

Ketebalan Tunika Media Aorta Tikus Aterosklerosis Pasca Pemberian Ekstrak Buah Bakau (*Rhizophora sp*)

Muhammad Yulis Hamidy^{1*}, Huriatul Masdar², Adham Alfian³

ABSTRACT

Atherosclerosis is a multifocal immunoinflammatory disease of medium and large arteries stimulated by lipids, endothelial cells, leukocytes and intima smooth muscle cells. One of the markers of atherosclerosis is thickening of the tunica media. The administration of antioxidants is expected to inhibit the occurrence of atherosclerosis. Mangrove (*Rhizophora sp*) is one of plants with a high source of antioxidants. The objective of this study was to analyze the effect of mangrove (*Rhizophora sp*) fruit extract on the thickness of aortic tunica media of atherosclerotic rats. A total of eighteen rats were used in this study, divided into 3 groups. Group A (standard control) is a group of rats that received a standard diet. Group B (positive control) is a group of rats that received a high cholesterol diet for 3 days. Group C (treatment group), apart from receiving a high cholesterol diet, was also given *Rhizophora sp* fruit extract at a dose 500 mg/kg b.w/day orally for 3 days. The effect of mangrove (*Rhizophora sp*) fruit extract on the thickness of the aortic tunica media was evaluated by a histological procedure using the Leica application. This study shows that the thickness of aortic tunica media is higher in the group receiving a high cholesterol diet than the standard control group (0.096 vs. 0.079; $P=0.036$). The group that received mangrove (*Rhizophora sp*) fruit extract had relatively the same thickness as the standard group (0.080 vs. 0.079; $P=0.999$). As the conclusion, Mangrove (*Rhizophora sp*) fruit extract may inhibit thickening of the aortic tunica media in atherosclerotic rats.

Keywords: atherosclerosis, *Rhizophora sp*, thickness of aortic, tunica media

Aterosklerosis adalah penyakit imunoinflamasi multifokal pada arteri sedang dan besar yang distimulasi oleh lipid, sel endotel, leukosit, dan sel otot polos intima yang berperan besar dalam perkembangan penyakit ini. Aterosklerosis memiliki beberapa tahapan, yaitu inisiasi, progresif, dan komplikasi.¹

Ketebalan tunika media arteri merupakan salah satu penanda aterosklerosis. Peningkatan ketebalan arteri tunika media dikaitkan dengan faktor risiko penyakit jantung koroner dan vaskular.²

Antioksidan yang berasal dari bahan alam dapat dikembangkan untuk menghambat stres oksidatif sehingga dapat mencegah berbagai macam gangguan akibat kondisi ini, termasuk aterosklerosis. Mangrove merupakan salah satu

tanaman dengan sumber antioksidan yang tinggi. Di Indonesia terdapat lebih dari 45 jenis mangrove, salah satunya adalah *Rhizophora sp*.³

Berbagai penelitian menunjukkan efek farmakologis mangrove, seperti anti bakteri,^{4,5} anti tumor dan anti inflamasi,⁶ dan anti diabetes.⁷ Efek tersebut dihasilkan karena mangrove mengandung berbagai bahan aktif seperti flavonoid, tanin, saponin, polifenol, sterol, dan alkaloid. Bahan aktif tersebut dapat ditemukan pada batang, daun dan buah mangrove. Penelitian kami sebelumnya telah menunjukkan potensi efek mangrove (*Rhizophora sp*) dalam menghambat fase inisiasi aterosklerosis dengan menekan proses pembentukan sel busa.⁸ Studi lebih lanjut kami juga menunjukkan bahwa ekstrak buah *Rhizophora sp* menghambat ekspresi TGF- β 1 yang berperan dalam terjadinya fibrosis pada tahap awal aterosklerosis.⁹

Tujuan penelitian ini adalah menganalisis pengaruh ekstrak buah *Rhizophora sp* terhadap ketebalan media tunika aorta pada tikus yang diinduksi diet tinggi kolesterol.

* Corresponding author : yulis.hamidy@gmail.com

¹ KJFD Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Pekanbaru, Riau, Indonesia

² KJFD Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Pekanbaru, Riau, Indonesia

³ Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Pekanbaru, Riau, Indonesia

METODE

Penelitian ini telah mendapat persetujuan etik penelitian dari Unit Etika Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Riau. Sebanyak delapan belas ekor tikus jantan berumur 10 minggu dengan berat 180-200 gram digunakan dalam penelitian ini dan dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok A (kontrol standar) adalah kelompok tikus yang mendapat pakan standar. Kelompok B (kontrol positif) adalah kelompok tikus yang diberi pakan untuk menginduksi fase inisiasi aterosklerosis (diet tinggi kolesterol) selama 3 hari. Kelompok C (kelompok perlakuan), selain diberi diet tinggi kolesterol, juga diberikan ekstrak buah *Rhizophora* sp dengan dosis 500 mg/kgBB/hari secara oral menggunakan selang lambung selama 3 hari. Setelah tiga hari, tikus dibunuh menggunakan anestesi eter dan jaringan aorta abdominal dikumpulkan dan difiksasi dalam blok parafin untuk diproses lebih lanjut.

Selanjutnya dilakukan pembuatan preparat histologi jaringan aorta tikus. Aorta abdominal tikus

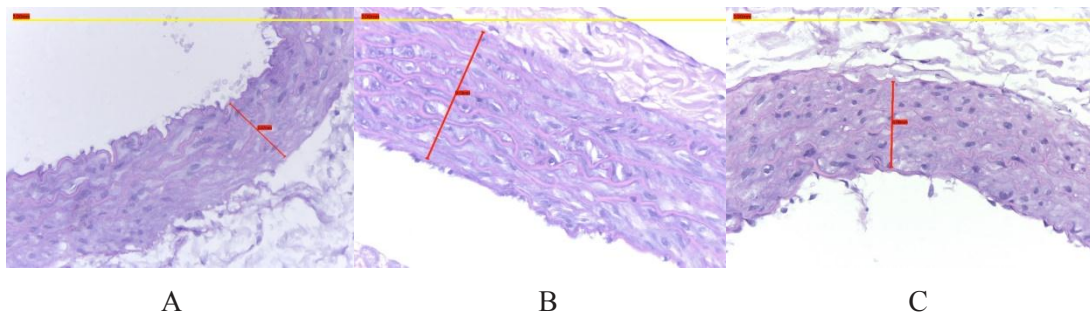
difoto dan setelah itu diukur ketebalannya pada 8 bagian menggunakan aplikasi *Leica Acquired* (Leica, Wetzlar, Germany) dengan magnifikasi 40x. Ketebalan diukur mulai dari lamina elastika interna hingga lamina elastika eksterna dengan cara menggunakan *annotation* pada aplikasi *Leica Acquired*. Hasil pengukuran yang didapatkan dalam satuan milimeter (mm).

Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan uji One Way Anova, dilanjutkan dengan uji Dukey dengan derajat kemaknaan 95%.

HASIL

Pengaruh ekstrak buah mangrove (*Rhizophora* sp) terhadap ketebalan media tunika aorta tikus aterosklerotik diperiksa secara histologis. Gambaran histologi tunika media aorta tikus pada semua kelompok dapat dilihat pada Gambar 1.

Hasil pengukuran ketebalan tunika media pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada Tabel 1 berikut ini.



Gambar 1. Gambaran histologi tunika media aorta tikus. Garis merah menunjukkan yang diukur ketebalan tunika media.

- A. Diet standar
- B. Diet kolesterol tinggi
- C. Diet Kolesterol Tinggi + *Rhizophora* sp. ekstrak buah

Tabel 1. Ketebalan tunika media pada masing-masing kelompok

Kelompok		Rerata ± SE (%)	p
A	4	0.079 ± 0.004	0,013
B	6	0.096 ± 0.004	
C	6	0.080 ± 0.002	

Keterangan: Nilai p bermakna jika <0,05

Analisis statistik menggunakan one way ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok, sehingga dilanjutkan dengan uji post hoc menggunakan uji Dukey seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji post hoc ketebalan media tunika antar kelompok.

Perbandingan antar kelompok	P
A vs B	p=0.036
A vs C	p=0.999
B vs C	p=0.021

Data dianalisis secara statistik menggunakan one way ANOVA dilanjutkan dengan uji Dukey pada SPSS 17.0.

PEMBAHASAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa kelompok yang mendapat diet tinggi kolesterol memiliki ketebalan tunika media aorta yang lebih tebal dibandingkan dengan kelompok yang mendapat diet standar dan kelompok yang mendapat ekstrak buah mangrove (*Rhizophora* sp). Sedangkan kelompok yang mendapat pakan normal memiliki ketebalan media tunika yang relatif sama dengan kelompok yang mendapat ekstrak buah mangrove (*Rhizophora* sp). Pada penelitian ini pemberian ekstrak buah mangrove (*Rhizophora* sp) dengan dosis 500 mg/kgBB berpengaruh terhadap ketebalan tunika media aorta pada tikus yang telah diberi diet kolesterol tinggi.

Penelitian ini juga menunjukkan gambaran histopatologis dari masing-masing kelompok perlakuan, yang mana pada kelompok yang mendapat diet tinggi kolesterol selain memiliki tunika media yang lebih tebal juga lebih banyak mengandung sel busa (*foam cell*) dibandingkan dengan kedua kelompok lainnya. Sel busa sendiri juga merupakan salah satu penanda dari aterosklerosis.

Penebalan tunika media disebabkan oleh retensi lipid pada intima arteri yang dapat terjadi akibat disfungsi endotel yang diinduksi oleh stres oksidatif. Low Density Lipoprotein (LDL) dimodifikasi oleh radikal enzim dan radikal oksigen menjadi LDL teroksidasi yang kemudian merangsang sel endotel untuk mengekspresikan molekul adhesi (VCAM-1 dan ICAM-1) dan otot polos pembuluh darah untuk melepaskan kemokin (CCR2, ZCCR5, ZCX3CR1) dan kemoatraktan (MCP-1) yang merekrut monosit dan sel T ke dalam plak yang sedang berkembang. Monosit berdiferensiasi menjadi makrofag dan menyerap

LDL teroksidasi.^{10,11}

Selain memicu pembentukan sel busa, LDL yang teroksidasi ini menyebabkan disfungsi endotel, menginfiltrasi vaskular tunika muskularis dan memicu sekresi faktor pertumbuhan TGF- β 1. Adanya ekspresi TGF- β 1 dapat memicu sintesis matriks fibrokolagen dan proliferasi sel. Semakin tinggi jumlah TGF- β 1 yang diekspresikan, semakin banyak matriks fibrokolagen yang akan disintesis.¹²

Komponen protein dari partikel LDL dipresentasikan oleh makrofag dan sel dendritik ke limfosit T melalui kompleks histokompatibilitas mayor kelas II (MHC-II) dan sel T menghasilkan sitokin proinflamasi.¹¹ Komponen kunci lain dari respons adaptif adalah sel B2 yang menginisiasi aterosklerosis dengan berinteraksi dengan sel T CD4 teraktivasi dan merangsang proliferasi sel T efektor.¹³

Ekstrak buah mangrove berpotensi sebagai antioksidan karena mengandung senyawa fitokimia.¹⁴ Studi oleh Purwaningsih et al. (2013) menunjukkan bahwa buah mangrove memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.¹⁵ Antioksidan yang terkandung dalam buah mangrove merupakan molekul yang dapat mencegah, mengurangi, dan memperlambat efek radikal bebas, serta mampu menetralkan oksidasi ROS.¹⁶

Berbagai bahan aktif yang terkandung dalam mangrove menghasilkan efek antioksidan melalui penghambatan jalur pensinyalan seperti jalur NF- κ B, MAPK dan JAK-STAT yang kemudian menyebabkan penghambatan produksi superoksida dan mencegah stres oksidatif.¹⁷ Penelitian kami sebelumnya juga menunjukkan ekstrak buah mangrove menghambat ekspresi TGF- β 1 yang merupakan proses awal fibrosis pada aterosklerosis pada tikus yang diinduksi dengan diet kolesterol tinggi.^{9,18} Hal ini dapat menjelaskan pengaruh ekstrak buah *Rhizophora* sp terhadap ketebalan media tunika yang ditunjukkan oleh pada penelitian ini.

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak buah mangrove (*Rhizophora* sp) memiliki efek farmakologi dengan menghambat penebalan tunika media aorta. Hasil yang diperoleh dalam penelitian

ini memberikan peluang pemanfaatan mangrove (*Rhizophora* sp) sebagai agen antiaterosklerotik di masa mendatang.

DAFTAR PUSTAKA

- Herrington, W., Lacey, B., Sherliker, P., Armitage, J., Lewington, S. Epidemiology of atherosclerosis and the potential to reduce the global burden of atherothrombotic disease. *Circ Res.* 2016; 118(4):535-546. doi:10.1161/Circresaha.115.307611
- Yu, X. H., Fu, Y. C., Zhang, D. W., Yin, K., Tang, C. K. Foam cells in atherosclerosis. *Clinica Chimica Acta.* 2013; 424:245-252. doi:10.1016/J.Cca.2013.06.006
- Bakar, A., Purnama, P., Rahmayuni, R. Pengelolaan hutan mangrove dan pemanfaatannya dalam meningkatkan ekonomi masyarakat pesisir pantai Provinsi Riau. *Kutubkhanah.* 2013; 16(2), 94-103.
- Abeyasinghe, P. D. Antibacterial activity of some medicinal mangrove against antibiotic resistant pathogenic bacteria. *India J Pharm Sci.* 2010; 72(2), 167-72.
- Sahoo, G., Mulla, N. S. S., Ansari, Z. A., Mohandes, C. Antibacterial activity of mangrove leaf extracts against human pathogens. *Indian J Pharm Sci.* 2012; 74(4), 348-51.
- Prabhu, V. V., Guruvayoorappan, C. Anti-inflammatory and anti tumor activity of the marine mangrove *Rhizophora apiculata*. *J Immunotoxicol.* 2012; 9(4), 341-52.
- Gurudeeban, S., Satyavani, K., Ramanathan, T., Balasubramanian, T. Antidiabetic effect of a black mangrove species *Aegiceras corniculatum* in alloxan-induced diabetic rats. *J Adv Pharm Technol Res.* 2012; 3(1), 52-6.
- Hamidy, M. Y., Masdar, H., Darmawi, D. Effect of Mangrove (*Rhizophora* sp) Fruit Extract on Foam Cell Formation at the Initiation Stage of Atherosclerosis. *Biomed Pharmacol J.* 2020; 13(1).
- Hamidy, M. Y., Masdar, H., Winarto. Mangrove (*Rhizophora* sp) Fruit Extract Inhibits Tumor Growth Factor (TGF)- β 1 Expression in High Cholesterol Diet-Fed Rats. *Jurnal Farmasi Galenika: Galenika Journal of Pharmacy (e-Journal).* 2021; 7(3), 213-220. doi: 10.22487/j24428744.2021.v7.i3. 15667
- Horkko, S., Binder, C. J., Shaw, P. X., Chang, M. K., Silverman, G., Palinski, W., Witztum, J. L. Immunological responses to oxidized LDL. *Free Radic Biol Med.* 2000; 28, 1771-9.
- Beverly, J. K., Budoff, M. J. Atherosclerosis: pathophysiology of insulin resistance, hyperglycemia, hyperlipidemia and inflammation. *J Diabetes.* 2020; 12(2):2-10.
- Li, W. Q., Qureshi, H. Y., Liacini, A., Dehnade, F., Zafarullah, M. Transforming growth factor beta induction of tissue inhibitor of metalloproteinase 3 in articular chondrocytes is mediated by reactive oxygen species. *Free Radic Biol Med.* 2004; 37:196-207.
- Rafieian-Kopaei, M., Setorki, M., Doudi, M., Baradaran, A., Nasri, H. Atherosclerosis: process, indicators, risk factors and new hopes. *Int J Prev Med.* 2014; 5(8):927.
- Podungge, F., Purwaningsih, S., Nurhayati, T. The characteristic of black bakau fruit as extract of antioxidant source. *J Pengolah Has Perikan Indones,* 2015; 18(2):140-149. doi:10.17844/jphpi.2015.18.2.140
- Purwaningsih, S., Salamah, E., Yudha, A., Sukarno, P., Deskawati, E. Antioxidant activity of mangrove (*Rhizophora mucronata* Lamk.) fruits at different temperatures. 2013; Vol 16.
- Ali, S. S., Ahsan, H., Zia, M. K., Siddiqui, T., Khan, F. H. Understanding oxidants and antioxidants: classical team with new players. *J Food Biochem,* 2020; 44(3):e13145. doi:10.1111/JFBC.13145
- Das, S. K., Samantaray, D., Patra, J. K., Samanta, L., Thatoi, H. Antidiabetic potential of mangrove plants: a review. *Frontiers in Life Sci,* 2016; 9(1), 75-88.
- Masdar, H., Hamidy M. Y., Maryanti, E. Efek Inhibisi Ekstrak Buah Mangrove *Sonneratia Alba* Terhadap Ekspresi Tumor Growth Factor-Beta 1 Pada Aorta Abdominal Tikus Yang Diinduksi Aterosklerosis. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala,* 2022; 22(1):1412-1026. doi:10.24815/Jks.V22i1.23397.