):

#### a. *Genomic Instability*

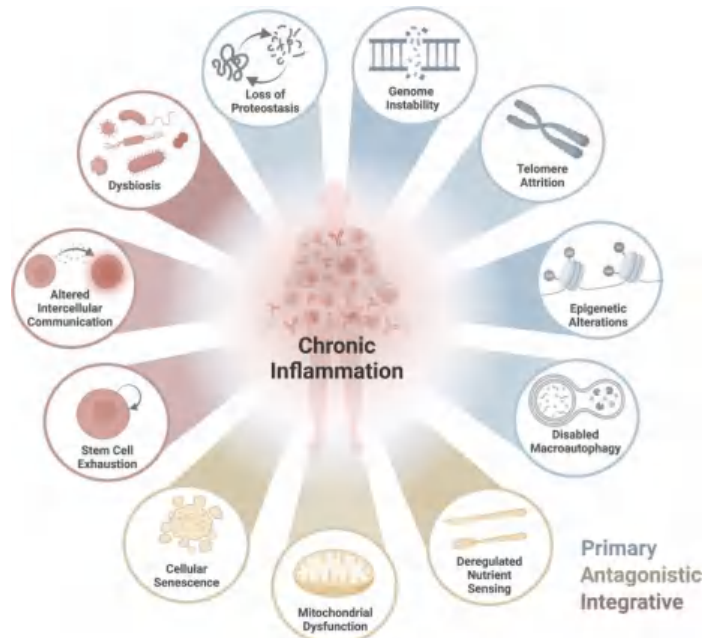
Ketidakstabilan genom merupakan akumulasi kerusakan genom sepanjang hidup yang disebabkan oleh agen eksogen (kimia, fisik dan biologis), serta endogen (kesalahan replikasi DNA, aksi ROS). (López-Otín et al., 2023) Namun, sel memiliki mekanisme untuk mengurangi lesi pada inti DNA dan mitokondria. Sistem mekanisme kontrol siklus sel menjaga integritas seluler. Selama penuaan, mekanisme berubah. Misalnya, ekspresi enzim perbaikan DNA menurun, menyebabkan akumulasi kerusakan DNA. (López-Otín et al., 2023; Shekhidem et al., 2019)



#### b. *Epigenetic Alterations*

Epigenetik adalah perubahan yang terlokalisasi di ujung kromosom yang terdiri dari rangkaian DNA berulang. Perubahan epigenetik dapat terjadi akibat rekombinasi yang salah, degradasi dan pengenalan sebagai DNA yang

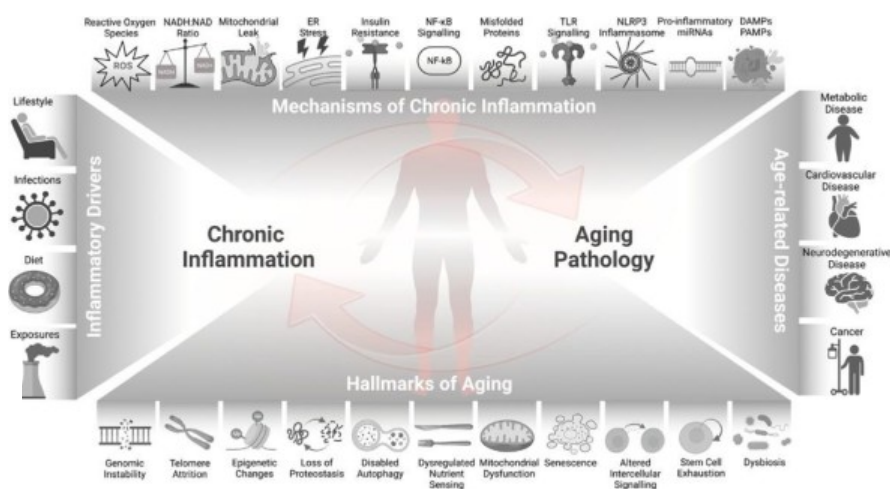
rusak. (Shekhidem et al., 2019; Zhu et al., 2019) Berdasarkan konservasi panjang telomer, enzim telomerase melakukan mekanisme perlindungan ini dengan membalikkan transkripsi template RNA. (Shekhidem et al., 2019) Selama penuaan, beberapa pemicu stres, seperti kerusakan yang disebabkan oleh ROS, dapat bersifat genotoksik, menyebabkan percepatan pemendekan telomer. (Shekhidem et al., 2019) Telomerase tidak dapat mengkompensasi pemendekan ini, sehingga memicu perubahan fungsional sel yang menyebabkan aktivasi penuaan sel. (López-Otín et al., 2023; Shekhidem et al., 2019)



Gambar 7. Chronic Inflammation and The Hallmark of Aging (Federico et al., 2007)

### c. Senescence

Penuaan adalah proses fisiologis yang menghentikan perkembangan siklus sel, bersamaan dengan perubahan fenotipik sel tua, seperti peningkatan morfologi dan ukuran inti sel. Hal ini bertujuan untuk mencegah proliferasi sel-sel yang rusak, sebuah fenomena yang meningkat seiring bertambahnya usia. (Campisi & D'Adda Di Fagagna, 2007) Sel-sel tua ini terakumulasi di sebagian besar jaringan selama penuaan, menyebabkan hilangnya fungsi jaringan dan organ secara progresif. (He & Sharpless, 2017) Sel-sel tua menghasilkan peningkatan tingkat *Senescence-Associated Secretory Phenotype* (SASP), sebuah fenotip sekretori molekul yang menginduksi aktivasi penuaan menjadi bentuk endokrin dan parakrin di dalam sel. (Coppé et al., 2010)



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

sme klinis dan molekuler yang mendasari lingkaran peradangan kronis dan ciri-ciri penuaan. (Federico et al., 2007)

#### d. Mitochondrial Dysfunction

Mitochondria adalah organel seluler yang menyediakan energi untuk berfungsinya sel melalui fosforilasi oksidatif dan sintesis ATP. Selama penuaan, fungsi mitokondria menurun sehingga mengakibatkan berkurangnya ketersediaan energi akibat kerusakan DNA mitokondria (mtDNA) dengan hilangnya homeostasis fungsi enzim mitokondria, ditambah dengan disregulasi produksi ROS. (Phaniendra et al., 2015) Selama hidup, terjadi peningkatan mutasi mtDNA dengan defisiensi mekanisme pembuangan mtDNA yang rusak. Mesin perbaikan mtDNA harus bermigrasi dari nukleus ke mitokondria, dan selama penuaan, ekspresi protein ini berkurang. (López-Otín et al., 2023) Perubahan mtDNA menginduksi disfungsi dinamika mitokondria dan berkontribusi terhadap deregulasi sel selama penuaan, meningkatkan produksi ROS yang mempotensiasi kerusakan mtDNA, menghasilkan lingkaran setan kerusakan mtDNA dan malfungsi mitokondria. (López-Otín et al., 2023; Phaniendra et al., 2015)

#### 2.3.2. Hubungan *Inflammaging* dan Penyakit

Peradangan/Inflamasi memiliki fungsi fisiologis dalam tubuh seperti respon imun. Respon inflamasi sedang bermanfaat bagi tubuh, namun bila berlebihan responnya akan menjadi bahaya. Perubahan jaringan sitokin inflamasi mengontrol arah perkembangan inflamasi. Keseimbangan dinamis dari jaringan sitokin proinflamasi dan sitokin antiinflamasi menjaga fungsi fisiologis inflamasi pada tubuh normal. Inflamasi terus menerus pada proses penuaan dapat menyebabkan penyakit yang berhubungan dengan peradangan.

*Inflammaging* merupakan penentu kecepatan proses penuaan dan umur serta meningkatkan morbiditas dan mortalitas, sehingga merugikan kesehatan dan menyebabkan penurunan kualitas hidup. Penyakit yang terjadi akibat *Inflammaging* seperti penyakit alzheimer, parkinson, penyakit jantung, atherosclerosis, degenerasi makula terkait usia (*aged-related molecular degeneration*), multipel sklerosis, sklerosis, resistensi insulin, osteoporosis, diabetes mellitus tipe 2, kanker dan penyakit lain terkait usia.



Gambar 9. Hubungan antara *Inflammaging* dan penyakit terkait penuaan (Xia et al., 2016)

Peradangan kronis dan subklinis serta gangguan imunitas (kekebalan tubuh) terjadi bersamaan dalam proses *inflammaging*. Studi epidemiologi menunjukkan bahwa seiring bertambahnya usia, terjadi keseimbangan dalam hilangnya tulang tua dan pembentukan tulang baru. *Inflammaging* menjadi salah satu faktor yang berkontribusi terhadap ketidakseimbangan dan pengeroposan tulang yang berlebihan. Penanda (biomarker) *inflammaging* memberikan data yang diperlukan bagi dokter untuk penilaian risiko osteoporosis. Sitokin inflamasi mungkin menjadi target terapi untuk meningkatkan pembentukan tulang pada tulang. (Xia et al., 2016)



*inflammaging* tampaknya menjadi pedang bermata dua karena menurunkan fungsi kekebalan dan meningkatkan autoreaktivitas tubuh. *Inflammaging* bermanfaat bagi tubuh dengan berbahaya pada tahap awal kehidupan namun memiliki peran meredakan di kemudian

### 2.3.3. Mekanisme *Inflammaging*

Meskipun mekanisme inflamasi penuaan belum sepenuhnya dipahami, beberapa teori-teori ini berkaitan terhadap kejadian inflamasi penuaan :

1. Teori Stres (*The Theory of Stress*)
2. Teori Oksidasi-Peradangan (*The Theory of Oxidation-Inflammation*)
3. Teori Sitokin (*The Theory of Cytokines*)
4. Teori Kerusakan DNA (*The Theory of DNA Damage*)
5. Teori Autophagi (*The Theory of Autophagy*)
6. Teori Penuaan Sel Punca (*The Theory of Stem Cell Aging*)

### 2.3.4. Interleukin-6 (IL-6) sebagai penanda inflamasi

Peningkatan serum IL-6 pada lansia berhubungan dengan penyakit, kecacatan, dan kematian. Sebuah studi kohort besar menunjukkan bahwa IL-6 dalam serum merupakan penanda disabilitas yang dapat diandalkan pada lansia dan berkontribusi terhadap indeks prediktif disabilitas dan mortalitas. Fungsi beberapa sitokin seperti IL-10 dan TNF- $\alpha$ , bersifat kompleks dan memainkan peran yang berlawanan dalam reaksi inflamasi sistemik. IL-10 menghambat reaksi inflamasi, sedangkan TNF- $\alpha$  mengaktifkan reaksi inflamasi secara lokal dan sistemik. Regulasi IL-10 dan TNF- $\alpha$  yang berbeda mungkin penting untuk hasil akhir dari reaksi inflamasi. Oleh karena itu kadar IL-6, TNF- $\alpha$  dan IL-10 dapat dianggap sebagai penanda *inflammaging*. (De Martinis et al., 2005; Xia et al., 2016)

Interleukin merupakan kelompok sitokin (disekresi hormon) yang pertama kali diekspresikan oleh leukosit. Fungsi dari sistem kekebalan tubuh tergantung pada interleukin. Mayoritas interleukin disintesis oleh sel limfosit T helper CD4+, serta melalui monosit, makrofag, dan sel endotel. Interleukin mempromosikan pengembangan dan diferensiasi sel limfosit T, B, dan sel-sel hematopoietik. Peran interleukin didasarkan pada sinyal dari beberapa jenis sel yang berbeda dan berinteraksi untuk mengontrol sistem kekebalan tubuh sel. (Narazaki & Kishimoto, 2018)

Interleukin-6 merupakan salah satu famili interleukin yang terdiri dari rantai polipeptida sitokin dengan struktur 4  $\alpha$ -heliks dan memiliki berat molekul 21 hingga 28 kDa. (Rheumatology 6 Edition, 2015). Interleukin-6 dilepaskan oleh sel T dan makrofag yang diaktifkan selama respon fase akut setelah cedera atau trauma dan dapat menyebabkan peradangan atau infeksi. (Narazaki & Kishimoto, 2018)

IL-6 adalah sitokin proinflamasi pleiotropik dengan berbagai aktivitas biologis dalam pengaturan kekebalan tubuh, hematopoiesis, inflamasi, dan onkogenesis. IL-6 adalah glikoprotein yang diproduksi oleh makrofag, limfosit, fibroblas, dendritik endotel, dan sel otot polos. IL-6 memediasi reaksi sistemik terhadap stimulus inflamasi, yaitu demam, leukositosis, dan pelepasan protein fase akut hati seperti CRP, komponen pelengkap, fibrinogen, dan ferritin. (Tanaka & Kishimoto, 2012)

Setelah IL-6 disintesis dalam lesi lokal di tahap awal inflamasi, IL-6 bergerak ke hati melalui aliran darah, diikuti oleh induksi dari berbagai macam protein fase akut seperti protein C-reaktif (CRP), serum amyloid A (SAA), fibrinogen, haptoglobin, dan  $\alpha$ 1-antichymotrypsin. Di sisi lain, IL-6 mengurangi produksi fibronectin, albumin, dan transferin. Ketika konsentrasi tingkat tinggi SAA bertahan untuk waktu yang lama, mengarah ke komplikasi beberapa inflamasi kronis penyakit melalui generasi amyloid A amyloidosis. IL-6 juga terlibat dalam regulasi serum besi dan kadar seng melalui kontrol transporter. Sedangkan untuk besi serum, IL-6 menginduksi produksi hepsidin, yang menghalangi aksi transporter besi ferroportin 1 pada usus, dengan demikian mengurangi serum kadar besi. Ini berarti bahwa aksis IL-6-hepsidin bertanggung jawab untuk hipoferremia dan anemia yang terkait dengan inflamasi kronis. IL-6 juga meningkatkan ekspresi ZIP14 importir seng pada hepatosit dan menginduksi hypozincemia terlihat pada inflamasi. Ketika im tulang belakang, itu mempromosikan pematangan megakariosit, dengan demikian paskan trombosit. Perubahan ini dalam tingkat protein fase akut dan sel darah merah digunakan untuk evaluasi keparahan inflamasi dalam pemeriksaan laboratorium klinis (Moto, 2012)

mempromosikan diferensiasi spesifik sel T CD4p naif, sehingga melakukan fungsi hubungan respon imun bawaan dan respon imun didapat. Telah ditunjukkan bahwa





IL-6, dalam kombinasi dengan transformasi faktor pertumbuhan TGF- $\beta$ , sangat diperlukan untuk diferensiasi Th17 dari sel T naive CD4 $\beta$ , tetapi IL-6 juga menghambat diferensiasi Treg yang diinduksi TGF- $\beta$ . Upregulasi keseimbangan Th17 / Treg dianggap bertanggung jawab atas gangguan toleransi imunologi, dan dengan demikian secara patologis terlibat dalam pengembangan penyakit inflamasi autoimun dan kronis. IL-6 juga mempromosikan diferensiasi sel pembantu T-folikel serta produksi IL-21, yang mengatur sintesis imunoglobulin (Ig) dan terutama produksi IgG4. IL-6 juga menginduksi diferensiasi sel T CD8 $\beta$  ke dalam sel T sitotoksik. Di bawah salah satu nama sebelumnya, BSF-2, IL-6 ditemukan dapat menginduksi diferensiasi sel B yang diaktifkan menjadi sel plasma penghasil AB, sehingga oversintesis terus menerus dari IL-6 menghasilkan hypergammaglobulinemia dan produksi autoantibodi. IL-6 memberikan berbagai efek pada hepatosit dan limfosit dan ini sering terdeteksi pada penyakit inflamasi kronis. (Tanaka & Kishimoto, 2012)

IL-6 juga menginduksi kelebihan produksi VEGF, yang mengarah ke peningkatan angiogenesis dan peningkatan permeabilitas pembuluh darah, yang merupakan fitur patologis lesi inflamasi dan terlihat pada, misalnya, jaringan sinovial *rheumatoid arthritis* (RA) atau edema dari remitting synovitis simetris seronegatif dengan pitting edema (RS3PE) syndrome. Akhirnya, telah dilaporkan bahwa IL-6 membantu proliferasi keratinosit atau generasi kolagen dalam fibroblast dermal yang dapat menyebabkan perubahan pada kulit pasien dengan sklerosis sistemik. (Tanaka & Kishimoto, 2012)

#### 2.4. Hubungan Inflamasi dan Stres Oksidatif dalam proses Penuaan

Akar penyebab penuaan dan penyakit yang berkaitan dengan usia adalah oksidasi oleh radikal bebas dan peradangan, yang dihasilkan secara timbal balik. Peradangan (terutama peradangan kronis) yang disebabkan oleh oksidasi, obesitas dan infeksi menginduksi sel-sel kekebalan tubuh untuk terus aktif, mengakibatkan kerusakan kronis sehingga siklus perbaikan terus terjadi, dimana sel-sel terus membelah, bermutasi dan mati. Tingkat percepatan pembelahan sel terjadi akibat kesalahan penyalinan DNA, yang merupakan penyebab mutasi dari kanker dan penyakit terkait usia lainnya. (Sobhon et al., 2023)

Proses penuaan sangat bergantung pada mekanisme stres oksidatif dan peradangan. Adanya paparan berulang terhadap RONS menyebabkan kerusakan sel dan menimbulkan sinyal proinflamasi. Misalnya pada tikus tua, RONS yang terjadi terus menerus bertindak sebagai molekul pemberi sinyal proinflamasi dan mediator inflamasi di dalam sel itu sendiri (Petersen & Smith, 2016).

#### 2.5. Pemeriksaan ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) adalah metode imunodiagnostik berbasis enzim yang banyak digunakan dalam penelitian dan diagnostik biomedis untuk mendeteksi dan mengukur molekul-molekul penting secara spesifik, seperti antigen, antibodi, hormon, dan berbagai biomarker lainnya. ELISA memiliki keunggulan dalam hal sensitivitas, spesifisitas, dan efisiensi waktu, serta memungkinkan analisis kuantitatif terhadap sampel biologis dalam jumlah besar (Lequin, 2005).

Dalam konteks penelitian inflamasi dan penuaan, Interleukin-6 (IL-6) merupakan salah satu sitokin proinflamasi utama yang sering diukur menggunakan sandwich ELISA, yaitu teknik ELISA dua antibodi yang menggunakan antibodi penangkap dan deteksi untuk meningkatkan sensitivitas dan spesifisitas pengukuran. IL-6 berperan penting dalam respon imun sistemik, regulasi fase akut, dan sebagai indikator proses inflamasi kronik, termasuk pada model penuaan yang diinduksi oleh D-galaktosa (Tanaka et al., 2014). Metode sandwich ELISA memungkinkan pengukuran kadar IL-6 dalam serum atau plasma tikus secara akurat, dengan pembacaan hasil melalui spektrofotometri menggunakan microplate reader pada

tertentu (biasanya 450 nm).

Malondialdehid (MDA) adalah produk akhir dari peroksidasi lipid yang sering digunakan untuk mengukur stres oksidatif. Meskipun metode klasik pengukuran MDA umumnya menggunakan asam klorat (TBA) dan dikenal sebagai TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances), metode yang lebih spesifik dan bebas interferensi kini tersedia dalam bentuk ELISA kit untuk MDA. Metode ini biasanya menggunakan prinsip kompetitif, di mana antigen (MDA) dalam sampel akan bersaing dengan antigen yang telah dikonjugasi terhadap permukaan plat atau enzim untuk berikatan

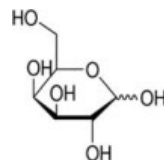


dengan antibodi spesifik. Semakin tinggi konsentrasi MDA dalam sampel, semakin rendah intensitas warna yang terbentuk pada reaksi akhir. Hal ini memungkinkan analisis kuantitatif MDA dalam serum, plasma, atau jaringan dengan sensitivitas yang tinggi dan potensi kesalahan yang lebih rendah dibandingkan metode TBARS (Wang et al., 2013).

Penggunaan metode ELISA dalam penelitian ini memiliki keunggulan karena mampu mendeteksi kadar IL-6 dan MDA secara simultan, spesifik, dan kuantitatif, sehingga sangat sesuai untuk menilai efek antiinflamasi dan antioksidan dari ekstrak gonad *Diadema setosum* pada model hewan penuaan. Selain itu, metode ini juga memungkinkan reproduksibilitas tinggi, dan cocok untuk analisis berbasis laboratorium yang membutuhkan presisi dan efisiensi.

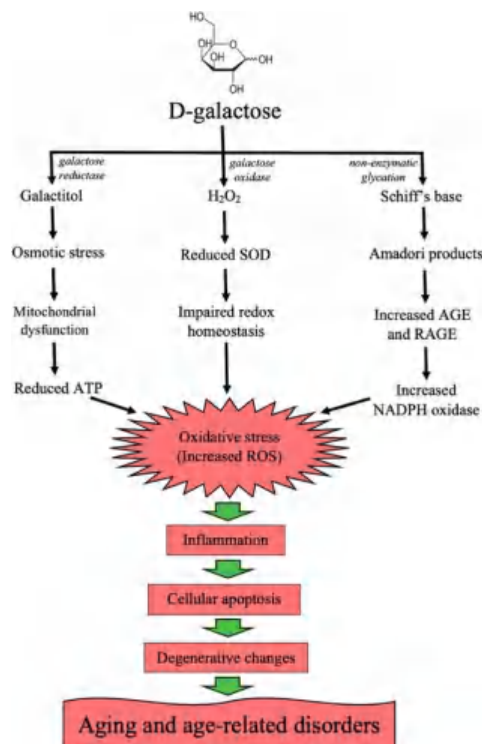
## 2.6. D-galaktosa sebagai induksi penuaan

Secara umum, model penuaan pada hewan coba dapat dibagi menjadi dua kategori yaitu model penuaan alami dan model penuaan yang dipercepat. Adapun jenis model penuaan yang dipercepat mencakup pengobatan hidroksiurea dan induksi D-galaktosa. Di antara model penuaan ini, induksi D-galaktosa adalah yang paling disukai oleh para peneliti, karena kenyamanannya, efek samping paling sedikit dan tingkat kelangsungan hidup yang lebih tinggi selama periode percobaan. (Azman & Zakaria, 2019)



Gambar 10. Struktur D-galaktosa

Galaktosa merupakan suatu senyawa karbohidrat yang termasuk ke dalam monosakarida, tergolong juga heksosa sebab mempunyai 6 atom C dalam molekulnya. Galaktosa adalah salah satu monomer pembentuk laktosa, senyawa ini bisa ditemukan pada susu. Galaktosa mempunyai kemampuan menyerap di dalam darah akibatnya mempunyai nilai *glycaemic index* yang lebih rendah dibandingkan dengan sukrosa (Thomas M. et al., 2006).



D-galaktosa merupakan produk alamiah yang dapat di jumpai di *Vigna subterranea*, *Lilium tenuifolium* m, dan organisme lain yang berada dalam data yang tersedia. D-galaktosa merupakan metabolit yang ditemukan atau dihasilkan oleh *Escherichia coli* (strain K12, MG1655) (Ncbi, 2005).

Dosis normal D-galaktosa yang terkandung di dalam darah sebaiknya kurang dari 10 mg/dL. Dosis harian paling tinggi yang dianjurkan untuk orang dewasa yang sehat adalah 50 gram galaktosa dan sebagian besar akan dibuang dari tubuh dalam waktu sekitar 8 jam setelah konsumsi (Morava, 2014).

Pemberian D-galaktosa dapat menginduksi penuaan menyeluruh pada berbagai sistem organ (Ji *et al.*, 2017). Pemberian D-galaktosa selama 6 minggu berturut-turut menyebabkan peningkatan galaktosa dalam tubuh (Ahangarpour *et al.*, 2014).

Selanjutnya, aldosa reduktase mengubah galaktosa menjadi galaktitol, satu senyawa yang tidak bisa dimetabolisme oleh tubuh. Akumulasi galaktitol dalam sel mengakibatkan terjadinya perubahan tekanan osmotik, pembengkakan sel, disfungsi sel, dan penuaan (Ye *et al.*, 2014).

Terdapat tiga mekanisme dasar induksi D-galaktosa dapat mempercepat proses penuaan, yaitu (1) kelebihan D-galaktosa akan direduksi oleh galaktosa reductase menjadi galaktiol yang mengakibatkan stres osmotik dan disfungsi mitokondria, (2) kelebihan D-galaktosa akan teroksidasi oleh galaktosa oksidase membentuk hydrogen peroksida sehingga menyebabkan penurunan kadar SOD dan terjadi gangguan homeostasis redoks, atau (3) kelebihan D-galaktosa akan bereaksi dengan amina membentuk senyawa basa Schiff dan produk Amadori yang menyebabkan peningkatan AGE, RAGE, dan NADPH oksidase. Ketiga mekanisme ini akan menimbulkan stres oksidatif dan aktivasi jalur inflamasi yang mengakibatkan apoptosis seluler dan perubahan degenerative, yang akhirnya akan menyebabkan penuaan dan gangguan terkait usia. (Azman & Zakaria, 2019)

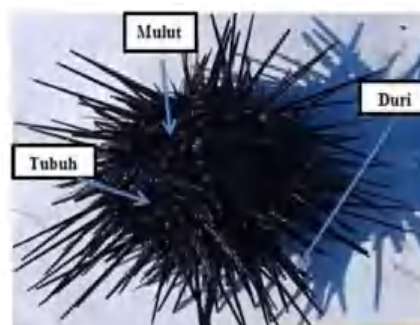
Mekanisme ini mendorong pembuatan banyak hewan coba model penuaan menggunakan D-galaktosa (Sulistiyoningrum & Article, 2016). Induksi D-galaktosa mengakibatkan stres oksidatif pada berbagai jaringan melalui peningkatan produksi ROS dan *advanced glycation endproduct* seperti layaknya terjadi pada penuaan alamiah. (Fatemi *et al.*, 2018)

## 2.7. Landak laut (*D. setosum*)

### 2.7.1. Klasifikasi dan Karakteristik Morfologi

Landak laut atau yang biasa disebut sebagai Bulu Babi, merupakan fauna invertebrate yang termasuk dalam filum Echinodermata yang paling melimpah dan tersebar di seluruh dunia. Terdapat kurang lebih 6000 jenis dan diperkirakan 900 jenis diantaranya adalah landak laut, yang terbagi atas 15 ordo, 46 famili dan 121 genus. (Agnello, 2017; Clark & Rowe, 1971)

Indonesia merupakan Negara dengan garis pantai terpanjang di dunia, dan merupakan lahan yang subur bagi landak laut, mengingat sebarannya hampir merata diseluruh Pantai. Di Indonesia, terdapat kurang lebih 84 jenis landak laut yang berasal dari 31 famili dan 48 genus. (Agnello, 2017; Clark & Rowe, 1971)



Gambar 12. *Diadema setosum* (Alwi *et al.*, 2020)



Klasifikasi landak laut (*Sea urchin*) (Alwi et al., 2020)

Kingdom : Animalia  
 Phylum : Echinodermata  
 Class : Echinodea  
 Ordo : Cidaroidea  
 Family : Diadematidae  
 Genus : *Diadema*  
 Spesies : *Diadema setosum*

*Diadema setosum* (Leske, 1778) memiliki ciri khas berupa tubuh bulat berwarna hitam pekat, duri-duri yang tajam, panjang dan rapuh disekujur tubuhnya, memiliki gonopore (kaki tabung) sebanyak 5 buah serta sangat jelas seperti mengkilap atau menyala, yang berfungsi untuk bergerak di atas substrat terumbu karang ataupun di atas pasir. Setiap duri mengandung racun yang dapat menyebabkan pembengkakan. (Afifa et al., 2018; Alwi et al., 2020)

## 2.7.2. Kandungan Gizi Dalam Landak Laut

Landak laut merupakan komoditas perikanan yang wajib dikembangkan karena merupakan bahan makanan bergizi tinggi yang dapat dikonsumsi ataupun dijual.



Gambar 13. Gonad landak laut (Karnila et al., 2022)

Beberapa jenis landak laut yang dapat dikonsumsi diantaranya adalah *Tripneustes gratilla*, *Strongylocentrotus franciscanus*, *S. droebrachiensis*, *S. purpuratus*, *Echinus esculatus*, *Mespila globulus*, *Heliochindaris crassipina*, *H. tuberculata*, *H. erythogamma*, *Paracentrotus lividus*, *D. setosum*, *Echinometra mathaei*, *Echinothrix sp*, *Salmacis sp* (Aziz, 1993) Gonad landak laut merupakan makanan yang memiliki nilai dagang yang tinggi dan sangat layak untuk di ekspor. *D. setosum* merupakan salah satu jenis landak laut yang dapat dikonsumsi dan mempunyai nilai jual yang tinggi.

Tabel 1. Komposisi Kimia Gonad Landak laut *D. setosum* per 100 gram

|                    | Komposisi Kimia |                     |
|--------------------|-----------------|---------------------|
|                    | Gonad Segar     | Gonad Kering Mentah |
| Air                | 78,10 gr        | 5,35 gr             |
| Protein            | 9,70 gr         | 39,18 gr            |
| Lemak              | 2,40 gr         | 8,70 gr             |
| Hidrat Arang Total | 7,90 gr         | 8,57 gr             |
| Energi             | 93 kal          | 390 kal             |
| Abu                | 1,80 gr         | 8,20 gr             |
| Kalsium            | 116 mg          | 776 mg              |
| Fosfor             | 278 mg          | 596 mg              |
| Besi               | 4,10 mg         | 1250 mg             |
| Karoten total      | 2608 mg         | 5716 mg             |
| Vitamin A          | 865 SI          | 3349 SI             |
| Vitamin B1         | 0,05 mg         | 0,08 mg             |
| Vitamin C          | 0 mg            | 0 mg                |
| Bdd                | 100%            | 100%                |

Sumber : Ismail et al 1981 in (Toha, 2006)



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

Landak laut memiliki gonad yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber pangan. Gonad tersebut terdapat dalam cangkang landak laut jantan dan betina dengan ukuran Panjang dapat mencapai 2 inchi dan lebar 1 inchi. Di dalam gonad tersebut terdapat kandungan gizi tinggi. Komponen paling banyak yang terdapat dalam gonad landak laut adalah protein.

Gonad landak laut mengandung 13 jenis asam amino, diantaranya merupakan asam amino esensial (*lysine, methionine, threonine, valine, arginine, histidine, tryptophan* dan *phenylalanine*), sisanya merupakan asam amino non esensial (*serine, cysteine, aspartate, glutamate, dan glycine*). (Karnila et al., 2022; Pringgenies et al., 2020) Selain itu, landak laut juga kaya akan vitamin B kompleks, vitamin A dan minerals, serta mengandung asam lemak tak jenuh (*unsaturated fatty acid*).

Tabel 2. Komposisi Lemak Tak Jenuh Landak Laut (Padang, Nurlina, et al., 2019)

| Komposisi |               |
|-----------|---------------|
| Omega-3   | 15,9 – 21,9 % |
| Omega-6   | 4,7 – 16,1 %  |
| EPA       | 8,8 – 11,1 %  |
| DHA       | 0,3 – 10,3 %  |

Kandungan lain yang terdapat dalam gonad landak laut adalah protein, lipids, glikogen serta kalsium, fosfor, vitamin A, B6, B2, B12, asam nikotinat, asam pantotenat, asam folat dan kreatin.

Dalam gonad landak laut *D. setosum* ditemukan 5 asam amino esensial bagi manusia dewasa (lisin, metionin, fenilalanin, treonin, dan valin) dua asam amino esensial bagi anak-anak (arginin dan histidin) serta terdapat asam amino semi esensial seperti sistin. Selain itu terdapat asam amino non esensial seperti asam aspartat, asam glutamat, glisin dan serin (Ismail et al., 1981 in Darsono 1982). Menurut Ishitsu et al. (1986) in Sumitro, et al. (1992), gonad landak laut termasuk makanan bergizi dengan komposisi asam amino yang cukup lengkap. Lembaga Osenologi Nasional (2003) menyebutkan bahwa gonad landak laut mengandung 13 jenis asam amino, delapan diantaranya asam amino esensial (lisin, metionin, treonin, valin, arginin, histidin, triptofan dan fenilalanin), sisanya adalah asam amino non esensial (serin, sistein, aspartat, glutamat dan glisin).

## 2.8. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar

Hewan laboratorium telah banyak digunakan dalam penelitian eksperimental selama beberapa tahun terakhir. (Andersen & Winter, 2019) Penggunaan hewan laboratorium digunakan tidak hanya untuk memahami prinsip dasar kehidupan tetapi juga di beberapa bidang kajian biomedis, terutama imunologi, onkologi, fisiologi, patologi, toksikologi, farmakologi dan penelitian ilmu saraf. (Andersen & Winter, 2019; Johnson, 2012)

Tikus putih adalah hewan laboratorium yang paling umum digunakan dalam penelitian, pengujian dan pelatihan biomedis, karena hewan pengerat ini memiliki beberapa keunggulan yaitu model yang mencerminkan fungsional tubuh mamalia, berkembang biak dengan cepat, lebih besar dari mencit sehingga lebih mudah dilakukan pengamatan dan dipelihara dalam jumlah besar. (Johnson, 2012)



### 4. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar (Gama et al., 2021)

Tikus putih adalah hewan percobaan yang paling banyak digunakan dalam penelitian biomedis, karena hewan pengerat ini memiliki kelebihan sebagai model yang fungsional dari sistem tubuh mamalia. (Johnson, 2012) Tikus putih memiliki banyak



keunggulan sebagai hewan laboratorium seperti perkembangbiakan yang cepat, ukuran yang lebih besar dari mencit sehingga memudahkan pengamatan, dan mudah dipelihara dalam jumlah yang banyak. (Maulana, 2014) Adapun klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut: (Maulana, 2014)

Kingdom : Animalia  
Phylum : Chordata  
Subphylum : Vertebrata  
Class : Mammalia  
Ordo : Rodentia  
Family : Muridae  
Genus : Rattus  
Species : *Rattus norvegicus*

Terdapat beberapa galur tikus yang sering digunakan dalam penelitian, antara lain *Wistar*, *Sprague-Dawley*, *Osborne-Mendel*, *Long-Evans*, *Holtzman*, *Slonaker*, dan *Albany*. Akan tetapi, galur tikus yang paling banyak digunakan untuk eksperimen di Laboratorium adalah *Wistar* dan *Sprague-Dawley*, terutama pada pengelolaan kesehatan gigi, obesitas, diabetes mellitus, hipertensi dan mempelajari hubungan antara nutrisi dengan penuaan dini. (Andreollo et al., 2012; Maulana, 2014) Penelitian ini akan menggunakan galur *Wistar* dengan ciri-ciri berwarna putih, berkepala besar dan ekornya lebih pendek daripada badannya, pertumbuhannya cepat, temperamennya baik, dan tahan terhadap perlakuan. Biasanya pada umur empat minggu tikus putih mencapai berat 35-40 gram, dan berat dewasa rata-rata 200-250 gram, dimana berat badan jantan lebih tinggi dibandingkan berat badan betina, dan akan bertambah seiring dengan pertambahan usia. (Andersen & Winter, 2019; Fitria & Sarto, 2014) Adapun data fisiologis tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai berikut: (Maulana, 2014)

Tabel 3. Data Fisiologis Tikus putih (*Rattus norvegicus*)

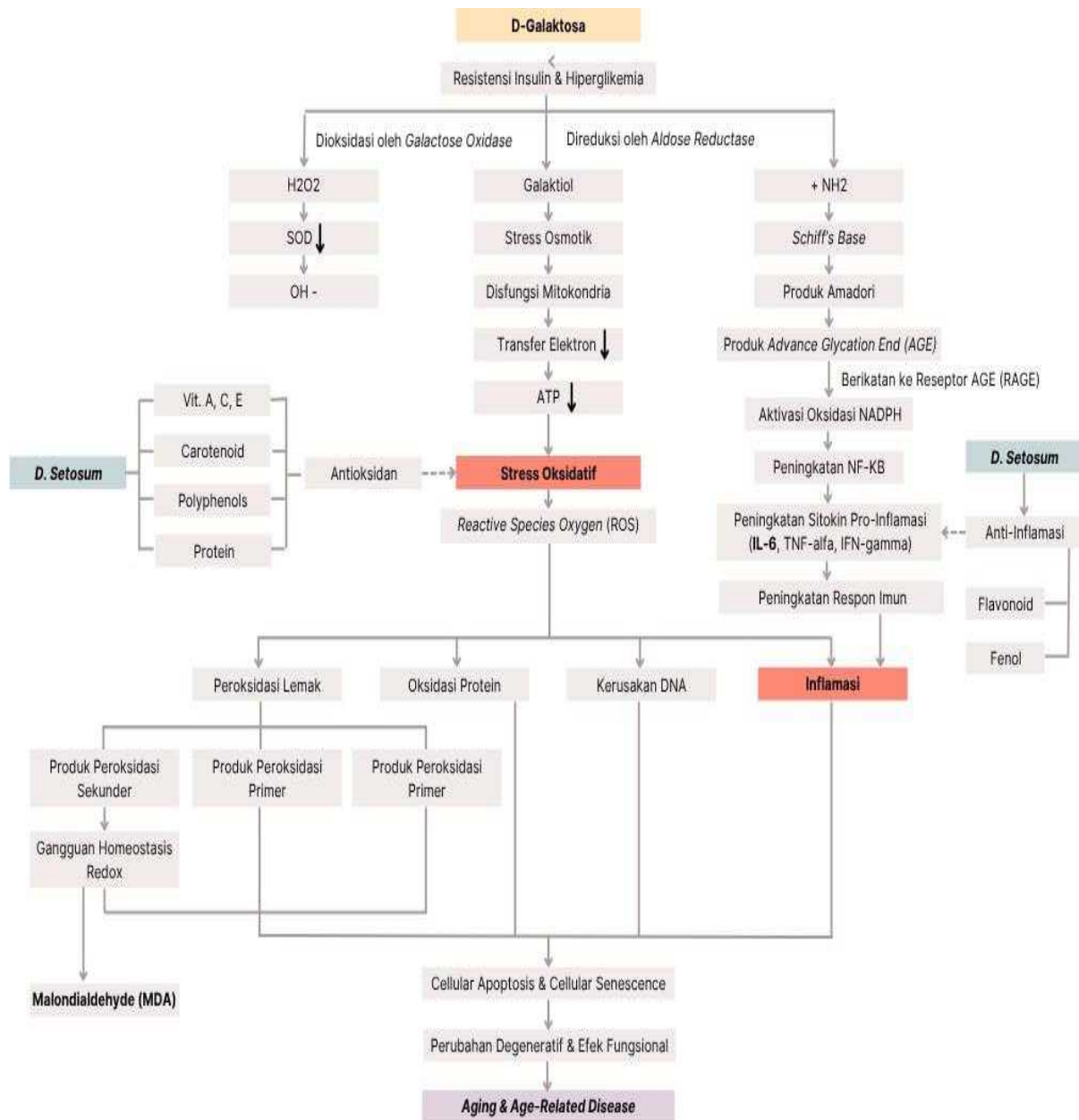
| Kriteria             | Nilai                                              |
|----------------------|----------------------------------------------------|
| Berat badan dewasa   | Jantan : 300 – 400 gram<br>Betina : 250 – 300 gram |
| Kebutuhan makan      | 5 – 10 gr/100gr berat badan                        |
| Kebutuhan minum      | 10 ml/100gr berat badan                            |
| Lama Hidup           | 3 – 4 tahun                                        |
| Detak Jantung        | 250 – 450 kali/menit                               |
| Tekanan Darah        |                                                    |
| Sistol               | 84 – 134 mmHg                                      |
| Diastol              | 60 mmHg                                            |
| Laju pernapasan      | 70 – 115 kali/penit                                |
| Serum protein (g/dl) | 5,6 – 7,6                                          |
| Albumin (g/dl)       | 3,8 – 4,8                                          |
| Globulin (g/dl)      | 1,8 – 3                                            |
| Glukosa (mg/dl)      | 50 – 135                                           |

Penelitian mengenai penuaan dengan menggunakan tikus sebagai hewan coba telah banyak dilakukan. Tikus putih ini menggantikan manusia sebagai objek eksperimen dalam penelitian ilmiah, dalam melakukan persiapan dan pengendalian kualitas suatu obat ataupun intervensi yang dilakukan. Adapun perbandingan usia relative pada tikus dengan usia manusia, sebagai berikut: (Andreollo et al., 2012)

Tikus laboratorium memiliki rata-rata harapan hidup sekitar 3 – 4 tahun, sedangkan tikus domestic memiliki harapan hidup antara 2 sampai 3,5 tahun, sementara manusia memiliki harapan hidup sekitar 70 tahun. Tikus menjadi dewasa secara seksual pada usia 6 minggu, tetapi mencapai kematangan sosial an. Tikus betina memasuki masa menopause antara usia 15 sampai 18 bulan, memasuki masa menopause antara 48 sampai 55 tahun. (Andreollo et al., 2012) penuaan dengan menggunakan intervensi yang membutuhkan perlakuan puasa, uasakan selama 6-8 jam. Hal ini dikarenakan, jika tikus atau mencit dipuaskan 17-aka akan terjadi peningkatan jumlah eritrosit, hemoglobin, dan hematocrit, sebaliknya lah leukosit, yang nantinya akan mempengaruhi hasil penelitian. (Fitria & Sarto, 2014)



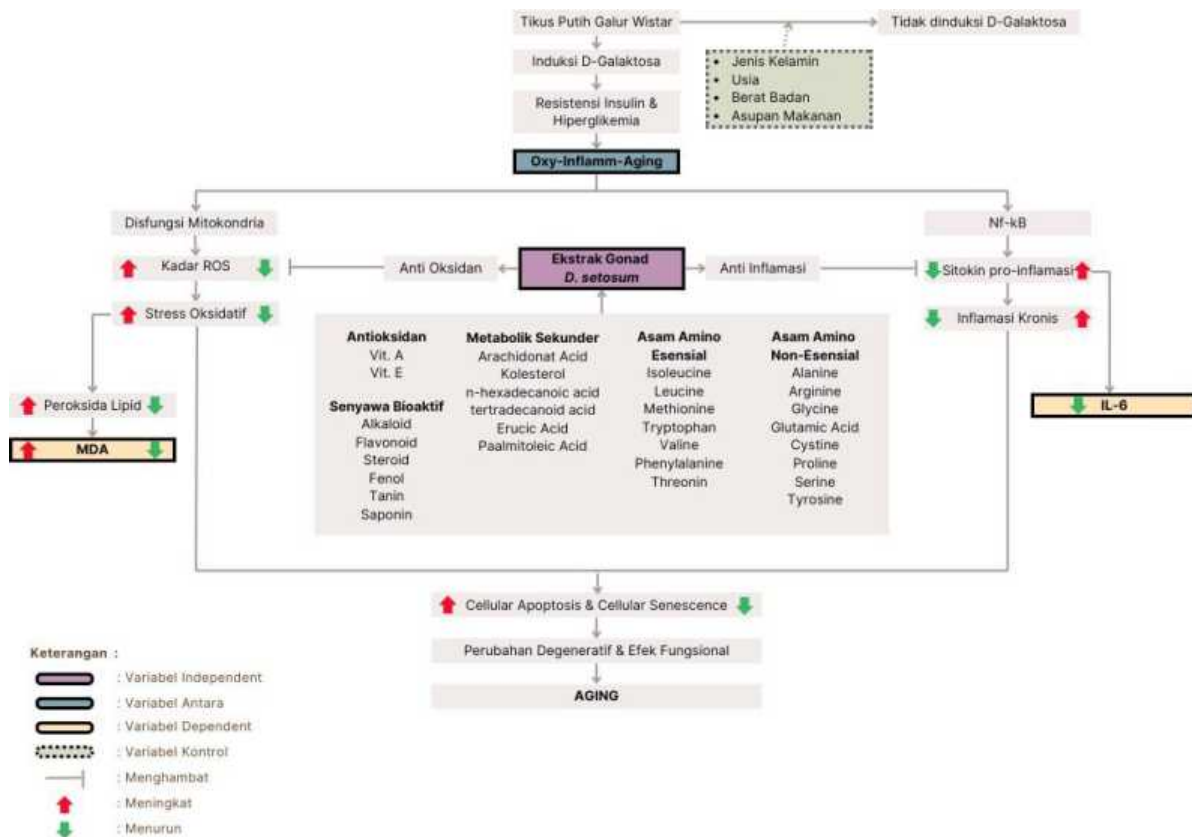
## 2.9. Kerangka Teori



Gambar 15. Kerangka Teori



## 2.10. Kerangka Konsep



Gambar 16. Kerangka Konsep

## 2.11. Hipotesis Penelitian

1. Hipotesis Nol ( $H_0$ )  
Pemberian ekstrak gonad landak laut (*D. setosum*) tidak memberikan pengaruh yang signifikan dalam penurunan kadar malondialdehid (MDA) dan interleukin-6 (IL-6) pada tikus wistar model penuaan yang diinduksi dengan D-galaktosa.
2. Hipotesis Alternatif ( $H_a$ )  
Pemberian ekstrak gonad landak laut (*D. setosum*) secara signifikan menurunkan kadar kadar malondialdehid (MDA) dan interleukin-6 (IL-6) pada tikus wistar model penuaan yang diinduksi dengan D-galaktosa.

