

**PENGARUH EKSTRAK *ZINGIBER OFFICINALE*
VAR. RUBRUM TERHADAP SITOKIN IL-6 PADA HEWAN
COBA *RATTUS NORVEGICUS* DENGAN PNEUMONIA YANG
DIPICU OLEH *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE***



UMSU

Unggul | Cerdas | Terpercaya

**Oleh:
dr. Karina
2208330006**

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIS
FAKULTAS KEDOKTERAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN
2025**



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI, PENELITIAN &
PENGEMBANGAN UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH
SUMATERA UTARA

FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN

Jalan Gedung Arca No. 53 Medan 20217 Telp. (061) 7350163 – 7333162 Ext.

20 Fax. (061) 7363488

Website: fk@umsu.ac.id



HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh

Nama : Karina
NPM : 220830006
Judul : Pengaruh Ekstrak *Zingiber officinale* var. *rubrum* terhadap Sitokin IL-6 pada Hewan Coba *Rattus norvegicus* dengan Pneumonia yang Dipicu oleh *Streptococcus pneumoniae*

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Biomedis Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

DEWAN PENGUJI

Pembimbing 1

(Dr. dr. Sri Rezeki Arbaningsih, Sp.P(K))

Pembimbing 2

(dr. Pinta Pudiyanti Siregar, M.Sc, Ph.D)

Penguji 1

(Dr. Yulia Fauziah, M.Sc)

Penguji 2

(Assoc. Prof. Dr.dr. Nurfadly, MKT)

Mengetahui,

Dekan FKIK UMSU

(Dr. Siti Mas'iana, Sp.THT-KL(K))

NIDN: 0106098201

Ketua Program Studi

Magister Ilmu Biomedis

FKIK UMSU

(Dr. Emni Purwoningsih, S.Pd, M.Kes)

NIDN: 01050448103

Ditetapkan di: Medan
Tanggal 22 September 2025

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertandatangan dibawah ini menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil karya saya sendiri dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.


Nama : Karina

NPM : 220830006

Judul Tesis : Pengaruh Ekstrak *Zingiber officinale* var. *rubrum* terhadap Sitokin Il-6 pada Hewan Coba *Rattus norvegicus* dengan Pneumonia yang Dipicu oleh *Streptococcus pneumoniae*

Demikianlah pernyataan ini saya perbuat, untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Medan, 01 Agustus 2025

Materai 10000 
(Karina)

PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TESIS UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Karina
NPM : 2208330006
Fakultas : Biomedis FK-KIK UMSU

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara Hak Bebas Royalti Noneksklusif atas tesis saya yang berjudul:

Pengaruh Ekstrak *Zingiber officinale var. rubrum* terhadap Sitokin Il-6 pada Hewan Coba *Rattus norvegicus* dengan Pneumonia yang Dipicu oleh *Streptococcus pneumoniae*.

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Medan Pada tanggal : .01 Agustus 2025

Yang menyatakan



(Karina)

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmannirrahiim.

Assalamu'alaikumwarahmatullahi wabarakatuh.

Alhamdulillahirabbil 'alamin, segala puji dan syukur, saya panjatkan ke hadirat Allah SubhanallahuWa Ta'ala, Tuhan pencipta alam semesta, yang telah memberikan umur, kesehatan, dan segala limpahan karunia-Nya kepada saya dan keluarga. Atas rahmat dan ridho-Nya saya dapat menyelesaikan tesis ini, yang merupakan tugas akhir dalam menempuh jenjang Pendidikan Magister Biomedis pada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Shalawat dan salam saya sampaikan kepada junjungan kita Nabi Besar Muhammad SAW yang telah menjadi suri teladan bagi kita beserta keluarga, sahabat, dan pengikutnya. Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan tesis ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada:

- 1) dr. Siti Masliana Siregar, Sp.T.H.T.B.K.L., Subsp.Rino (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
- 2) Dr. Emni Purwoningsih, M.Kes selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedis dan dr. Isra Thirsty, M.Biomed selaku Sekretaris Program Studi Magister Ilmu Biomedis.
- 3) Dr. dr. Sri Rezeki Arbaningsih, Sp.P(K) selaku Dosen Pembimbing I yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan ilmu untuk mengarahkan saya dalam penyusunan tesis ini serta memotivasi untuk saya agar dapat menyelesaikan program studi magister ilmu biomedis ini dengan baik;
- 4) dr. Pinta Pudiyanthi Siregar, M.Sc, ph.D, selaku Dosen Pembimbing II yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan ilmu untuk mengarahkan saya dalam penyusunan tesis ini serta memotivasi untuk saya agar dapat menyelesaikan program studi magister ilmu

biomedis ini dengan baik;

- 5) Dr. Yulia Fauziyah, M.Sc selaku Penguji I yang banyak memberikan masukan serta arahan dalam melengkapi kekurangan pada tulisan tesis saya ini agar saya dapat lebih maju dan berkembang lagi serta dapat menyelesaikan program studi ini dengan baik;
- 6) Assoc.Prof Dr.dr. Nurfadly, MKT selaku Penguji II yang selalu memberikan arahan dan masukan serta dorongan motivasi untuk saya agar dapat menyelesaikan program studi magister ini dengan baik dan kompeten;
- 7) Orang tua saya, Ibu Dewi Juliawati dan Bapak Suwekus Dodi telah memberikan bantuan dukungan material dan moral selama saya menempuh Pendidikan ini.
- 8) Teman seperjuangan saya dr. Imas, dr. Soraya, dr. Nurlina, dr. Fathinia, dr. Zulfadhli, dan dr. Riyanda.
- 9) Pihak lain yang telah banyak membantu dalam usaha memperoleh data yang saya perlukan, Animal House Biologi USU, Lab PA USU, serta RisetMU yang telah mendanai penelitian melalui hibah penelitian.

Saya menyadari bahwa penulisan tesis ini masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu kritik dan saran demi kesempurnaan tulisan ini sangat saya harapkan. Akhir kata, saya berharap Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga tesis ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Wassalamu'alaikumwarahmatullahi wabarakatuh.

Medan, Agustus 2025

Peneliti



Karina

ABSTRAK

Latar belakang: Pneumonia merupakan salah satu penyebab utama kematian akibat penyakit infeksi dan sering dikaitkan dengan peningkatan kadar sitokin proinflamasi seperti Interleukin-6 (IL-6). *Zingiber officinale* var. *rubrum* (jahe merah) mengandung senyawa bioaktif yang berpotensi memiliki efek antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh pemberian ekstrak jahe merah terhadap ekspresi IL-6 pada jaringan paru tikus Wistar yang diinokulasi *Streptococcus pneumoniae*, baik sebagai terapi tunggal maupun dikombinasikan dengan azitromisin.

Metode: Penelitian eksperimental ini menggunakan 30 ekor tikus Wistar jantan yang dibagi dalam lima kelompok (masing-masing $n = 6$): K1 (kontrol negatif), K2 (kontrol positif), K3 (ekstrak jahe merah 400 mg/kgBB), K4 (azitromisin 11 mg/kgBB), dan K5 (kombinasi ekstrak jahe merah dan azitromisin). Induksi pneumonia dilakukan secara intratrakeal menggunakan suspensi *S. pneumoniae*. Perlakuan diberikan satu kali sehari selama tujuh hari. Ekspresi IL-6 pada jaringan paru dianalisis menggunakan metode imunohistokimia dan dievaluasi secara semi-kuantitatif berdasarkan intensitas dan distribusi pewarnaan.

Hasil: Uji Kruskal-Wallis menunjukkan adanya perbedaan bermakna ekspresi IL-6 antar kelompok ($p < 0,05$). Uji lanjutan menunjukkan bahwa K4 dan K5 memiliki ekspresi IL-6 yang secara signifikan lebih rendah dibandingkan K2. Tidak ditemukan perbedaan bermakna antara K4 dan K5, maupun antara K3 dan K2, yang menunjukkan bahwa pemberian jahe merah saja belum efektif menurunkan ekspresi IL-6 secara signifikan.

Kesimpulan: Pemberian azitromisin, baik secara tunggal maupun dikombinasikan dengan ekstrak jahe merah, efektif menurunkan ekspresi IL-6 pada tikus dengan pneumonia. Namun, ekstrak jahe merah sebagai terapi tunggal belum menunjukkan efek antiinflamasi yang signifikan pada model ini.

Kata kunci: Azitromisin, IL-6, Pneumonia, *Rattus norvegicus*, *Zingiber officinale* var *rubrum*

ABSTRACT

Background: Pneumonia remains a leading cause of death from infectious diseases, often associated with elevated levels of proinflammatory cytokines such as Interleukin-6 (IL-6). *Zingiber officinale* var. *rubrum* (red ginger) contains bioactive compounds with potential anti-inflammatory effects. This study aimed to evaluate the effect of red ginger extract on IL-6 expression in the lung tissue of Wistar rats induced with *Streptococcus pneumoniae*, either as monotherapy or in combination with azithromycin.

Methods: An experimental study was conducted using 30 male Wistar rats divided into five groups (n = 6 each): K1 (negative control), K2 (positive control), K3 (red ginger extract 400 mg/kgBW), K4 (azithromycin 11 mg/kgBW), and K5 (combination of red ginger extract and azithromycin). Pneumonia was induced intratracheally using a suspension of *S. pneumoniae*. Treatments were administered once daily for seven days. IL-6 expression in lung tissue was analyzed using immunohistochemistry and evaluated semi-quantitatively based on staining intensity and distribution.

Results: The Kruskal-Wallis test showed a significant difference in IL-6 expression among groups ($p < 0.05$). Post hoc analysis revealed that K4 and K5 had significantly lower IL-6 expression than K2. No significant difference was found between K4 and K5, nor between K3 and K2, indicating that red ginger extract alone was not effective in significantly reducing IL-6 expression.

Conclusion: Azithromycin, both alone and in combination with red ginger extract, effectively reduced IL-6 expression in rats with pneumonia. Red ginger extract alone did not show a significant anti-inflammatory effect in this model.

Keywords: Azithromycin, IL-6, Pneumonia, *Rattus norvegicus*, *Zingiber officinale* var. *rubrum*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISITALITAS	iii
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TESIS UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Pneumonia	5
2.1.1. Definisi.....	5
2.1.2. Etiologi.....	5
2.1.3. Klasifikasi.....	6
2.1.4. Faktor risiko.....	7
2.1.5. Patogenesis.....	8
2.1.6. Diagnosis.....	11
2.1.7. Tatalaksana.....	14
2.1.8. Komplikasi dan Prognosis.....	15
2.2. Sitokin IL-6.....	16

2.2.1. Peran IL-6 dalam Peradangan dan Imunitas.....	16
2.2.2.Keterkaitan Sitokin IL-6 dengan Patogenesis Pneumonia.....	17
2.3. <i>Zingiber officinale</i>	19
2.3.1.Komposisi Kimia dan Aktivitas Farmakologis <i>Zingiber officinale</i>	19
2.3.2.Farmakokinetik <i>Zingiber officinale</i>	20
2.4. Pengaruh ekstrak <i>Zingiber officinale</i> pada Sitokin IL-6.....	23
2.5. Model Tikus.....	24
2.6. Metode Imunohistokimia.....	26
2.6.1 Penilaian Imunohistokimia	29
2.7. Kerangka Teori.....	31
2.8. Kerangka konsep.....	32
2.9. Hipotesis.....	32
BAB 3 METODE PENELITIAN.....	33
3.1. Definisi Operasional	33
3.2. Jenis dan Rancangan Penelitian	34
3.3. Waktu dan Tempat Penelitian.....	34
3.4. Populasi dan Sampel Penelitian.....	34
3.5. Metode Pengumpulan Data.....	36
3.5.1.Proses Pembuatan Ekstrak Ethanol <i>Zingiber Officinale var. rubrum</i>	36
3.5.2.Cara Inokulasi <i>Streptococcus pneumoniae</i> pada <i>Rattus norvegicus</i>	39
3.5.3.Cara Pemeriksaan Sitokin dan Penegakkan Diagnosis Pneumonia dengan Imunohistokimia (IHC).....	40
3.6. Metode Analisis Data.....	40
3.7. Etika Penelitian	41
3.8. Alur Penelitian.....	42
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....	43

4.1. Hasil Penelitian.....	43
4.2. Pembahasan.....	46
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN.....	52
5.1. Kesimpulan.....	52
5.2. Saran.....	52
DAFTAR PUSTAKA.....	53
LAMPIRAN	60

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan zat gizi pada rimpang jahe.....	22
Tabel 2.2 Ciri Tikus Sehat.....	25
Tabel 2.3 Variabel imunohistokimia.....	27
Tabel 2.4 Panduan persiapan jaringan pada IHC.....	28
Tabel 4.1 Statistik deskriptif pada setiap kelompok	44
Tabel 4.1.2 Perbedaan ekspresi IL-6 antar kelompok.....	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Sel imun yang berperan pada paru mamalia.....	9
Gambar 2.2 Gambaran umum respon imun bawaan terkait pneumonia..	11
Gambar 2.3 Jalur pensinyalan interleukin-6.....	17
Gambar 2.4 <i>Zingiber officinale</i> var. <i>rubrum</i>	19
Gambar 2.5 Bagan kerangka teori.....	31
Gambar 2.6 Bagan kerangka konsep.....	32
Gambar 3.1 Simplisia jahe merah.....	35
Gambar 3.2 Proses pencucian dan pematangan jahe merah.....	36
Gambar 3.3 Alur penelitian	42
Gambar 4.1 Hasil imunohistokimia pada kelompok kontrol negatif.....	45
Gambar 4.2 Hasil imunohistokimia pada kelompok control positif	45
Gambar 4.3 Hasil imunohistokimia pada kelompok perlakuan.....	46
Gambar 4.4 Hasil imunohistokimia pada kelompok perlakuan.....	46

DAFTAR SINGKATAN

ALI	Acute Lung Injury
AEC	Alveolar Epithelial Cell
AM	Alveolar Macrophage
APACHE	Acute Physiology And Chronic Health Evaluation
BALT	Bronchus-Associated Lymphoid Tissue
BEC	Bronchial Epithelial Cell
CCL20	Chemokine (C-C motif) ligand 20
CURB-65	Confusion, Urea, Respiratory Rate, Blood Pressure
CXCR2	C-X-C Motif Chemokine Receptor 2
DC	Dendritic Cell
GALT	Gut-Associated Lymphoid Tissue
iBALT	Induced Bronchus-Associated Lymphoid Tissue
IFN- γ	Interferon-gamma
IHC	Imunohistokimia
IL-17	Interleukin-17
IL-1 β	Interleukin-1 beta
IL-22	Interleukin-22
IL-6	Interleukin-6
IL-8	Interleukin-8
ILC	Innate Lymphoid Cell
ILC1, ILC2, ILC3	Innate Lymphoid Cell type 1, 2, 3
IM	Interstitial Macrophage
ITLN-1	Intelectin-1
NCR1	Natural Cytotoxicity Triggering Receptor 1
NK	Natural Killer (Cell)
NLRP3	NOD-, LRR- and pyrin domain-containing protein 3
PEC	Pulmonary Endothelial Cell
PP	Peyer Patch
PRRs	Pattern-Recognition Receptors
TFF2	Trefoil Factor 2
TLR4	Toll-like Receptor 4
TLRs	Toll-like Receptors
TNF- α	Tumor Necrosis Factor-alpha

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pneumonia merupakan infeksi saluran pernapasan akut yang terutama mengenai alveoli dan saluran napas bagian distal. Etiologi pneumonia sangat beragam, mencakup berbagai mikroorganisme seperti bakteri, virus, dan jamur, tergantung pada faktor risiko dan kondisi imunologis pasien. Prevalensi pneumonia menunjukkan variasi yang signifikan secara geografis, dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti tingkat kebersihan lingkungan, status gizi, akses terhadap layanan kesehatan, serta status vaksinasi masyarakat.¹ Pneumonia merupakan masalah kesehatan global yang signifikan, menyebabkan tingginya beban morbiditas dan mortalitas, terutama pada anak-anak dan orang lanjut usia.^{2, 3} Menurut *World Health Organization* (WHO), pneumonia adalah penyebab kematian terbesar ketiga di dunia dan salah satu penyakit menular yang paling umum.⁴ Perkiraan kejadian pneumonia di seluruh dunia bervariasi antara 1,5 hingga 14 kasus per 1000 orang per tahun, dengan angka yang lebih tinggi seiring bertambahnya usia.⁵

Respon imun terhadap pneumonia melibatkan berbagai sitokin proinflamasi, termasuk interleukin-6 (IL-6), yang berperan dalam diferensiasi sel, kemotaksis, dan regulasi inflamasi. Proses inflamasi yang tidak terkontrol berperan penting dalam patofisiologi *acute respiratory distress syndrome* (ARDS), dan inflamasi yang terjadi terus-menerus sangat berkorelasi dengan prognosis yang buruk. Penelitian menunjukkan bahwa kadar IL-6 berkorelasi dengan skor keparahan penyakit seperti APACHE II dan CURB-65, serta dikaitkan dengan tingkat kematian dini pada pasien pneumonia komunitas. Selain itu, kadar IL-6 yang tinggi ditemukan pada pasien dengan kegagalan terapi antibiotik.^{4,6}

Pedoman pneumonia merekomendasikan terapi empiris berdasarkan tingkat keparahan penyakit dan adanya faktor risiko untuk patogen kompleks tertentu.^{7,8} Salah satu terapi lini pertama pada pneumonia adalah golongan ma

krolida, dan obat yang sering digunakan adalah azitromisin. Beberapa alasan mengapa azitromisin sebagai terapi pneumonia diantaranya adalah memiliki spektrum yang luas mencakup bakteri gram positif, beberapa bakteri gram negatif, dan bakteri atipikal yang sering menjadi penyebab pneumonia, selain itu azitromisin memiliki kemampuan yang baik untuk mencapai jaringan paru-paru dan tetap berada di sana dalam konsentrasi yang efektif selama beberapa hari, bahkan setelah dosis terakhir diberikan.⁹ Levofloxacin, linezolid, klindamisin, atau vankomisin juga dapat digunakan pada kasus yang parah dan apabila terapi lini pertama dan kedua tidak efektif.

Meskipun metode pengobatan tersebut efektif, pengobatan dengan antimikroba dapat terganggu karena beberapa organisme menjadi resisten terhadap antimikroba yang umum digunakan. *Streptococcus pneumoniae* telah mengalami resistensi terhadap berbagai antibiotik termasuk penisilin, makrolida, fluoroquinolon, dan sulfametoksazol-trimetoprim.¹⁰ Hal tersebut tentu menjadi masalah sehingga memerlukan sebuah terapi baru ataupun terapi tambahan yang dapat meningkatkan angka kesembuhan pada pneumonia yang didapat dari komunitas.

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati terbesar kedua di dunia setelah hutan hujan Amazon. Tanaman herbal yang digunakan sebagai obat yang ada di Asia Tenggara, hampir 80% dapat ditemukan di Indonesia. Dengan kayanya sumber tanaman obat tersebut, masyarakat Indonesia banyak mengonsumsi obat herbal tersebut yang dikenal dengan jamu.¹¹

Z. officinale (jahe) adalah salah satu tanaman herbal yang berasal dari Asia. Diketahui Tiongkok merupakan negara pertama yang membudidayakan *Z. officinale* kemudian menyebar ke India, Asia Tenggara, Afrika Barat, dan Karibia. Sejak zaman dahulu jahe digunakan sebagai tanaman obat dan digunakan dalam pengobatan Tiongkok untuk menyembuhkan berbagai penyakit diantaranya masalah jantung, mengobati gangguan perut, diare, serta mual.¹² Kandungan yang terdapat pada jahe diantaranya adalah minyak atsiri, senyawa fenolik, flavonoid, karbohidrat, protein, saponin, steroid, dan terpenoid.¹³ Telah dilaporkan juga bahwa

jahe berperan sebagai anti-oksidan, imunomodulator, anti-inflamasi, anti-reumatik, anti-hepatotoksik, dll. Selain itu, jahe juga berperan sebagai antimikroba terhadap bakteri gram positif dan bakteri gram negatif.^{11,12} Dalam penelitian yang dilakukan sebelumnya, kadar sitokin proinflamasi serum, IL-1, IL-6, dan TNF- α menurun pada hari ke 5 dan 10 pada kelompok yang diberi ekstrak jahe. Hal ini disebabkan adanya penghambatan jalur 2-siklooksigenase oleh ekstrak jahe.¹⁴

Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi pengaruh ekstrak *Zingiber officinale* var. *rubrum* terhadap kadar IL-6 pada model hewan coba *Rattus norvegicus* dengan pneumonia yang dipicu oleh *Streptococcus pneumoniae*.

Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, dapat dirumuskan pertanyaan penelitian yaitu bagaimana pengaruh antara pemberian ekstrak *Zingiber officinale* var. *rubrum* dengan kadar IL-6 pada pneumonia yang disebabkan oleh *Streptococcus pneumoniae*?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian ekstrak *Zingiber officinale* var. *rubrum* dengan kadar IL-6 pada pneumonia yang disebabkan oleh *Streptococcus pneumoniae*.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Untuk menganalisis ekspresi IL-6 pada kelompok kontrol, yaitu pada hewan coba *Rattus norvegicus* yang sehat.
2. Untuk menganalisis ekspresi IL-6 pada kelompok kontrol positif, yaitu pada hewan coba *Rattus norvegicus* dengan pneumonia yang dipicu oleh *Streptococcus pneumoniae*.
3. Untuk menganalisis pengaruh ekstrak *Zingiber officinale* var. *rubrum* terhadap kadar IL-6 pada hewan coba *Rattus norvegicus* dengan pneumonia yang dipicu oleh *Streptococcus pneumoniae*.

4. Untuk menganalisis pengaruh azitromisin terhadap kadar IL-6 pada hewan coba *Rattus norvegicus* dengan pneumonia yang dipicu oleh *Streptococcus pneumoniae*.
5. Untuk menganalisis pengaruh azitromisin ditambah ekstrak *Zingiber officinale* var. *rubrum* terhadap kadar IL-6 pada hewan coba *Rattus norvegicus* dengan pneumonia yang dipicu oleh *Streptococcus pneumoniae*.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

a. Bagi Peneliti

Dapat dijadikan sebagai bahan masukan ilmu yang berguna dan sebagai bahan pembelajaran untuk memperkaya ilmu pengetahuan dari hasil penelitian.

b. Bagi Institusi

Sebagai bahan masukan bagi pengembangan institusi dan mahasiswa tentang peran ekstrak *Zingiber officinale* var. *rubrum* sebagai terapi ataupun terapi adjuvan pada pneumonia pada hewan coba *Rattus norvegicus*.

1.4.2. Manfaat Praktis

a. Bagi Masyarakat

Dapat menjadi ilmu pengetahuan yang berguna dan sebagai bahan pembelajaran untuk penggunaan bahan-bahan alam dalam mengobati suatu penyakit.

b. Bagi peneliti selanjutnya

Hasil penelitian ini dapat menjadi sumber referensi dan menjadi bahan untuk penelitian sebelumnya yang serupa mengenai peran ekstrak *Zingiber officinale* var. *rubrum* sebagai terapi ataupun terapi adjuvan pada pneumonia pada hewan coba *Rattus norvegicus*

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Pneumonia

2.1.1. Definisi

Berdasarkan referensi, pneumonia didefinisikan sebagai peradangan akut pada parenkim paru yang didapat di masyarakat disebabkan oleh mikroorganisme (bakteri, virus, jamur, parasit, protozoa), bukan disebabkan *M.tuberculosis*.¹⁵

2.1.2 Etiologi

2.1.2.1 Era preantibiotik

Serangkaian kasus pneumonia besar yang terjadi pada tahun 1917, 1927, dan 1933 mengimplikasikan pneumokokus adalah penyebab pada lebih dari 95% kasus pneumonia lobar. Sedangkan etiologi bronkopneumonia pada orang dewasa lebih kompleks, dengan jumlah serotipe pneumokokus yang lebih tinggi, streptokokus lain, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, atau batang Gram-negatif (*Klebsiella* dan *E. coli*) terlibat dalam penyakit ini sekitar 20% hingga 40% kasus. Namun, pada akhir tahun 1930-an, penyebab lain dari pneumonia telah diidentifikasi dengan jelas. Pneumonia influenza telah teridentifikasi selama wabah, meskipun saat ini kita ketahui bahwa penyakit ini sering kali dipersulit oleh pneumonia bakterial sekunder.¹⁶

2.1.2.2 Era antibiotik

Berbeda dengan era pra-antibiotik atau antibiotik awal, orang-orang yang kini menderita pneumonia cenderung berusia jauh lebih tua dan memiliki lebih banyak kondisi komorbiditas; faktor-faktor ini cenderung meningkatkan kolonisasi oral oleh batang Gram-negatif. Selain itu, banyak laboratorium kini secara rutin menggunakan pelat agar MacConkey, yang digunakan untuk menyeleksi organisme ini. Akibatnya, kultur dahak seringkali menghasilkan batang Gram-negatif, yang terdapat dalam jumlah kecil namun hanya merupakan kontaminan. Namun, etiologi lain kini sedang dipertimbangkan untuk pneumonia komunitas, termasuk influenza

dan adenovirus, yang disebut organisme “atipikal”, seperti *Mycoplasma* dan *Coxiella burnetii*, *Legionella*, dan *Chlamydia pneumoniae*.¹⁶

Sementara itu, data penelitian di Indonesia yang dipublikasi pada tahun 2015 mendapatkan hasil biakan sputum di komunitas yaitu *Klebsiella pneumoniae* (14%) dan *Streptococcus pneumoniae* (13%).¹⁷

2.1.3. Klasifikasi

Berdasarkan etiologi:¹⁸

- a. Bakteri: Pneumonia yang disebabkan oleh bakteri adalah jenis yang paling umum. Patogen bakteri yang sering terlibat meliputi:
 - *Streptococcus pneumoniae* (penyebab utama pneumonia bakterial)
 - *Haemophilus influenzae*
 - *Mycoplasma pneumoniae* (penyebab pneumonia atipikal)
 - *Legionella pneumophila* (penyebab *Legionnaire's disease*)
- b. Virus: Pneumonia juga dapat disebabkan oleh virus, terutama pada anak-anak dan orang tua. Virus yang umum meliputi:
 - Virus influenza
 - Virus pernapasan syncytial (RSV)
 - SARS-CoV-2 (penyebab COVID-19)
- c. Jamur: Pneumonia akibat infeksi jamur lebih jarang terjadi, tetapi lebih umum pada individu dengan sistem kekebalan yang lemah. Contoh jamur yang bisa menyebabkan pneumonia adalah:
 - *Pneumocystis jirovecii* (terutama pada pasien HIV/AIDS)
 - *Histoplasma* dan *Coccidioides*
- d. Aspirasional: Terjadi ketika seseorang menghirup benda asing, seperti makanan, cairan, atau asam lambung, yang kemudian menyebabkan infeksi di paru-paru.
- e. *Atypical pathogens*: Pneumonia yang disebabkan oleh patogen atipikal seperti *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, dan *Legionella pneumophila*.

Berdasarkan lokasi penularan:¹⁸

- a. Pneumonia Komunitas (*Community-Acquired Pneumonia*, CAP): Pneumonia yang terjadi di luar fasilitas kesehatan. Biasanya disebabkan oleh bakteri seperti *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, atau virus saluran pernapasan.
- b. Pneumonia Nosokomial atau Pneumonia Rumah Sakit (*Hospital-Acquired Pneumonia*, HAP): Pneumonia yang berkembang pada pasien yang dirawat di rumah sakit selama lebih dari 48 jam. HAP lebih sering disebabkan oleh bakteri yang resisten terhadap antibiotik seperti *Pseudomonas aeruginosa* atau *Staphylococcus aureus* (termasuk MRSA).
- c. Pneumonia Ventilator (*Ventilator-Associated Pneumonia*, VAP): Jenis pneumonia yang terjadi pada pasien yang menggunakan ventilator mekanis lebih dari 48 jam.
- d. Pneumonia Aspirasional: Disebabkan oleh aspirasi isi lambung atau makanan ke dalam paru-paru, sering terjadi pada pasien dengan gangguan kesadaran atau masalah menelan.

Berdasarkan gambaran klinis dan radiologis:¹⁹

- a. Pneumonia Lobar: Infeksi pada satu atau lebih lobus paru-paru yang biasanya disebabkan oleh bakteri seperti *Streptococcus pneumoniae*. Tampilan radiologi menunjukkan konsolidasi pada satu lobus paru-paru.
- b. Pneumonia Bronkial (Bronkopneumonia): Penyebaran infeksi lebih difus di seluruh paru-paru, terutama di bronkus dan bronkiolus, biasanya melibatkan banyak lobus.
- c. Pneumonia Interstitial: Terjadi terutama pada jaringan interstitial paru-paru (jaringan antara alveoli), sering disebabkan oleh infeksi virus atau bakteri atipikal.

2.1.4. Faktor Risiko

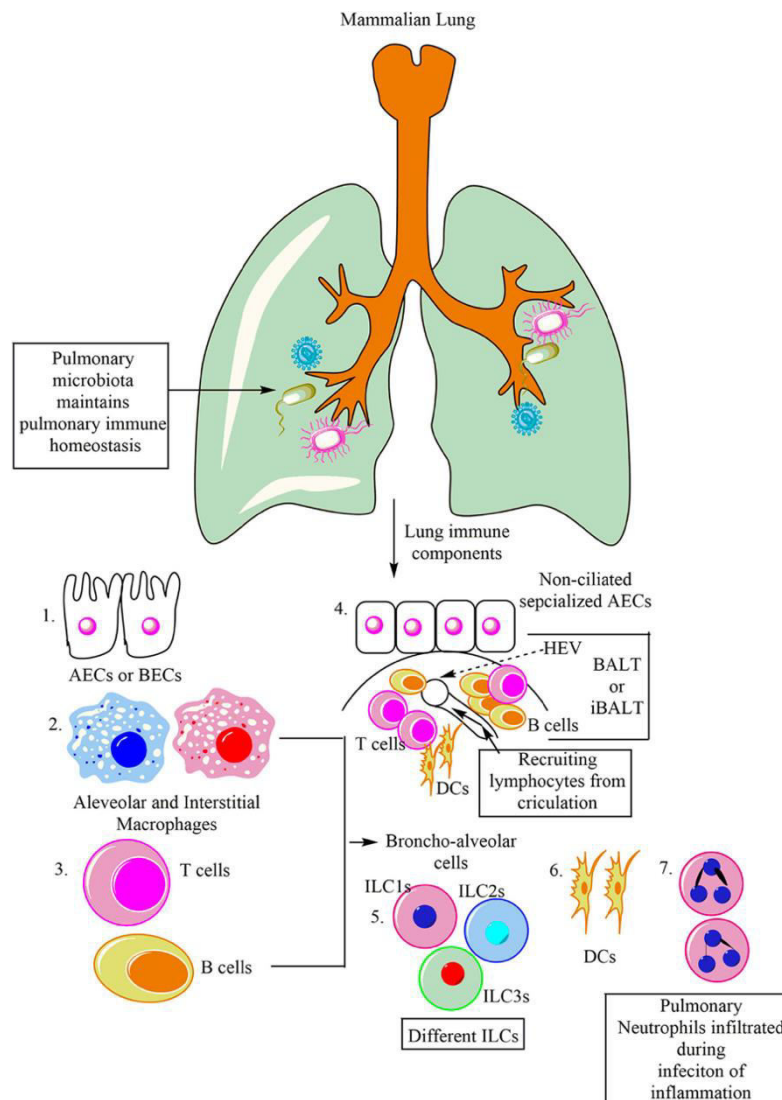
Selama dua dekade terakhir, faktor risiko berbeda pneumonia komunitas telah diketahui. Kondisi klinis berhubungan dengan peningkatan risiko pneumonia komunitas diantaranya riwayat pneumonia; penyakit kardiovaskular kronis;

penyakit serebrovaskular seperti; stroke, dan demensia; kondisi kejiwaan; penyakit pernapasan kronis; termasuk penyakit paru obstruktif kronik kelainan (PPOK), bronkitis, atau asma; disfagia; diabetes; kanker; dan penyakit hati kronis atau penyakit ginjal. Beberapa faktor gaya hidup juga dikaitkan dengan risiko peningkatan terjadinya pneumonia komunitas, yaitu riwayat penyalahgunaan alkohol atau alkoholisme, kekurangan berat badan, tinggal di area dengan lebih dari sepuluh orang, status merokok saat ini dan sebelumnya, dan kontak rutin dengan anak-anak. Terakhir, kondisi klinis dan terapi yang mengarah ke sistem imun yang lemah merupakan faktor penentu yang krusial terjadinya pneumonia komunitas.²⁰

2.1.5. Patogenesis

Paru adalah organ vital yang dirancang tidak hanya untuk pertukaran gas tetapi juga berfungsi sebagai organ kekebalan utama untuk melindungi inang dari penyakit yang disebabkan oleh inhalasi patogen selama pernapasan bersama dengan alergen dan xenobiotik (asma alergi, pneumonia, *acute lung injury* (ALI) terkait sepsis).²¹

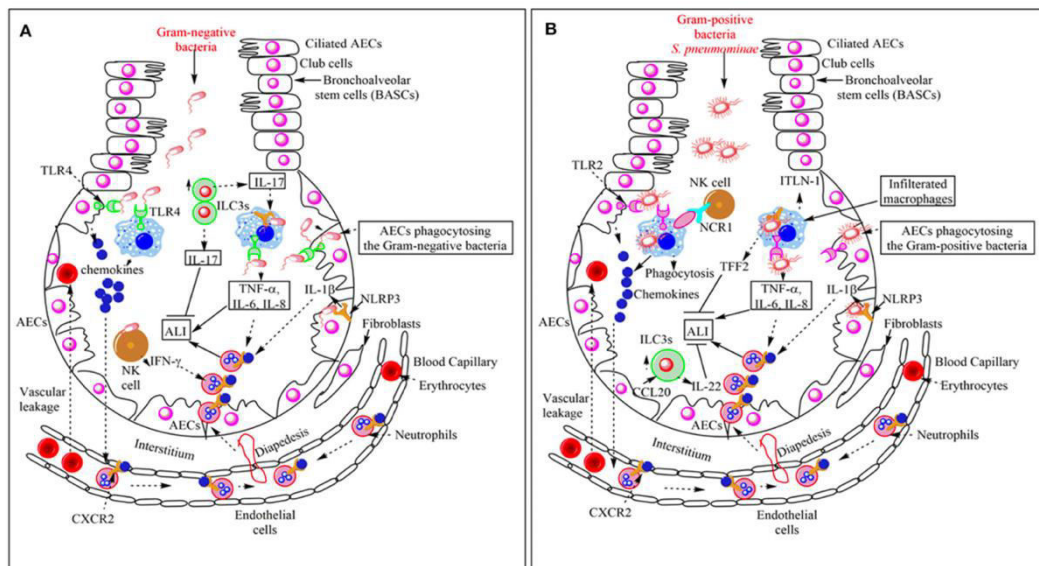
Paru adalah organ imun yang mengandung makrofag, yang dapat dibagi menjadi makrofag alveolar (AM) dan makrofag interstisial (IM), sel epitel alveolar dan bronkial (AEC dan BEC), DC, sel *natural killer* (NK) serta *innate lymphoid cell* (ILC) lainnya (ILC1s, ILC2s, dan ILC3s), dan sel imun adaptif (sel T dan B yang berbeda). Neutrofil juga bermigrasi ke paru sebagai respons terhadap infeksi atau peradangan. Selain itu, seperti *peyer patch* (PP) pada jaringan limfoid terkait usus (GALT), paru juga memiliki *bronchus-associated lymphoid tissue* (BALT). BALT berisi sel T (Zona sel T), sel B (zona sel B), dan sel dendritik (DC). BALT yang diinduksi sebagai respons terhadap infeksi disebut *induced BALT* (iBALT).²¹



Gambar 2.1 Sel imun yang berperan pada paru mamalia.²¹

Different pattern-recognition receptors (PRRs), Toll-like receptors (TLRs) dan protein Inflammasome (NLRP3), yang diekspresikan pada sel imun bawaan paru (sel AEC, BECs, AMs, DCs, dan NK) mengenali bakteri di paru. Pengenalan ini menginduksi sitokin proinflamasi (TNF- α , IL-6, IL-8, dan IL-1 β) dan pelepasan kemokin. Kemokin dan sitokin proinflamasi menginduksi infiltrasi neutrofil di alveoli dari kapiler darah paru melalui endotel vaskular melalui diapedesis. Neutrofil yang diinfiltrasi membantu dalam pembersihan patogen tetapi juga menyebabkan kerusakan jaringan paru inflamasi melalui PEC atau AEC yang

merusak. Pada *acute lung injury* (ALI) terkait pneumonia berat, kebocoran protein dan eritrosit melalui pembuluh darah juga terjadi di paru. Sel NK paru juga melepaskan IFN- γ , yang selanjutnya meningkatkan infiltrasi neutrofil dan ALI. Namun, peningkatan ILC3 pada tahap selanjutnya meningkatkan kadar IL-17. Sitokin ini membantu peningkatan fagositosis patogen dan resolusi ALI yang disebabkan oleh bakteri Gram-negatif yang disebabkan oleh pneumonia (Gambar 2.2 (A)). Pengenalan bakteri Gram-positif (*S. aureus*) menginduksi peningkatan produksi kemokin dan sitokin proinflamasi (TNF- α , IL-1 β , IL-6, dan IL-8), yang melalui pengikatan dengan bakteri yang sesuai reseptor (CXCR2) pada neutrofil menginduksi diapedesisnya ke alveoli paru dari endotel pembuluh darah paru. Neutrofil, bersama dengan pembersihan bakteri, juga menyebabkan *acute lung injury* (ALI). Kerusakan endotel pembuluh darah paru juga menyebabkan kebocoran pembuluh darah. Sel NK paru melalui NCR1 berinteraksi dengan *alveolar macrophage* (AM) untuk lebih meningkatkan pelepasan sitokin proinflamasi, yang selanjutnya memperburuk infiltrasi neutrofil, pembersihan patogen, dan juga *acute lung injury* (ALI). Protein inflamasi (NLRP3) juga bekerja secara independen dari aktivasi inflamasi melalui menginduksi pelepasan TFF2 dan ITLN-1. TFF2 menghambat ALI dan membantu penyelesaiannya, sedangkan ITLN-1 membersihkan infeksi melalui peningkatan fagositosis patogen. CCL20 yang dilepaskan dari AEC meningkatkan jumlah ILC3 paru, yang melepaskan IL-22 yang menghambat ALI dan membantu penyembuhannya (gambar 2.2 (B)).²¹



Gambar 2.2 Gambaran umum respon imun bawaan terkait pneumonia bakteri yang bertanggung jawab terhadap ALI. (A) Pneumonia bakteri gram negatif dan ALI. (B) ALI terkait pneumonia bakteri Gram-positif.²¹

2.1.6. Diagnosis

Diagnosis pneumonia berdasarkan anamnesis, pemeriksaan fisis, pemeriksaan penunjang (radiologi dan laboratorium). Gejala dan tanda klinis tidak memberikan gambaran akurat mengenai pneumonia, sehingga diagnosis pasti pneumonia ditegakkan jika pada pemeriksaan radiologi ditemukan infiltrat/opasitas/konsolidasi/*air bronchogram* ditambah dengan awitan akut dari beberapa gejala dan tanda di bawah ini:¹⁷

1. Batuk.
2. Nyeri dada.
3. Sesak napas.
4. Perubahan karakteristik sputum/purulent.
5. Suhu tubuh $> 38^{\circ}\text{C}$ (aksila)/riwayat demam.
6. Pada pemeriksaan fisis dapat ditemukan tanda-tanda konsolidasi, suara napas bronkial dan ronki.
7. Jumlah leukosit $> 10.000 \text{ sel}/\mu\text{L}$ atau $< 4500 \text{ sel}/\mu\text{L}$ dengan peningkatan neutrofil batang atau *immature granulocytes*.

Adapun manifestasi klinis pneumonia komunitas pada pasien lanjut usia umumnya tidak khas. Gejala awal pada lansia dapat berupa penurunan kesadaran atau disorientasi awitan baru maupun perburukan dengan beberapa gejala lainnya seperti penurunan nafsu makan.¹⁷

2.1.6.1. Pemeriksaan Penunjang

1. Pemeriksaan radiologi

Pemeriksaan radiologi merupakan salah satu pemeriksaan penunjang yang dapat membantu menegakkan diagnosis pneumonia komunitas pada pasien dengan gambaran klinis yang menunjang. Gambaran radiologis yang dapat menunjang pneumonia komunitas adalah sebagai berikut: konsolidasi, infiltrat, opasitas, nodul, dan penebalan dinding bronkial.¹⁷

2. Pemeriksaan mikrobiologi

Pemeriksaan mikrobiologi diperlukan untuk menentukan kuman penyebab menggunakan bahan sputum, darah, atau aspirat endotrakeal, aspirat jaringan paru dan bilasan bronkus. Pengambilan sampel untuk pemeriksaan mikrobiologi dengan tindakan invasif (misal bronkoskopi) hanya dilakukan pada pneumonia berat dan pneumonia yang tidak respons dengan pemberian antibiotik. Patogen penyebab pneumonia sulit ditemukan dan memerlukan waktu beberapa hari untuk mendapatkan hasilnya sedangkan pneumonia dapat menyebabkan kematian bila tidak segera diobati, maka pengobatan awal pneumonia diberikan antibiotik secara empiris.^{17,22}

Penyebab spesifik pneumonia harus dicari karena dapat mengubah penatalaksanaan standar yang bersifat empiris. Pemeriksaan lanjutan tersebut berdasarkan kecurigaan pathogen penyebab sesuai data klinis dan epidemiologi spektrum antibiotic dapat diperluas (eskalasi), dipersempit (deeskalasi) atau berubah berdasarkan hasil kepekaan kuman.^{17,23}

Pemeriksaan mikrobiologi biakan sputum atau saluran nafas bawah merupakan standar baku emas untuk diagnosis penunjang mikrobiologi pneumonia komunitas. Pemeriksaan mikrobiologi sputum didahului dengan pemeriksaan kualitas spesimen atau sampel, dalam hal ini terbanyak adalah sputum. Pemeriksaan

biakan sputum dapat dilakukan jika hasil sputum yang dikeluarkan kualitasnya baik dengan kriteria: epitel <10/lpk dan leukosit >25/lpk.^{17,24}

3. Pemeriksaan kimia darah

Pemeriksaan hematologi rutin, fungsi ginjal (ureum dan kreatinin), glukosa darah, analisis gas darah dilakukan pada pasien dengan kasus gawat nafas (frekuensi nafas > dari 30 atau SPO2 92% dengan udara ruangan) dan pemeriksaan laktat dapat dilakukan bila terdapat gangguan hemodinamik (tekanan sistolik > dari 100). Pemeriksaan fungsi hepar (SGOT dan SGPT), fungsi ginjal, elektrolit (Na), glukosa darah, dan hematokrit juga dapat dilakukan untuk menilai derajat keparahan pneumonia (*Pneumonia Severity Index/PSI*).^{17,25}

a. Prokalsitonin (PCT)

Prokalsitonin (PCT) dapat meningkat saat terjadi bakteremia, sepsis, syok septik, dan sindrom disfungsi multiorgan (MODS). Pada pasien dewasa yang diduga menderita pneumonia komunitas secara klinis dan telah terkonfirmasi melalui pemeriksaan radiologi, terapi antibiotik empiris sebaiknya segera dimulai tanpa mempertimbangkan kadar prokalsitonin serum awal (rekomendasi kuat, kualitas bukti sedang).^{17,22}

Pemeriksaan PCT tidak dilakukan secara rutin karena hasil normal tidak dapat menyingkirkan infeksi bakteri sebagai penyebab pneumonia, dan pemberian antibiotik tidak perlu menunggu hasil PCT (rekomendasi kuat, kualitas bukti sedang). Pemeriksaan PCT dapat dilakukan jika kondisi klinis pasien memburuk, untuk menilai respons terhadap antibiotik, serta sebagai panduan untuk menghentikan antibiotik saat tanda-tanda klinis dari sindrom respons inflamasi sistemik (SIRS) menetap.^{17,23}

b. C-Reactive Protein (CRP)

CRP disintesis di sel-sel hepatik oleh induksi IL-6, IL-1 β , dan TNF- α saat terjadi infeksi atau inflamasi jaringan. Nilai normal CRP adalah <5 mg/L, dan kadar di atas 10 mg/L merupakan indikasi inflamasi yang signifikan. Meski demikian CRP mempunyai spesifisitas yang rendah sebagai penanda infeksi, karena kadar

tersebut terdapat pada berbagai keadaan lain seperti obesitas, merokok, diabetes melitus, uremia, hipertensi, kurang aktifitas, terapi pengganti hormon, gangguan tidur, kelelahan kronik, konsumsi alkohol, depresi, dan penuaan.^{17,26}

Pemeriksaan CRP dilakukan apabila pemeriksaan PCT tidak dapat dilakukan. Kadar CRP di atas 100 mg/L dapat digunakan untuk menentukan prognosis dan kebutuhan ventilasi mekanik pada pasien pneumonia.¹⁷

c. Pemeriksaan *syndromic testing/multiplex* PCR

Salah satu *syndromic testing* panel pneumonia mampu mendeteksi 27 patogen yang paling sering menjadi penyebab pneumonia yaitu 11 bakteri Gram negatif, 4 bakteri Gram positif, 3 bakteri atipikal, 9 virus, dan 7 gen petanda resisten antibiotik. Dari beberapa penelitian yang sudah dilakukan terlihat bahwa *syndromic testing panel* pneumonia dapat memberi manfaat dalam mengarahkan terapi empiris yang lebih tepat pada fase awal pneumonia baik untuk bakteri maupun virus.^{17,27}

2.1.7. Tatalaksana

2.1.7.1. Pengobatan antibiotik empiris

Pengobatan antibiotik empiris harus dimulai segera mungkin setelah diagnosis dibuat, menurut sebagian besar kemungkinan patogen, faktor risiko pasien untuk patogen tertentu, tingkat keparahan pneumonia, pasien preferensi dan potensi alergi antibiotik, dan biaya-evaluasi efektivitas. Rekomendasi pedoman pada pilihan terapi antibiotik empiris di pasien dengan pneumonia yang didapat dari komunitas harus ditafsirkan secara kritis dan individual atas dasar tersebut data epidemiologi lokal dan karakteristik sistem layanan kesehatan.²⁰

Pedoman ATS dan IDSA1 menyarankan amoksisilin, doksisisiklin, atau makrolida (hanya di area dengan <25% dari pneumokokus yang resisten terhadap makrolida) untuk pasien rawat jalan tanpa penyakit penyerta atau faktor risiko untuk mikroorganisme yang resisten. Untuk pasien rawat jalan dengan penyakit penyerta, pengobatan pneumonia yang didapat dari komunitas, pilihannya mencakup monoterapi dengan fluoroquinolone, atau terapi kombinasi amoksisilin-asam klavulanat atau sefalosporin dan makrolida atau doksisisiklin.^{8,20}

2.1.7.2. Pengobatan anti influenza

Terapi influenza dianjurkan untuk pasien rawat inap dan pasien rawat jalan dengan pneumonia yang didapat dari komunitas dengan tes influenza positif. Beberapa obat telah disetujui untuk pengobatan dan pencegahan influenza, meskipun vaksinasi tahunan tetap menjadi dasar bagi pencegahan dan pengendalian influenza. Influenza tanpa komplikasi biasanya membaik dengan atau tanpa pengobatan antivirus. Namun, antivirus mengurangi waktu dari gejala hingga perbaikan klinis. Komplikasi influenza adalah infeksi bakteri, pneumonia akibat virus, dan kejadian penyakit jantung. Ada empat obat antivirus influenza yang disetujui *FDA United State* direkomendasikan oleh Pusat Pengendalian Penyakit Amerika Serikat dan Pencegahan (CDC): peramivir, zanamivir, oseltamivir fosfat, dan baloxavir marboxil.²⁰

2.1.7.3. Terapi Adjuvan

Mengontrol respon inflamasi sistemik yang berlebihan adalah suatu tujuan dalam pengelolaan pneumonia komunitas, terutama pada saat awal setelah diagnosis dibuat, hingga mencegah komplikasi sistemik dan hasil yang lebih buruk. Meskipun pulih secara klinis, beberapa pasien dengan pneumonia komunitas dipulangkan dengan masih adanya inflamasi subklinis, yang dapat dikaitkan dengan peningkatan risiko kematian. Menurut data yang telah dipublikasikan selama dua dekade terakhir, pemberian kortikosteroid sebagai pengobatan koadjuvan di rawat inap pada pasien dengan pneumonia yang didapat dari komunitas. Satu studi pada 1506, pasien yang diteliti dalam enam percobaan menunjukkan kortikosteroid yang diresepkan untuk pasien rawat inap dengan pneumonia yang didapat dari komunitas dapat mengurangi waktu untuk stabilitas klinis dan lama rawat inap di rumah sakit, tanpa pengaruh yang signifikan secara statistik terhadap kematian secara keseluruhan.²⁰

2.1.8. Komplikasi dan Prognosis

Kematian pada pneumonia seringkali disebabkan oleh faktor-faktor yang tidak dapat diubah, termasuk usia lanjut, penyakit penyerta, dan preferensi pasien terhadap perawatan yang agresif. Banyak pasien pneumonia mempunyai tujuan

pembatasan perawatan seperti ‘tidak untuk resusitasi’ atau ‘tidak untuk perawatan intensif’. Demikian pula, beberapa penelitian menunjukkan bahwa sebagian besar kematian dalam 30 hari pertama setelah diagnosis pneumonia terjadi setelah keluar dari rumah sakit, sehingga sebagian besar kematian rawat inap tidak dapat dicegah atau diukur, dan tidak bersifat refleksif. dari kualitas layanan yang diberikan. Namun, kembalinya kemandirian, fungsi fisik dan kognitif dasar, keterlibatan sosial, pengalaman pasien, dan kualitas hidup, semuanya merupakan hasil yang bermakna dan berpotensi dapat dimodifikasi bagi pasien dari segala usia yang sejauh ini belum banyak diteliti.⁷

2.2. Sitokin IL-6

2.2.1. Peran IL-6 dalam Peradangan dan Imunitas

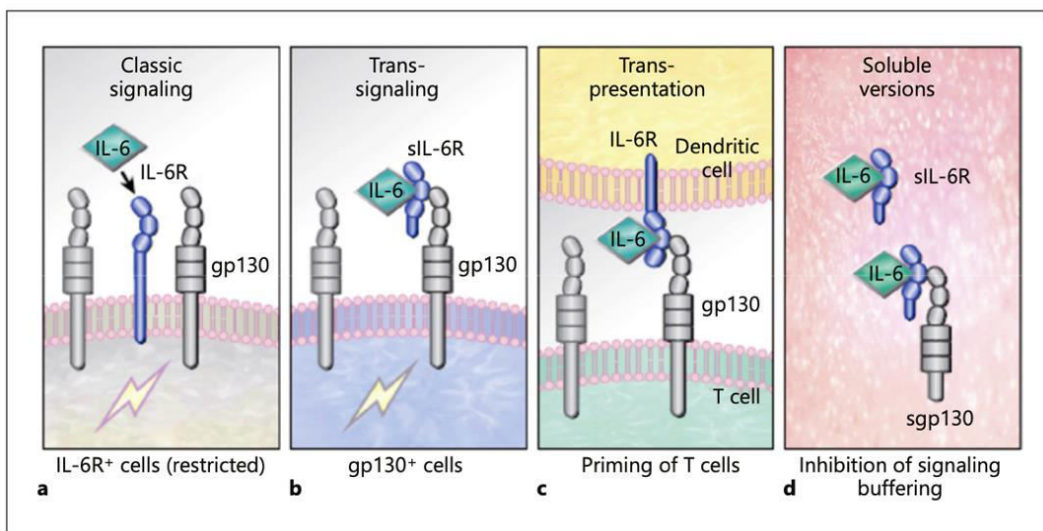
Interleukin-6 (IL-6) telah diidentifikasi pada tahun 1986 sebagai faktor stimulasi sel B yang mendorong diferensiasi sel B efektor menjadi sel penghasil antibodi. Juga dikenal sebagai interferon ($\text{IFN-}\beta 2$), faktor perangsang hepatosit, dan faktor pertumbuhan hibridoma/plasmasitoma, IL-6 adalah glikopeptida yang disekresikan 25-kDa yang terdiri dari 184 asam amino.²⁸

Interleukin-6 (IL-6) adalah salah satu kelompok sitokin proinflamasi, menginduksi ekspresi berbagai protein yang bertanggung jawab atas peradangan akut, dan memainkan peran penting dalam proliferasi dan diferensiasi sel pada manusia.^{28,29}

Monosit dan makrofag adalah produsen utama IL-6, tetapi juga sel T, sel B, hepatosit, sel endotel, fibroblas, keratinosit, sel mesangial, dan adiposit, serta beberapa sel tumor dapat menghasilkan IL-6 secara konstitutif atau setelah stimulasi. IL-6 adalah sitokin pleiotropik dan dapat mempengaruhi beberapa proses imun dan fisiologis, seperti pembentukan protein fase akut (misalnya, protein C-reaktif [CRP], hepcidin, dll.), peradangan, respon imun spesifik antigen, hematopoiesis, apoptosis, diferensiasi, dan metabolisme sel. Produksi IL-6 selama kondisi inflamasi dan infeksi diinduksi melalui stimulasi sel oleh IL-1 atau tumor necrosis factor (TNF)- α atau melalui stimulasi *Toll like receptors* setelah pengikatan pola mikroba patogen. Deregulasi, peningkatan ekspresi IL-6 telah dikaitkan

dengan patogenesis beberapa gangguan seperti inflamasi kronis, penyakit autoimun, dan perkembangan tumor.²⁸

Ada tiga jalur pensinyalan untuk IL-6 (Gambar 2.3). Jalur pertama yaitu jalur klasik di mana IL-6 berikatan dengan membran reseptor IL-6 α (mIL-6Ra) dan membentuk kompleks dengan gp130. IL-6 terdiri dari empat heliks yang membentuk situs pengikatan untuk IL-6R dan dua situs untuk pengikatan gp130. Yang kedua, melalui jalur trans-sinyal yang dapat didorong oleh IL-6 di semua sel yang mengekspresikan gp130. Jalur ketiga menghadirkan IL-6/IL-6R yang terikat pada DC ke sel T naif yang mengekspresikan gp130.²⁸



Gambar 2.3 a. pensinyalan klasik, yang terbatas pada beberapa tipe sel, dimulai melalui pengikatan IL-6 ke mIL-6R dan membentuk kompleks dengan gp130. b Trans-sinyal dapat digerakkan oleh IL-6 di semua sel yang mengekspresikan gp130. Sementara stimulasi sinyal klasik meningkatkan respons anti-inflamasi, induksi sinyal trans mengarah pada pengembangan respons pro-inflamasi. c Trans-presentation dimediasi melalui interaksi kompleks IL-6/IL-6R yang terikat membran pada DC dengan gp130 pada sel T. d Bentuk IL-6R dan gp130 yang larut dapat mengikat kompleks IL-6 dan IL-6/IL-6R untuk memblokir sinyal IL-6.²⁸

2.2.2. Keterkaitan Sitokin IL-6 dengan Patogenesis Pneumonia

Interleukin-6, sebuah sitokin, memainkan peran penting dalam patogenesis pneumonia.³⁰ Hal ini terlibat dalam respon inflamasi yang terjadi selama infeksi,

khususnya dalam perkembangan pneumonia ringan hingga berat. IL-6 dilepaskan oleh sel imun seperti makrofag dan sel T sebagai respons terhadap keberadaan patogen di paru. Ia bertindak sebagai mediator peradangan, merangsang produksi sitokin dan kemokin proinflamasi lainnya, yang menarik sel-sel kekebalan ke tempat infeksi. Hal ini menyebabkan perekrutan neutrofil dan makrofag, yang kemudian memfagositosis dan menghilangkan patogen.^{31,32}

Kadar interleukin-6 (IL-6) dalam darah dan cairan bronchoalveolar lavage (BALF) ditemukan secara signifikan lebih tinggi pada pasien dengan pneumonia berat dibandingkan dengan pasien yang mengalami pneumonia ringan. Temuan ini mengindikasikan bahwa IL-6 berpotensi menjadi biomarker yang berguna dalam memprediksi tingkat keparahan pneumonia serta memantau respons terhadap terapi.

Beberapa studi juga menunjukkan bahwa kadar IL-6 memiliki korelasi positif yang kuat dengan skor *Pneumonia Severity Index* (PSI) pada pasien dengan pneumonia komunitas. Skor PSI sendiri digunakan untuk menilai derajat keparahan pneumonia berdasarkan parameter demografis, adanya komorbiditas, serta hasil pemeriksaan laboratorium. Oleh karena itu, IL-6 dapat dipertimbangkan sebagai penanda prognostik yang berpotensi membantu dalam stratifikasi risiko dan pengambilan keputusan klinis pada kasus pneumonia.³³

IL-6 juga telah dikaitkan dengan perkembangan sindrom gangguan pernapasan akut (ARDS), suatu komplikasi pneumonia parah yang ditandai dengan peradangan dan kerusakan pada paru. Peningkatan kadar IL-6 telah dikaitkan dengan peningkatan angka kematian pada pasien ARDS.^{31,32}

Singkatnya, IL-6 adalah sitokin kunci yang terlibat dalam patogenesis pneumonia, berkontribusi terhadap respon inflamasi dan perkembangan penyakit. Kadarnya dapat berfungsi sebagai biomarker untuk memprediksi tingkat keparahan pneumonia dan memantau respon pengobatan, dan regulasinya dapat menjadi target terapi untuk menangani kasus pneumonia yang parah.^{31,32}

2.3. *Zingiber officinale*

2.3.1. Komposisi Kimia dan Aktivitas Farmakologis *Zingiber officinale*

Jahe (*Zingiber officinale*) adalah rempah-rempah populer dalam keluarga *Zingiberaceae* yang dikonsumsi dalam makanan tradisional di seluruh dunia.¹³ Famili *Zingiberaceae*, terdiri dari 53 gen dan 1.300 spesies di seluruh dunia. Salah satu spesies tertentu, *Zingiber officinale*, umumnya dikenal sebagai jahe, merupakan tanaman herba dengan rimpang aromatik dan pedas yang berasal dari India Timur Laut.¹³ Penggunaan jahe sebagai obat untuk mengobati pilek, muntah, sakit perut, meringis, dan batuk dapat ditelusuri kembali ke sekitar 2.000 tahun yang lalu, oleh Shennong Bencaojing yang legendaris yang menjadi landasan Farmakope tertua di dunia.¹³

Zingiber officinale memiliki tiga varietas utama yang dibedakan berdasarkan ukuran dan warna rimpangnya, yaitu *Z. officinale* var. *officinarum* (jahe putih besar atau jahe gajah), *Z. officinale* var. *amarum* (jahe putih kecil atau jahe emprit), dan *Z. officinale* var. *rubrum* (jahe merah atau jahe kecil). Ketiga varietas ini memiliki kandungan minyak atsiri yang berbeda, yang memengaruhi tujuan penggunaannya. Jahe putih besar diketahui memiliki kandungan minyak atsiri paling rendah dibandingkan dua varietas lainnya, sehingga lebih banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku produk segar (jahe hijau), makanan, dan minuman. Sebaliknya, jahe putih kecil dan jahe merah lebih sering digunakan untuk keperluan pengobatan tradisional karena kandungan senyawa bioaktifnya yang lebih tinggi.^{11,34,35}



Gambar 2.4 *Zingiber officinale* var. *rubrum*.¹³

Sejak tahun 1910-an, berbagai macam senyawa biologis aktif telah diisolasi dari jahe, termasuk minyak atsiri, analog gingerol, diarilheptanoid, fenilalkanoid, sulfonat, dan lain-lain. Rimpang jahe mengandung berbagai jenis zat gizi yang bermanfaat bagi tubuh, diantaranya energi, karbohidrat, serat, protein, sodium, zat besi, potasium, dan vitamin C. Selain itu, rimpang jahe juga mengandung magnesium, fosfor, seng, folat, vitamin B6, vitamin A, riboflavin, dan niasin.¹¹ Studi kuantifikasi menunjukkan bahwa rimpang jahe mengandung 60–70% karbohidrat, 9–12% air, 9% protein, 8% abu, 3–8% serat kasar, 3–6% minyak lemak, dan 0,3–3% minyak volatil. Selain itu, senyawa lain termasuk alkaloid, xanthone, dan lakton juga telah dilaporkan sebelumnya terdapat pada jahe.¹³

Aktivitas farmakologis jahe telah diselidiki secara komprehensif, termasuk efek perlindungan pada sistem pencernaan, saraf, dan kardiovaskular, hati dan ginjal, serta antikanker, penurun lipid dan antiobesitas, antidiabetes, dan efek lainnya.³⁶

2.3.2. Farmakokinetik *Zingiber officinale*

Beberapa informasi terkait penyerapan, distribusi, metabolisme, dan ekskresi jahe serta senyawa aktif pada manusia dan hewan kecil (model tikus dan mencit) telah dilaporkan. Jahe dan komponennya diketahui diserap secara cepat dan mengalami metabolisme ekstensif baik pada manusia maupun hewan. Pada subjek manusia sehat, setelah pemberian ekstrak jahe secara oral dengan dosis berkisar antara 0,1 hingga 2,0 gram per orang, sampel darah diambil dalam rentang waktu 0,25 hingga 72 jam paska pemberian. Hasil analisis menunjukkan bahwa senyawa 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol, dan 6-shogaol tidak terdeteksi dalam plasma partisipan. Waktu hingga tercapainya konsentrasi maksimum dalam plasma (T_{max}) untuk konjugat senyawa tersebut diperkirakan masing-masing sebesar 65,6; 73,1; 75,0; dan 65,6 menit. Selain itu, semua analit memiliki waktu paruh eliminasi kurang dari dua jam.^{34,37}

Namun, dalam uji klinis ditemukan bahwa rendahnya kadar 10-gingerol bebas dan 6-shogaol terdeteksi dalam plasma manusia setelah pemberian oral jahe,

dengan konsentrasi puncak diamati pada 9,5 dan 13,6 ng/ml. Waktu paruh keempat senyawa ini dan metabolisemenya dalam plasma terdeteksi 1-3 jam. Temuan ini hasilnya konsisten dengan yang ditemukan dalam pemberian oral 6-gingerol pada tikus, dimana tidak ada 6-gingerol bebas yang terdeteksi sama sekali dalam urin atau empedu; (S)-6-gingerol-4 -O- β -glucuronide ditemukan dalam empedu tetapi tidak ada konjugat sulfat. Menurut studi setelah pengobatan 6-gingerol (3 mg/kg, iv), konsentrasi plasma 6-gingerol pada 30 menit kurang dari 0,1% dari konsentrasi plasma yang segera hilang dengan waktu paruh terminal yang pendek (7,23 menit) pada tikus.³⁷

Hati (hepar) dianggap sebagai salah satu organ utama yang berperan dalam eliminasi 6-gingerol. Meskipun senyawa ini diekskresikan dengan cepat, terdapat perbedaan antara waktu paruh ekskresi dan durasi efek farmakologisnya, yang diduga disebabkan oleh keberadaan metabolit aktif. 6-Gingerol diketahui tetap efektif meskipun pada konsentrasi plasma yang relatif rendah. Sebagian besar senyawa 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol, dan 6-shogaol terdeteksi dalam sirkulasi sistemik dalam bentuk konjugat glukuronida dan sulfat, dengan glukuronida sebagai metabolit dominan. Namun demikian, konjugat sulfat tidak terdeteksi, kecuali setelah pemberian 6-gingerol dengan dosis melebihi 1,0 gram.³⁷

Metabolit utama senyawa ini umumnya berupa konjugat glukuronida atau sulfat, bukan konjugat campuran. Namun, 6-gingerol menunjukkan pengecualian pada dosis rendah. Studi sebelumnya melaporkan bahwa setelah pemberian oral 6-gingerol sebesar 50 mg/kg, sekitar 48% dari senyawa tersebut diekskresikan dalam bentuk konjugat asam glukuronat, sedangkan sekitar 16% diekskresikan sebagai enam jenis metabolit minor, termasuk asam vanilat dan asam ferulat. Proses glukuronidasi terhadap 6-gingerol terjadi pada gugus hidroksil aromatik maupun alifatik, dengan lokasi glukuronidasi yang bergantung pada isoform enzim UDP-glukuronosiltransferase (UGT) yang terlibat. Menurut studi sebelumnya senyawa aktif ini memiliki afinitas tinggi terhadap jalur glukuronidasi dibandingkan dengan sulfasi, yang kemungkinan disebabkan oleh berat molekul yang relatif besar dan polaritas tinggi dari senyawa glukuronida yang terbentuk.³⁷

Senyawa konjugat ini mungkin juga aktif secara biologis sebagai senyawa induk. Misalnya, dua metabolit utama 6-gingerol dalam sel H-1299, yang diidentifikasi sebagai (3R,5S)-6-gingerdiol dan (3S,5S)-6-gingerdiol, menunjukkan efek sitotoksik terhadap sel kanker, dengan efek yang sebanding dengan 6-gingerol.³⁷

Distribusi jaringan 6-gingerol dalam tubuh manusia berkorelasi dengan potensi farmakodinamiknya. Setelah pemberian oral, 6-gingerol menunjukkan partisi jaringan yang tinggi dan distribusi yang luas di otak, jantung, paru, limpa, hati, ginjal, lambung, dan jaringan usus kecil, dengan konsentrasi tertinggi terdeteksi di saluran pencernaan. Inilah alasan mengapa jahe umumnya digunakan untuk mengobati penyakit gastrointestinal sejak zaman kuno, dan organ target ini harus dilihat sebagai fokus penelitian dalam penelitian selanjutnya. Konsentrasi 6-gingerol di jaringan lebih tinggi dibandingkan plasma, sedangkan konsentrasi maksimal dicapai di sebagian besar jaringan sekitar 0,5 jam. Dengan demikian, konstituen yang bertanggung jawab atas aktivitas farmakologi gastrointestinal dapat dikaitkan dengan 6-gingerol dan senyawa analognya. 6-Shogaol (10 mg/kg, po) diberikan secara oral pada tikus selama 48 jam terutama diekskresikan ke dalam empedu sekitar 78,5 dan 11,8% untuk ekskresi urin.³⁷

Secara kolektif, temuan ini mengungkapkan bahwa gingerol dan shogaol dengan cepat diserap pada hewan dan manusia, dan terakumulasi di beberapa jaringan dengan partisi tinggi dan distribusi luas. Komponen yang dibersihkan dengan cepat ini telah terbukti memiliki aktivitas farmakologis yang luas meskipun waktu paruhnya pendek, namun senyawa efektif yang mendasarinya masih belum jelas. Di sisi lain, modifikasi struktural dari senyawa utama jahe ini berdasarkan pada tempat metabolismenya dan, atau penemuan formulasi baru mungkin bermanfaat untuk penggunaannya di masa depan sebagai obat baru.³⁷

Tabel 2.1 Kandungan zat gizi pada rimpang jahe.¹¹

No	Jenis Zat Gizi	Nilai Gizi per 100 g
1	Energi	79 kkal
2	Karbohidrat	17,86 g
3	Serat	3,60 g
4	Protein	3,57 g
5	Sodium	14 mg
6	Zat besi	1,15 g
7	Potasium	33 mg
8	Vitamin C	7,70 mg

2.4. Pengaruh ekstrak *Zingiber officinale* pada Sitokin IL-6

Studi-studi terdahulu telah menunjukkan bahwa *Zingiber officinale*, atau jahe, memiliki efek pada sitokin IL-6, yang berperan dalam proses inflamasi. Berikut adalah beberapa contoh studi yang relevan:

2.4.1. Aktivitas Antiinflamasi *Zingiber officinale*

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa jahe dapat menghambat produksi sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , dan IL-6 pada sel HaCaT dan tikus yang diinduksi streptozotocin. Hal ini menunjukkan bahwa jahe memiliki potensi sebagai agen antiinflamasi yang efektif.³⁸

2.4.2. Pengaruh *Zingiber officinale* terhadap IL-6.

Studi lainnya menemukan bahwa pemberian jahe 3 gram sehari selama enam minggu dapat menurunkan kadar IL-6 sebanyak 41% pada pasien wanita yang memiliki berat badan berlebih dengan kanker payudara. Hal ini menunjukkan bahwa jahe dapat berperan dalam mengurangi produksi IL-6, yang dapat membantu mengurangi inflamasi.³⁸

2.4.3. Pengaruh *Zingiber officinale* sebagai imunomodulator

Temua sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang jahe yang telah dimurnikan dapat memiliki aktivitas imunomodulator yang sebanding dengan herba meniran. Hal ini disebabkan ekstrak murni mengandung kadar fenolik lebih tinggi dari ekstrak kasar. Selain itu, aktivitas antioksidan dari jahe dapat memperkuat aktivitas imunomodulatornya dengan cara menghambat enzim NADPH oksidase dan xantin oksidase yang berperan dalam produksi radikal bebas.³⁹

2.4.4. Pengaruh *Zingiber officinale* terhadap IL-6 pada osteoarthritis

Literatur terdahulu menunjukkan bahwa masase jahe merah dapat menurunkan kadar IL-6 pada klien dengan osteoarthritis. Hal ini menunjukkan bahwa jahe dapat berperan dalam mengurangi produksi IL-6, yang dapat membantu mengurangi inflamasi pada penyakit ini.⁴⁰

2.4.5. Pengaruh *Zingiber officinale* terhadap IL-6 pada diabetes

Referensi terdahulu menunjukkan bahwa kombinasi dekokta rimpang jahe dapat menurunkan kadar IL-6 pada tikus yang diinduksi streptozotocin. Hal ini menunjukkan bahwa jahe dapat berperan dalam mengurangi produksi IL-6, yang dapat membantu mengurangi inflamasi pada penyakit diabetes.³⁹

2.4.6. Pengaruh *Zingiber officinale* terhadap IL-6 pada kanker

Kajian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian jahe 3 gram sehari selama enam minggu dapat menurunkan kadar IL-6 sebanyak 41% pada pasien wanita yang memiliki berat badan berlebih dengan kanker payudara. Hal ini menunjukkan bahwa jahe dapat berperan dalam mengurangi produksi IL-6, yang dapat membantu mengurangi inflamasi pada penyakit kanker.³⁹

2.4.7. Pengaruh *Zingiber officinale* terhadap IL-6 pada COVID-19

Laporan penelitian terdahulu menunjukkan hasil IL-6 memiliki peran sebagai biomarker awal cedera paru dan faktor prediktif penggunaan ventilasi mekanik yang berkepanjangan, disfungsi organ, morbiditas, dan kematian pada penyakit paru. Hal ini menunjukkan bahwa IL-6 berperan dalam menginduksi respon fase akut yang mengarah ke berbagai perubahan lokal dan sistemik, termasuk demam, rekrutmen dan aktivasi leukosit, dan efek hemodinamik.³²

2.4.8. Pengaruh *Zingiber officinale* terhadap IL-6 pada Pneumonia

Dalam penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, jahe merah dikombinasikan dengan deksametason untuk menurunkan IL-6 pada pasien pneumonia komunitas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak jahe merah dan deksametason dapat menurunkan IL-6 secara signifikan.⁴¹

2.5. Model Tikus

Tikus galur *Rattus norvegicus* merupakan salah satu hewan yang banyak digunakan sebagai hewan coba. Tikus dewasa jenis ini memiliki berat badan berkisar antara 200-400 g dengan ukuran jantan umumnya lebih besar dibandingkan betina pada usia 9 minggu serta memiliki warna tubuh putih (albino) dengan mata yang merah. Tikus ini dapat menjadi takut oleh perlakuan dari manusia namun umumnya mereka cukup tenang, *gentle*, *reintelligen*, dan mudah untuk dilatih.

Mereka jarang mengigit kecuali diprovokasi dan tidak memiliki bau yang menyengat. Tikus ini merupakan hewan sosial dan dikandang dalam bentuk pasangan pada kelompok kecil. *Social housing* lebih direkomendasikan dibandingkan *single housing*. Tikus ini jarang beradu satu sama lainnya. Sebagian tikus ini jinak dan memiliki rasa penasaran yang tinggi serta mudah beradaptasi pada berbagai lingkungan. Tikus merupakan hewan nokturnal dan lebih banyak tidur pada siang hari. Jika pintu kandang terbuka, mereka akan keluar namun nantinya akan kembali lagi. Tubuh tikus memiliki kepala yang lebih mengerucut dan panjang, dengan tubuh silindrikan, kaki yang pendek, ekor yang panjang, dan rambut yang jarang. Tikus tidak dapat muntah karena adanya lipatan yang membatasi rigi antara dua bagian perut dan menutupi jalan masuk ke esofagus. Tikus tidak memiliki kandung empedu. Sekum telah berkembang dengan baik dan memiliki fungsi seperti rumen untuk mencerna selulosa. Di belakang mata terdapat kelenjar lakrimal berbentuk tapal kuda berpigmentasi dan besar yang disebut dengan kelenjar Harderia. Sekretnya mengandung tinggi kadar porfirin dan dapat membentuk krusta di sekitar mata dan hidung. Kandang tikus umumnya harus berdasar padat. Perilaku normal tikus terdiri dari mengunyah, mencari makan dan membangun sarang.³⁴

Tabel 2.2 Ciri tikus sehat.³⁴

Parameter	Keterangan
Berat badan dewasa	Jantan: 300-520 g Betina: 250-300 g
Lama hidup	2,5-3,5 tahun
Suhu tubuh	35,9-37,5 C
Denyut jantung	250-450x/menitt
Laju napas	70-115x/menit
Konsumsi makanan	5-6 g/100g/hari
Konsumsi air	10-12 ml/100g/hari
Onset kawin	Jantan: 65-110 hari Betina: 65-110 hari
Lama siklus estrous	4-5 hari
Periode gestasi	21-23 hari
Oestrus postpartum	Fertil
Ukuran pup	6-12
Usia menyapih	21 hari
Durasi pembiakan	350-440 hari
Nomor kromosom	42

Perawatan pada tikus adalah dengan menyediakan kandang berukuran 30 cm x 40 cm x 15 cm dengan dasar kandang diberikan alas sekam yang diganti setiap 3 hari atau jika sudah kotor. Tikus dipelihara pada ruangan bersuhu 22-24° C dengan siklus gelap-terang 12-12 jam (lampu dihidupkan pada pukul 7 pagi dan dimatikan kembali pada pukul 7 malam). Kelembaban dipertahankan sekitar 55%. Aklimatisasi dilakukan sekitar 7 hari. Pakan diberikan adalah pakan yang bebas antibiotik, diberikan secara adlibitum dengan perhitungan sekitar 15-20% dari berat badan. Air yang diberikan adalah air kemasan secara adlibitum. Limbah hewan coba baik sekam, kotoran, dan jasad dikelola dengan incinerator untuk mencegah kontaminan yang mungkin terjadi.³⁴

2.6. Metode Imunohistokimia

Pemeriksaan imunohistokimia (IHC) adalah suatu metode pemeriksaan untuk mendeteksi lokasi dari sebuah protein dan antigen lain pada potongan jaringan menggunakan antibodi spesifik. Pemeriksaan IHC menunjukkan dimana protein diekspresikan pada jaringan yang intak. Pemeriksaan IHC juga dapat digunakan untuk melihat progresifitas dari penyakit dan respon terapi. Ikatan protein dengan antibodi spesifik akan divisualisasikan menggunakan deteksi kromogenik atau fluoresensi. Pada deteksi kromogenik, antibodi dikonjugasikan pada sebuah enzim yang memotong substrat menghasilkan presipitat berwarna pada lokasi protein berada. Pada deteksi fluoresensi antibodi dikonjugasikan pada fluoropropor yang dapat divisualisasikan menggunakan mikroskop fluoresensi.³

Tabel 2.3 Variabel imunohistokimia.⁴²

Variabel	Faktor Pertimbangan
Antigen	Spesies, kadar ekspresi, tipe sampel
Epitop	jika epitop telah dipetakan – tergantung pada modifikasi <i>post-translasi</i>
Kontrol	Kontrol positif dan negatif - tanpa antibodi primer, kontrol isotipe, kontrol absorpsi, kontrol tipe jaringan
Persiapan Sampel	Terfiksasi atau beku
Metode Fiksasi	Perfusi atau imersi (dengan atau tanpa pembekuan)
Fiksatif	Formaldehid, alkohol atau aseton (termasuk konsentrasi, pH, suhu, waktu inkubasi dan pengencer)
Tahapan Pemblokiran	Blok protein (dengan serum atau BSA). dan, jika dibutuhkan, blok biotin dan / atau enzim endogen
Pengambilan Antigen	PIER (<i>Proteolytic-induced epitope retrieval</i>) atau HER (<i>Heat-induced epitope retrieval</i>)
Metode deteksi	Langsung atau tidak langsung (dengan atau tanpa implikasi)
Kompleks Deteksi	ABC, LSAB, polimer atau mikropolimer
Antibodi Primer	Monoklonal atau poliklonal, spesies
Antibodi Sekunder	Spesies dan label
Metode Pemberian Label	<i>Fluorescent</i> atau kromogenik
Label	Fluorokrom: berdasarkan sifat spektral yang diinginkan Kromogenik : berdasarkan penggunaan enzim terdeteksi
<i>Counterstain</i>	<i>Fluorescent</i> : DAPI, DRAQ5 TM , DRAQ7 TM , <i>Nuclear green</i> , <i>Hoechst</i>
Reagen Mounting	Kromogenik: media mounting organik/aquous <i>Fluorescent</i> : media mounting aqueous anti-kabut Kromogenik: media mounting organik/aquous
Visualisasi dan Analisis	Fluorescent atau mikroskop cahaya analisis oleh mata atau gambaran berbasis software

Untuk pemeriksaan IHC, terlebih dahulu harus dibuat sediaan pemeriksaan patologi anatomi dari paru. Setelah paru diambil, dicuci untuk menyingkirkan seluruh darah yang membeku. Kemudian sampel diambil dengan ketebalan yang sama. Dua potongan diambil masing-masing dari area sentral dan perifer dan dari paru dengan lesi yang tampak abnormal. Spesimen sebesar 2 cm kemudian difiksasi dengan 10% *netral-buffered formalin* kemudian diproses menjadi potongan parafin.³⁵ Sampel secara rutin difiksasi selama 24-48 jam dalam *netral-buffered formalin* sebelum ditempatkan dan ditanam di dalam blok lilin parafin. Setelah itu dapat disimpan dalam suhu kamar, cairan fiksasi lain yang dapat digunakan *methacarn* (60% v / v) *absolute ethanol*, 30% *chloroform* dan 10%

glacial acetic acid. Methacarn dapat memfiksasi dengan baik DNA, RNA, dan protein sehingga dapat digunakan untuk pemeriksaan seperti IHC.³⁵

Pewarnaan IHC digunakan untuk mendeteksi ekspresi seperti sitokin IL-6 menggunakan antibodi monoklonal atau poliklonal dengan kode tertentu. Kemudian diukur % area yang imunoreaktif terhadap antibodi tersebut dengan *10-high power non-overlapping fields* menggunakan model *binary*.³⁵

Tabel 2.4 Panduan persiapan jaringan pada IHC.⁴²

Panduan Preservasi Jaringan

	Jaringan Tertanam Parafin	Jaringan Beku
Fiksasi	Pra-penanaman Mikrotom	Pra/post-pemotongan
Penyimpanan	Bertahun-tahun pada suhu ruangan (antigen mungkin telah berubah dalam waktu tersebut)	1 tahun pada suhu -8C (lebih lama pada -190C)
Keterbatasan	Overfiksasi dapat menyamarkan epitop	Formasi kristal es dapat secara negatif mempengaruhi struktur jaringan. Bagian pemotongan sering lebih tebal dari pemotongan parafin, meningkatkan potensi dan resolusi rendah kualitas gambar yang lebih buruk
Protokol <i>downstream</i>	DNA dan RNA untuk amplifikasi PCR	DNA, RNA, nuklei bebas untuk fluoresensi pada hibridisasi in situ (FISH) atau analisis siklus sel
Perhatian	Durasi dan intensitas pemanasan jaringan harus dipertahankan minimum, seperti suhu pencairan lilin parafin (50-60 C) dapat merusak sehingga mewarnai beberapa antigen	Jaringan harus dibekukan segera untuk mencegah formasi es kristal dan jaringan harus dapat mencapai suhu pemotongan (-20 C) pada kriostat untuk menghindari hancur. Ketika jaringan beku menahan aktivitas enzim, harus diperhatikan untuk memblokir fungsi enzim endogen yang mungkin berpengaruh pada metode deteksi IHC

Panduan memilih fiksatif

Antigen	Fiksatif
Sebagian besar protein, peptida, dan enzim dengan berat molekul rendah	Persiapan sel/sitologi: Formaldehid 4% Potongan jaringan: 10% formalin buffer-netral (NBF)
Jaringan halus	Fiksatif Boun
Molekul kecil seperti asam amino	Formaldehid 4%
Organ pembentuk darah (hati, limfa, sumsum tulang)	Larutan zenker
Jaringan ikat	Larutan Helly
Asam nukleat	Larutan Camoy
Antigen protein besar (imunoglobulin)	Aseton dingin atau methanol (100%)
Morfologi nuklear	Formalin zink
Mikroskop elektrik	Formaldehid 4%- Glutaraldehid 1%

Panduan Pelarut dan Deterjen

	Pelarut	Keterangan
Pelarut	Aseton Metanol	Fiksasi aseton akan membuat permeabel Fiksasi metanol dapat digunakan untuk membuat permeabel tetapi tidak selalu efektif
Deterjen	Triton TM X-100 atau NP-40	Digunakan 0.1 - 0.2 % pada PBS selama hanya 10 menit
	Tween 20, saponin, digitonin, dan Leucoperm	Digunakan 0.2 -0.5 % selama 10-30 menit

Immunostaining atau imunodeteksi tergantung pada spesifisitas antibodi yang digunakan. Antibodi dideteksi baik secara langsung melalui tabel yang secara langsung dikonjugasikan terhadap antibodi primer, ataupun secara tidak langsung, menggunakan antibodi sekunder yang telah diberi label yang melawan spesies penjamu.³⁵

2.6.1 Penilaian Imunohistokimia⁴⁰

a. Penilaian hasil pewarnaan dinilai berdasarkan intensitas pewarnaan. Hasil pewarnaan diberi kriteria sbb:

0 = Negatif (bila tidak tertampil warna coklat)

1 = Positif 1 (bila jaringan terwarnai lemah)

2 = Positif 2 (bila jaringan terwarnai sedang)

3 =Positif 3 (bila jaringan terwarnai kuat)

b. Luas pewarnaan imunohistokimia dengan skor sebagai berikut:

0 = bila tidak tertampil warna coklat atau hanya < 10% sel tumor yang tertampil

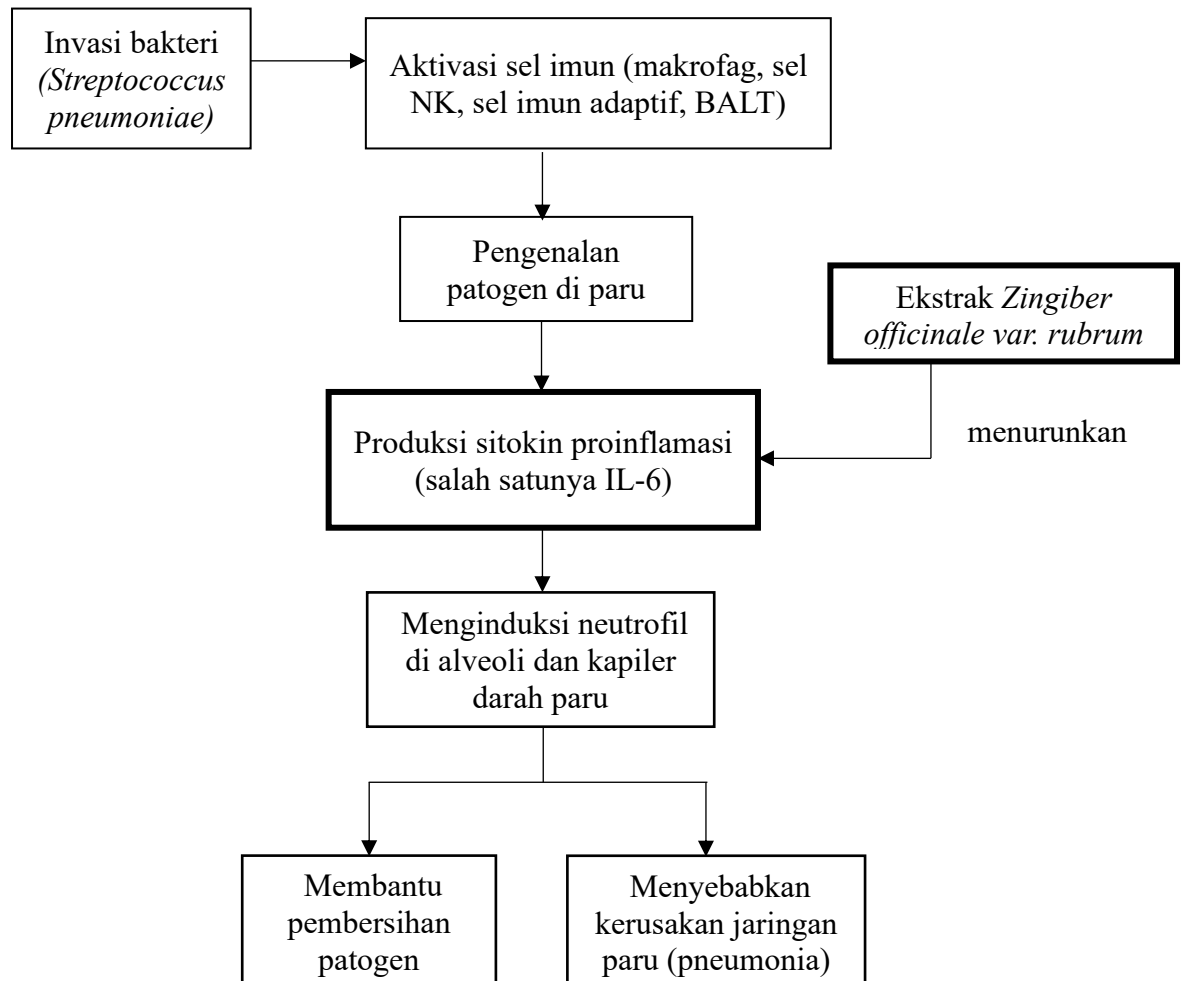
1 = 10 – 25% sel-sel tumor tertampil positif

2 = 25 – 50% sel-sel tumor tertampil positif

3 = > 50% sel-sel tumor tertampil positif

Hasil pewarnaan dinilai dari perkalian intensitas pewarnaan dengan persentase luas tampilan.

2.7. Kerangka Teori



Gambar 2.5 Bagan kerangka teori

2.8. Kerangka Konsep



Gambar 2.6 Bagan kerangka konsep

Pada bagan kerangka konsep dapat dilihat bahwa variabel bebas (independen) adalah ekstrak *Zingiber officinale* var. *rubrum*, variabel tergantung (dependen) adalah sitokin IL-6.

2.9. Hipotesis

Pemberian ekstrak *Zingiber officinale* var. *rubrum* memiliki pengaruh terhadap penurunan ekspresi sitokin proinflamasi IL-6 pada pneumonia yang dipicu oleh *Streptococcus pneumonia* pada hewan coba *Rattus norvegicus*.

BAB 3
METODE PENELITIAN

3.1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Skala Ukur	Hasil Ukur
Ekstrak <i>Zingiber officinale</i> var. <i>rubrum</i>	Tanaman dari famili <i>Zingiberaceae</i> , yang tumbuh di wilayah Medan dan merupakan tanaman yang mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder dan memiliki efek anti inflamasi. Didapatkan dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% sampai mendapatkan ekstrak etanol kental.	Gelas ukur dan pipet tetes	Ordinal	Dihasilkan ekstrak etanol dari <i>Zingiber officinale</i> var. <i>rubrum</i> . Diberikan dengan dosis sebesar 400 mg/kgBB/hari.
Kadar IL-6	Salah satu sitokin yang dilepaskan sebagai respon inflamasi dimana IL-6 terlibat dalam pathogenesis dan patofisiologi pneumonia.	Metode IHC yang diamati di bawah mikroskop	Rasio	Penilaian hasil pewarnaan dinilai dari perkalian intensitas pewarnaan dengan presentase luas tampilan

3.2. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian analitik dengan desain penelitian eksperimental. Rancangan penelitian ini digunakan untuk mengukur pengaruh intervensi terhadap kelompok perlakuan (eksperimen) dengan cara membandingkannya dengan kelompok kontrol. Melalui perbandingan tersebut, peneliti dapat menilai tingkat atau besarnya perubahan yang terjadi akibat perlakuan. Seluruh subjek dalam kedua kelompok menerima perlakuan secara serempak, dan pengamatan dilakukan setelah intervensi dengan menggunakan desain *posttest-only control group design*, yang menilai hasil tanpa melakukan pengukuran awal (*pretest*).³⁶

3.3. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Sumatera Utara, mulai dari proses aklimatisasi, pemberian perlakuan dan pengambilan sampel hewan coba. Kemudian penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, untuk pemeriksaan ekspresi sitokin proinflamasi IL-6 menggunakan metode *immunohistochemistry (IHC)*. Setelah memperoleh persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Hewan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Sumatera Utara (*Animal Research Ethics Committees/AREC*), penelitian dilaksanakan selama 7 bulan, yaitu mulai Bulan September 2024 sampai dengan Maret 2025.

3.4. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian adalah tikus *Rattus norvegicus* galur wistar dengan berat badan 200-250 gram dan umur 6-8 minggu. Sampel yang digunakan adalah tikus dalam kondisi sehat dan aktif. Pemilihan menggunakan tikus ini berdasarkan kemiripan genetik terhadap manusia, dan adaptasi pada lingkungan sekitar.

Penelitian berlangsung dengan prosedur perlakuan hewan secara benar ditinjau dari prinsip 3R (*Reduction, Replacement, Refinement*), serta prinsip 5F (*Freedom of Hunger and Thirst, Freedom from Discomfort, Freedom from Pain, Injury or Disease, Freedom to Express Normal Behaviour, Freedom from Fear and*

Distress) dan diberlakukan kriteria putus uji apabila subjek penelitian mengalami sakit atau kematian sehingga tidak bisa memenuhi prosedur penelitian.³⁷

3.4.1. Besar Sampel Penelitian

Sampel merupakan bagian dari populasi yang dipilih melalui cara tertentu sehingga dianggap dapat mewakili populasinya.³⁶ Adapun penentuan besar sampel ditentukan berdasarkan formula Federer, dengan perhitungan sebagai berikut:³⁸

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

Keterangan :

n = Besar sampel

t = Jumlah perlakuan = 5 kelompok

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

$$(n-1) \geq 15/4$$

$$n \geq 3,75+1 \rightarrow 5 \text{ sampel}$$

Dengan menggunakan rumus didapatkan jumlah sampel untuk kelompok eksperimental dan kontrol masing-masing minimal 5 sampel dan pada penelitian ini masing-masing kelompok terdiri dari 6 sampel. Jumlah kelompok perlakuan sebanyak 5 kelompok, sehingga jumlah seluruh sampel sebanyak 30 ekor.

3.4.2. Pembagian Kelompok Hewan Coba

Berdasarkan studi sebelumnya yang mengamati bagaimana peran ekstrak *Zingiber officinale var rubrum* terhadap pneumonia pada tikus yang diinokulasi dengan *Streptococcus pneumoniae*. Oleh karena itu, teknik atau cara pengambilan subjek penelitian kali ini membentuk 5 kelompok tikus, yaitu :

1. Kelompok 1, kontrol negatif, yaitu pada hewan coba *Rattus norvegicus* yang sehat.
2. Kelompok 2, kontrol positif yaitu pada hewan coba *Rattus norvegicus* dengan pneumonia yang dipicu oleh *Streptococcus pneumoniae*.
3. Kelompok 3, kontrol positif yaitu tikus yang dilakukan inokulasi bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada hari pertama diberikan ekstrak *Zingiber officinale var rubrum* dengan dosis 400 mg/kgBB selama 7 hari.

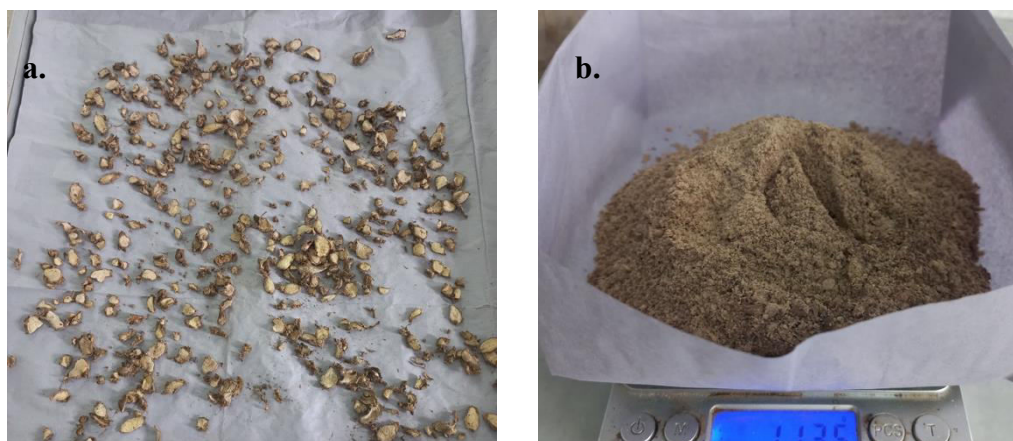
4. Kelompok 4, kelompok perlakuan yaitu tikus yang dilakukan inokulasi bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada hari pertama dan diberikan azitromisin dengan dosis 11 mg/ kg BB selama 7 hari.
5. Kelompok 4, kelompok perlakuan yaitu tikus yang dilakukan inokulasi bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada hari pertama dan diberikan azitromisin dengan dosis 11 mg/ kg BB ditambah ekstrak *Zingiber officinale var. rubrum* pada dosis 400 mg selama 7 hari.

3.5. Metode Pengumpulan Data

3.5.1. Proses Pembuatan Ekstrak Ethanol *Zingiber Officinale var. rubrum*

3.5.1.1. Preparasi Sampel Jahe Merah (*Zingiber officinale var. rubrum*)

Sampel yang akan digunakan adalah sampel kering jahe merah yang ditanam di Medan. Selama proses pengeringan terdapat perubahan warna, tekstur dan berat. Rimpang jahe merah segar berwarna kuning pada bagian tengahnya dan berwarna merah di tepiannya. Setelah proses penjemuran, terjadi perubahan warna menjadi coklat, serta perubahan tekstur menjadi keras dan kaku sehingga dapat dipatahkan dengan tangan. Perubahan warna tersebut disebabkan oleh terjadinya foto-oksidasi pada rimpang jahe merah, sedangkan perubahan tekstur dan berat disebabkan rimpang jahe merah yang kehilangan beberapa persen kandungan airnya. Dari 500 gram jahe merah segar yang digunakan, diperoleh 21 gram ekstrak kental.³⁹



Gambar 3.1 a) Jahe merah yang telah dikeringkan. b) Simplisia jahe merah yang telah dihaluskan.

3.5.1.2. Ekstraksi Oleoresin Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*)

Dalam proses ekstraksi ada beberapa faktor yang mempengaruhi hasilnya, yaitu: pelarut (kepolaran, toksisitas, konsentrasi) dan interaksi sampel dengan pelarut (luas permukaan bidang sentuh, suhu, waktu, pengadukan, pengulangan), pemisahan pelarut dengan ekstrak yang dihasilkan.³⁹

Metode maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi sederhana yang menggunakan pelarut pada suhu ruang untuk menarik senyawa aktif dari bahan herbal. Berikut langkah-langkah ekstraksi jahe merah menggunakan metode maserasi:

a. Persiapan Bahan

Penelitian ini menggunakan rimpang jahe merah segar (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) sebagai bahan baku utama. Rimpang jahe dicuci terlebih dahulu dengan air mengalir hingga bersih dari kotoran dan kontaminan. Selanjutnya, jahe dipotong kecil-kecil atau diparut untuk memperluas permukaan bahan, guna meningkatkan efisiensi proses ekstraksi. Potongan jahe kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu rendah (40–50°C) hingga mencapai kadar air yang sesuai untuk proses selanjutnya.



Gambar 3.2 a) Proses pencucian jahe merah. b) Proses pemotongan jahe merah.

b. Pemilihan dan Penambahan Pelarut

Proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70%, karena pelarut ini efektif dalam mengekstraksi senyawa-senyawa bioaktif seperti gingerol, shogaol, dan flavonoid secara optimal. Rasio antara bahan dan pelarut yang digunakan berkisar antara 1:10; sebagai contoh, sebanyak 100 gram serbuk jahe diekstraksi dengan menggunakan 1 hingga 2 liter pelarut etanol 70%.

c. Proses Maserasi

1. Perendaman

Serbuk jahe merah dimasukkan ke dalam wadah ekstraksi berupa Erlenmeyer, kemudian ditambahkan pelarut etanol 70% hingga seluruh serbuk terendam secara merata. Wadah kemudian ditutup rapat guna mencegah terjadinya penguapan pelarut selama proses maserasi berlangsung.

2. Pengadukan

Campuran diekstraksi dengan cara diaduk secara berkala setiap beberapa jam guna mempercepat difusi senyawa aktif dari bahan ke dalam pelarut. Proses maserasi dilakukan selama 24 hingga 72 jam pada suhu ruang, bergantung pada jenis dan karakteristik senyawa target yang diinginkan secara optimal.

3. Filtrasi

Setelah proses maserasi selesai, campuran disaring menggunakan kertas saring atau kain muslin untuk memisahkan residu padat dari filtrat. Untuk memperoleh filtrat yang lebih jernih dan bebas partikel, proses penyaringan dilanjutkan menggunakan alat vacuum filter.

d. Penguapan Pelarut

Filtrat hasil maserasi kemudian dikentalakan melalui proses penguapan pelarut. Penguapan dilakukan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40–50°C untuk menjaga kestabilan senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak.

e. Penyimpanan Ekstrak

Ekstrak kental yang diperoleh disimpan dalam botol kaca berwarna gelap guna mencegah degradasi senyawa aktif akibat paparan cahaya. Selanjutnya,

ekstrak disimpan pada suhu 4°C di dalam lemari pendingin untuk menjaga stabilitas dan kualitasnya selama penyimpanan.

3.5.2. Cara Inokulasi *Streptococcus pneumoniae* pada *Rattus norvegicus*

Seluruh tahapan penanganan bakteri dilakukan di dalam *biosafety cabinet* kelas II dengan mengikuti prosedur *Biosafety Level 2* (BSL-2). Peneliti menggunakan alat pelindung diri (APD) lengkap, meliputi jas laboratorium lengan panjang, sarung tangan sekali pakai, masker N95 atau respirator setara, pelindung wajah (*face shield*) atau kacamata pelindung, serta penutup kepala. Seluruh peralatan yang kontak dengan bakteri dibuang ke wadah limbah infeksius yang diberi desinfektan klorin 0,5–1% sebelum autoklaf. Area kerja dibersihkan dengan desinfektan sebelum dan sesudah prosedur. Cuci tangan dengan sabun dan air mengalir atau *hand rub* berbasis alkohol segera setelah melepas sarung tangan. Bakteri *Streptococcus pneumoniae* yang diisolasi diinokulasi dalam kaldu nutrisi steril (pada suhu 37°C selama 48 jam). Kaldu nutrisi segar yang steril diinokulasi dengan loop penuh kultur *Streptococcus pneumoniae* yang ditumbuhkan pada pelat agar dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 17-18 jam.³⁶

Pengacakan hewan coba dilakukan oleh asisten laboratorium secara independen, dan peneliti tidak mengetahui kriteria atau dasar pengacakan yang digunakan. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok: kelompok 1 mewakili kontrol negatif, yaitu tikus yang sehat. Kelompok 2 adalah kontrol positif, yaitu tikus yang diinokulasi dengan bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Kelompok 3, 4, dan 5 diinokulasi *Streptococcus pneumoniae* secara intratrakeal, 10⁵ CFU / mL, pada kelompok 3 diberikan ekstrak *Zingiber officinale var. rubrum* dosis 400 mg/kg BB/hari selama 7 hari, kelompok 4 diberikan azitromisin dengan dosis 11 mg/kgBB/hari selama 7 hari, dan kelompok 5 diberikan azitromisin dengan dosis 11 mg/kgBB/hari ditambah ekstrak *Zingiber officinale var. rubrum* dosis 400 mg/kg BB/hari selama 7 hari.²⁸

3.5.3. Cara Pemeriksaan Sitokin dan Penegakkan Diagnosis Pneumonia dengan Imunohistokimia (IHC)

Tikus percobaan dieuthanasia menggunakan ketamin dan dilanjutkan dengan pemeriksaan histopatologis. Setelah terbuka rongga thoraks, paru diinsisi dan diambil jaringannya kemudian difiksasi dalam netral buffer formalin 10% (1:10 v/v). Pembuatan preparat histopatologi dilakukan dengan cara fiksasi dengan menggunakan larutan netral buffer formalin 10% kemudian dipotong dan dimasukkan ke dalam tempat spesimen yang terbuat dari plastik. Selanjutnya dilakukan proses dehidrasi pada alkohol konsentrasi bertingkat yaitu alkohol 70%, 80%, 90% alkohol absolute I, absolute II masing-masing 2 jam. Lalu dilakukan penjernihan dengan xylol kemudian dicetak menggunakan parafin sehingga sediaan tercetak di dalam blok parafin dan disimpan dalam lemari es. Blok parafin tersebut kemudian dipotong tipis setebal 5-6 μm menggunakan mikrotom. Hasil pemotongan diapungkan dalam air hangat bersuhu 60⁰ C untuk meregangkan agar jaringan tidak berlipat. Perubahan histopatologis diamati di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x oleh ahli patologi yang sudah berpengalaman dibidangnya selama enam belas tahun. Parameter yang dinilai yaitu ekspresi IL-

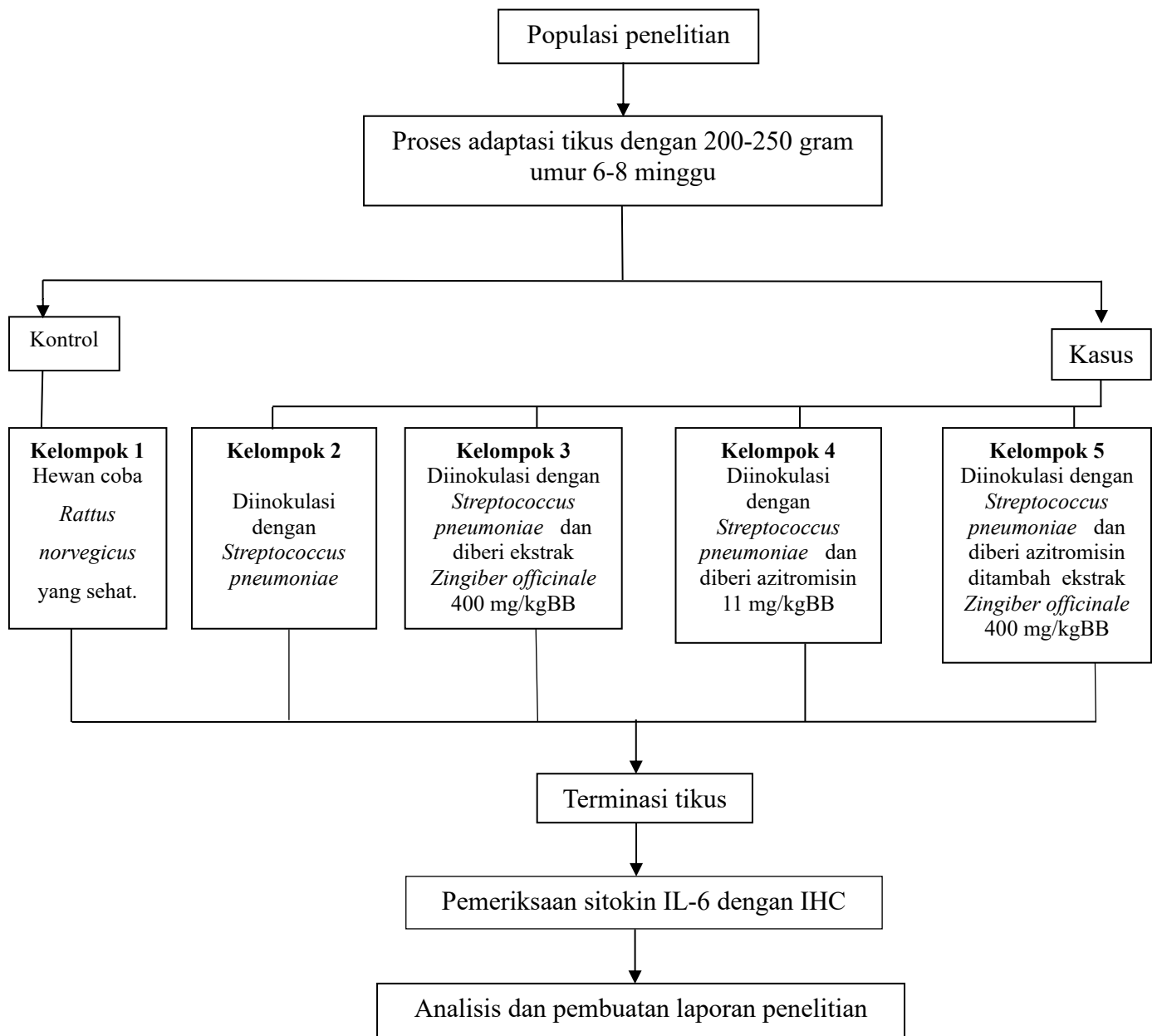
6.3.6. Metode Analisis Data

Penelitian ini membandingkan 5 kelompok, yaitu kelompok yang sehat, kelompok yang diinokulasi dengan *Streptococcus pneumoniae* tanpa diberikan diberikan ekstrak etanol *Zingiber officinale var. rubrum* maupun azitromisin, kelompok yang diinokulasi dengan *S. pneumoniae* dan diberi ekstrak ethanol *Zingiber officinale var. rubrum* dalam dosis 400 mg/kgBB/hari dibagi dua dosis, kelompok yang diberikan antibiotik azitromisin, dan kelompok yang diberikan antibiotik azitromisin ditambah ekstrak ethanol *Zingiber officinale var. rubrum* dengan dosis 400 mg/kgBB/hari dibagi dua dosis. Parameter yang dibandingkan adalah jumlah kadar IL-6 pada jaringan tikus yang diinokulasi *Streptococcus pneumoniae* dengan kelompok kontrol. Data yang diperoleh diolah dan dianalisis dengan menggunakan uji Kruskal - Wallis karena data tidak terdistribusi normal. Analisis data didapat dengan menggunakan IBM SPSS *Statistics* versi 29.0.2.0.

3.7. Etika Penelitian

Sebelum pengambilan data peneliti telah membuat lembar penjelasan yang jujur tentang tujuan, manfaat dan prosedur penelitian. Lembar penjelasan ini selanjutnya akan ditelaah oleh Komite Etik Penelitian, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Sumatera Utara dan akan dimintakan persetujuan dari Komite Etik. Persetujuan etik penelitian telah didapatkan dari Fakultas MIPA (No.0624/KEPH-FMIPA/2024). Data-data dari penelitian akan dirahasiakan dan hanya digunakan untuk kepentingan penelitian saja. Selama penelitian, pembiayaan ditanggung sebagian oleh hibah RISETMU dan sebagian lainnya ditanggung oleh peneliti.

3.8. Alur Penelitian



Gambar 3.3 Alur penelitian

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

4.1.1. Karakteristik Demografi

Penelitian ini menggunakan 35 ekor *Rattus norvegicus* jantan, galur Wistar dengan usia 6-8 minggu dan berat badan antara 200-250 gram. Seluruh hewan coba dalam kondisi sehat dan diperoleh dari Laboratorium Terpadu Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara. Hewan ditempatkan dalam kandang standar dengan suhu ruang 22–25°C, pencahayaan 12 jam terang–gelap, serta diberi pakan dan minum ad libitum. Selama proses aklimatisasi terdapat 5 ekor yang mati sehingga tersisa 30 ekor hewan coba.

Selanjutnya, hewan coba dibagi secara acak ke dalam 5 kelompok perlakuan masing-masing terdiri dari 6 ekor, yaitu kelompok kontrol serta kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak *Zingiber officinale var rubrum*, perlakuan dengan pemberian antibiotik dan kelompok yang diberikan keduanya. Selama proses inokulasi bakteri dan perlakuan tidak terdapat hewan coba yang mati. Selanjutnya semua hewan coba diambil jaringan parunya untuk diperiksa kadar sitokin IL 6 dengan menggunakan imunohistokimia.

4.1.2. Pengaruh ekstrak *Zingiber officinale var. rubrum* terhadap IL-6 pada hewan coba *Rattus norvegicus* yang dipicu oleh *Streptococcus pneumoniae*

Hasil uji ekstrak *Zingiber officinale var. rubrum* pada hewan coba *Rattus norvegicus* yang dipicu oleh *Streptococcus pneumoniae* dengan menganalisis ekspresi IL-6.

Tabel 4.1. Statistik deskriptif pada setiap kelompok

Kelompok	Mean	Median	SD	Nilai p
K1	0.00	0.00	0.00	
K2	5.33	6.00	1.03	
K3	5.33	6.00	1.03	0.001
K4	0.00	0.00	0.00	
K5	0.00	0.00	0.00	

Analisis deskriptif menunjukkan bahwa K1, K4, dan K5 memiliki nilai rata-rata (mean) 0.00 dengan median 0.00 serta standar deviasi (SD) 0.00. Sementara itu, K2 memiliki nilai mean sebesar 5.33 dengan median 6.00 dan SD 1.03. Hasil serupa juga ditunjukkan pada K3, yaitu mean sebesar 5.33 dengan median 6.00 serta SD 1.03. Adapapun nilai *p-value* yang didapatkan 0.001, yang menunjukkan bahwa perbedaan antara kelompok signifikan secara statistik ($p < 0.05$).

4.1.2. Perbedaan Ekspresi IL-6 antar kelompok

Tabel 4.1.2 Perbedaan ekspresi IL-6 antar kelompok

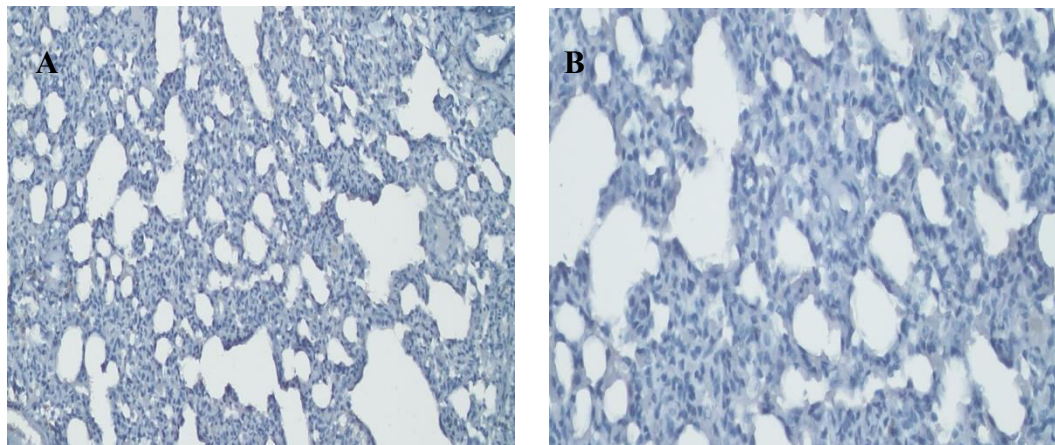
Kelompok percobaan	Mean Rank	p-value	
K1	K2	3.50 vs 9.50	0.002
	K3	3.50 vs 9.50	0.002
	K4	6.50 vs 6.50	1.000
	K5	6.50 vs 6.50	1.000
K2	K3	6.50 vs 6.50	1.000
	K4	9.50 vs 3.50	0.002
	K5	9.50 vs 3.50	0.002
K3	K4	9.50 vs 3.50	0.002
K4	K5	6.50 vs 6.50	1.000

Pada tabel 4.1.2 dengan menggunakan uji *Post Hoc* dengan uji *Mann Whitney* menunjukkan hasil yang bermakna pada beberapa pasangan kelompok yang menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0.05$).

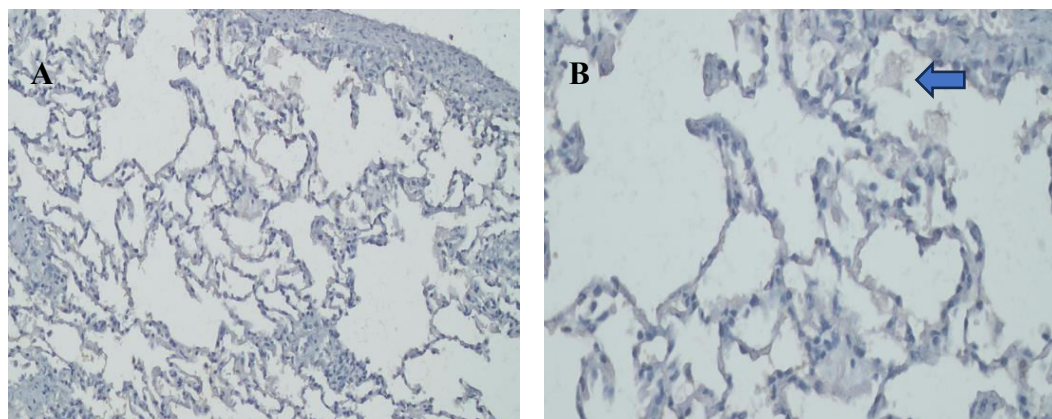
Kelompok K1 menunjukkan perbedaan signifikan dengan kelompok K2 ($p = 0,002$) dan K3 ($p = 0,002$), namun tidak berbeda secara signifikan dengan kelompok K4 dan K5 ($p = 1,000$). Kelompok K2 berbeda secara signifikan dengan kelompok K4 ($p = 0,002$) dan K5 ($p = 0,002$), tetapi tidak berbeda signifikan dengan

kelompok K3 ($p = 1,000$). Begitu pula, kelompok K3 menunjukkan perbedaan bermakna dengan K4 ($p = 0,002$), namun tidak dengan K2 ($p = 1,000$). Sementara itu, kelompok K4 dan K5 tidak menunjukkan perbedaan signifikan ($p = 1,000$).

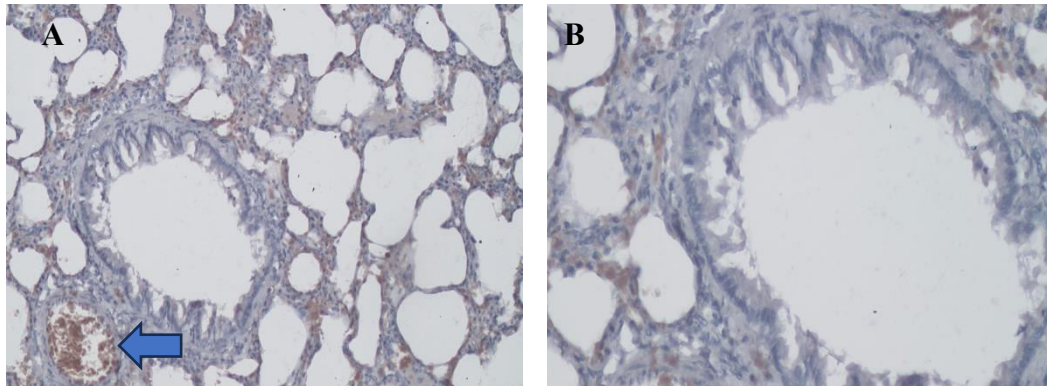
4.2. Ekspresi Sitokin IL-6 pada Jaringan Paru *Rattus norvegicus* Berdasarkan Pemeriksaan Imunohistokimia



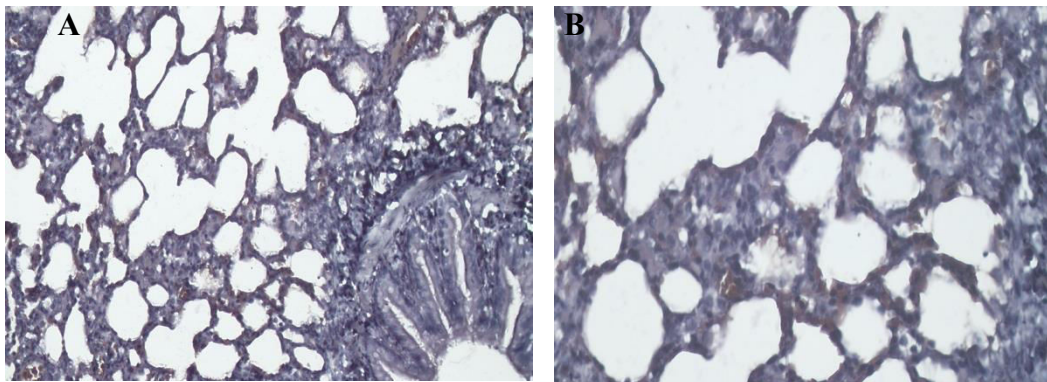
Gambar 4.1a. K1 pembesaran 200x, **4.1b.** K2 pembesaran 400x IL-6 (Observer: 0 (I) x 0 (L) pada sel epitel alveolar.



Gambar 4.2a. K2 pembesaran 200x, **4.2b.** K2 pembesaran 400x IL-6, (Observer: +2 (I) x 75% (L) pada sel epitel alveolar.



Gambar 4.3a. K3, pembesaran 200x **4.3b.** K3 pembesaran 400x (Observer : +2 (I) x 75%(L) pada sel epitel alveolar.



Gambar 4.4a. K3, pembesaran 200x **4.4b** K3 pembesaran 400x (Observer : +2 (I) x 75%(L) pada sel epitel alveolar.

4.2. Pembahasan

Interleukin-6 (IL-6) adalah sitokin proinflamasi yang memainkan peran penting dalam patogenesis pneumonia, dimana peningkatan kadarnya dapat memperburuk inflamasi, mempercepat kerusakan paru, dan meningkatkan mortalitas.⁴³ Hal ini menjadi alasan bahwa penurunan kadarnya diharapkan dapat mengurangi inflamasi maupun mortalitas pada pneumonia. Kadar IL-6 yang tinggi sering ditemukan pada pasien dengan pneumonia berat dan berkorelasi dengan progresivitas penyakit, derajat inflamasi sistemik, serta risiko komplikasi seperti *acute respiratory distress syndrome* (ARDS). Sebuah studi yang dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa kadar IL-6 yang tinggi merupakan prediktor kuat untuk mortalitas pada pneumonia komunitas.⁴⁴

Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *Zingiber officinale* var. *rubrum* yang dikombinasikan dengan azitromisin mampu menurunkan ekspresi IL-6 secara signifikan pada tikus yang diinduksi dengan *Streptococcus pneumoniae*. Hal ini ditunjukkan oleh perbedaan signifikan antara kelompok K2 dengan K5. Penelitian dengan metode *systematic review* dan meta analisis yang dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian ekstrak jahe merah berpengaruh terhadap penurunan beberapa marker pro-inflamasi seperti CRP, TNF- α , dan IL-6.⁴⁵ Studi lain, yang menerapkan suplemen enteral kaya jahe pada pasien dengan *Acute Respiratory Distress Syndrome* (ARDS), menunjukkan penurunan signifikan kadar IL-6, IL-1, dan TNF- α pada hari ke-5 dan ke-10 pengobatan ($p < 0,05$). Temuan ini menandakan bahwa dalam kondisi inflamasi paru akut berat, ekstrak jahe mampu menghambat jalur sitokin sistemik.^{14,58} Literatur terdahulu melaporkan bahwa pemberian serbuk jahe merah bersama kunyit dan temulawak secara signifikan menurunkan kadar IL-6 pada ayam broiler, melalui mekanisme penghambatan ekspresi TLR2.⁴⁶

Penelitian sebelumnya telah mendokumentasikan efek antiinflamasi dari jahe melalui penurunan ekspresi sitokin proinflamasi pada berbagai model penyakit.⁴⁷ Selain itu, studi sebelumnya juga menyatakan bahwa gingerol dapat menurunkan produksi IL-6 dan TNF- α pada model inflamasi sistemik.⁴⁸ Hasil yang serupa juga dilaporkan literatur sebelumnya yang menunjukkan efek protektif jahe terhadap stres oksidatif dan inflamasi pada jaringan paru.⁴⁹ Efek ini memberikan dasar ilmiah untuk pengembangan jahe merah sebagai terapi pendukung dalam manajemen pneumonia, terutama dalam konteks mengurangi dampak inflamasi berlebih yang dapat memperburuk kondisi pasien.⁵⁰

Studi terdahulu menemukan bahwa ekstrak jahe merah memiliki efek signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri penyebab infeksi, yang secara tidak langsung dapat menurunkan respons inflamasi termasuk IL-6. Penelitian tersebut menegaskan potensi jahe merah sebagai terapi tambahan dalam pengobatan pneumonia. Penelitian sebelumnya juga melaporkan bahwa

pemberian ekstrak jahe merah dapat menurunkan kadar IL-6 sebesar 9,93 pg/mL pada pasien dengan pneumonia, menunjukkan efek anti-inflamasi yang nyata.^{61,62}

Sebuah literatur terdahulu menyatakan bahwa pemberian ekstrak jahe secara signifikan menurunkan ekspresi IL-6 dan TNF- α pada model hewan inflamasi sistemik.⁵⁴ Selain itu, studi terdahulu juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol jahe merah efektif menurunkan IL-6 pada model mencit yang diinduksi peradangan menggunakan karagenan.⁵⁵ Mekanisme lain dari ekstrak jahe merah adalah sifat antioksidan kuat yang dapat mengurangi stres oksidatif, faktor yang turut meningkatkan produksi IL-6. Pengurangan kadar IL-6 menunjukkan bahwa jahe merah tidak hanya berpotensi sebagai agen antiinflamasi tetapi juga sebagai kandidat terapi adjuvan pada kondisi penyakit inflamasi seperti pneumonia, ARDS, PPOK, dan penyakit autoimun lainnya.⁵⁶

Jahe merah mengandung senyawa bioaktif seperti gingerol, shogaol, dan paradol, yang diketahui mampu menekan aktivasi jalur nuklir faktor kappa B (NF- κ B), jalur utama dalam ekspresi sitokin proinflamasi seperti IL-6.⁴⁷ Mekanisme ini mendukung penggunaan jahe merah sebagai agen tambahan dalam terapi pneumonia untuk mengurangi peradangan dan mempercepat proses penyembuhan.⁶³

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekspresi IL-6 yang tinggi pada kelompok K2 mengindikasikan adanya respons inflamasi akibat infeksi bakteri. Kelompok K1 sebagai kontrol negatif memiliki ekspresi IL-6 terendah, sesuai dengan kondisi fisiologis normal tanpa inflamasi. Pemberian ekstrak jahe merah saja (K3) belum menunjukkan efektivitas yang signifikan dalam menurunkan ekspresi IL-6, karena tidak terdapat perbedaan bermakna antara K3 dan K2. Hal ini mungkin disebabkan oleh dosis atau lama pemberian ekstrak yang belum cukup untuk menimbulkan efek antiinflamasi yang nyata.

Menariknya, kombinasi antara azitromisin dan jahe merah (K5) tidak memberikan efek tambahan dibandingkan azitromisin saja (K4), karena tidak ditemukan perbedaan bermakna antara keduanya. Ini menunjukkan bahwa jahe

merah belum memberikan efek sinergis terhadap penurunan IL-6 saat diberikan bersama azitromisin, atau bahwa efek antiinflamasi maksimum telah dicapai dengan azitromisin saja.

Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kandungan pada jahe. Proses pengeringan dapat mempengaruhi bioaktivitas jahe. Dalam penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari jahe yang dikeringkan pada suhu 50°C selama 24 jam memiliki bioaktivitas antioksidan dan jumlah fenol tertinggi dibandingkan ekstrak lainnya.⁵¹ Selain itu, metode esktraksi juga dapat mempengaruhi kandungan jahe seperti penelitian yang dilakukan sebelumnya yang menunjukkan perbedaan kandungan fenol total pada metode maserasi dan refluks. Dari penelitian tersebut diketahui bahwa ekstrak etanol dengan cara maserasi mengandung fenol total yang paling tinggi. Pengaruh temperatur terjadi pada kandungan 6-shogaol.⁵² Kandungan 6-shogaol tertinggi didapatkan setelah pengeringan dan proses ekstraksi dengan etanol 95% pada suhu 80°C dibandingkan pada suhu ruang dan suhu 60°C.^{52,53}

Secara kontras, pada beberapa penelitian sebelumnya yang telah dilakukan terhadap manusia, bahwa penurunan kadar IL-6 belum menunjukkan signifikansi statistik, namun penurunan tetap terlihat pada biomarker inflamasi lain seperti TNF- α dan prokalsitonin.⁴¹ Penelitian yang dilakukan sebelumnya pada pasien dengan pneumonia komunitas juga menunjukkan bahwa tidak terjadi penurunan kadar IL-6 pada pemberian ekstrak jahe merah, namun menunjukkan hasil yang signifikan penurunan kadar prokalsitonin.^{44,58} Hasil tersebut sejalan dengan hasil penelitian yang didapatkan.

Temuan lainnya yang dilakukan pada tikus yang diinfeksi bakteri tidak menemukan adanya pengaruh signifikan ekstrak jahe merah terhadap kadar TNF- α maupun serum malondialdehida, yang merupakan indikator inflamasi selain IL-6. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak jahe merah mungkin tidak efektif dalam menurunkan marker inflamasi tertentu pada kondisi infeksi bakteri yang menyebabkan pneumonia.⁶⁴ Selain itu, studi sebelumnya juga melaporkan bahwa pemberian ekstrak jahe merah tidak memberikan pengaruh bermakna

terhadap kadar enzim hati AST dan ALT pada tikus, yang seringkali meningkat sebagai respons inflamasi sistemik. Meskipun bukan langsung mengukur IL-6, hasil ini mengindikasikan bahwa ekstrak jahe merah mungkin tidak memiliki efek anti-inflamasi yang luas pada model hewan dengan kondisi inflamasi berat seperti pneumonia.⁶⁵ Penelitian sebelumnya yang dilakukan pada pasien pneumonia komunitas juga menunjukkan hasil serupa, di mana pemberian ekstrak jahe merah tidak menurunkan kadar IL-6 secara signifikan. Studi ini menambah bukti bahwa efek anti-inflamasi ekstrak jahe merah pada IL-6 mungkin tidak konsisten atau bergantung pada kondisi spesifik model penyakit, dosis, atau durasi pemberian.⁶⁶

Faktor-faktor yang dapat menjelaskan hasil negatif ini antara lain variasi dalam metode ekstraksi, dosis yang digunakan, model hewan atau manusia yang berbeda, serta kompleksitas jalur inflamasi yang melibatkan IL-6. Oleh karena itu, meskipun ada potensi anti-inflamasi dari jahe merah, bukti empiris yang ada menunjukkan bahwa efeknya terhadap penurunan IL-6 pada pneumonia tidak selalu signifikan dan memerlukan penelitian lebih lanjut dengan desain yang lebih ketat dan variabel yang lebih terkontrol.⁶⁶

Hingga saat ini, belum terdapat penelitian spesifik yang mengevaluasi dosis ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) pada tikus galur Wistar dengan pneumonia akibat infeksi *Streptococcus pneumoniae*. Namun, beberapa studi telah meneliti efek antiinflamasi dan antimikroba ekstrak jahe pada model hewan, yang dapat dijadikan acuan untuk estimasi dosis. Meskipun tidak secara langsung meneliti pneumonia akibat *S. pneumoniae*, studi sebelumnya menggunakan ekstrak air jahe dengan dosis 200 dan 400 mg/kg berat badan pada tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi dengan peradangan menggunakan karagenan. Dosis 400 mg/kg menunjukkan penurunan edema yang signifikan, menunjukkan potensi antiinflamasi jahe pada model peradangan akut. Pemberian dosis dapat disesuaikan dengan tujuan penelitian. Untuk efek antiinflamasi akut, pemberian sekali sehari mungkin cukup. Namun, untuk efek yang lebih berkelanjutan atau dalam studi jangka

panjang, pembagian dosis menjadi dua kali sehari dapat dipertimbangkan. Penelitian tersebut yang menjadi acuan dalam penelitian ini dan terbukti secara signifikan bahwa penggunaan dosis 400 mg/kgBB/ hari dapat menurunkan kadar IL-6 pada kelompok perlakuan.⁵⁷

Dari perspektif farmakologi, penggunaan jahe merah sebagai terapi adjuvan dalam pneumonia memiliki prospek menjanjikan, terutama dalam mengurangi beban sitokin dan mempercepat resolusi inflamasi.⁵⁸ Namun, hingga saat ini data dari model hewan spesifik yang mengalami pneumonia akut masih terbatas. Terdapat beberapa keterbatasan dalam studi ini yang perlu dibahas. Ini merupakan uji klinis dengan jumlah sampel yang relatif kecil, sehingga diperlukan uji klinis lanjutan dengan desain *blinding* dan ukuran sampel yang lebih besar. Terakhir, uji klinis ini juga hanya menggunakan satu dosis *Zingiber officinale var. rubrum* (400 mg per hari).^{59,60} Oleh karena itu, diperlukan penelitian lanjutan dengan model pneumonia pada tikus atau hewan besar, yang menilai kadar IL-6 secara langsung di jaringan paru maupun serum, setelah pemberian ekstrak jahe merah dalam dosis terapeutik.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Pemberian azitromisin dengan kombinasi ekstrak *Zingiber officinale* var. *rubrum* dan pemberian azitromisin tunggal mampu menurunkan ekspresi IL-6 secara signifikan pada *Rattus norvegicus* model pneumonia akibat *Streptococcus pneumoniae*.
2. Pemberian ekstrak *Zingiber officinale* var. *rubrum* saja belum cukup efektif dalam menurunkan ekspresi IL-6 secara signifikan dibanding kelompok terinfeksi tanpa terapi.
3. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara pemberian azitromisin tunggal dan kombinasi ekstrak *Zingiber officinale* var. *rubrum* dengan azitromisin, yang menunjukkan bahwa penambahan ekstrak *Zingiber officinale* var. *rubrum* tidak meningkatkan efektivitas azitromisin dalam menurunkan ekspresi IL-6.

5.2. Saran

1. Pentingnya dilakukan penelitian lebih lanjut dengan membuat beberapa perbandingan beberapa dosis pada ekstrak *Zingiber officinale* var. *rubrum*
2. Perlunya dilakukan penelitian lanjutan terhadap marker inflamasi lain
3. Dibutuhkan penelitian tambahan untuk membandingkan efek ekstrak *Zingiber officinale* var. *rubrum* terhadap anti inflamasi lain untuk menilai efektifitas ekstrak *Zingiber officinale* var. *rubrum*.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. *Pneumonia in Children*. 2022 [cited 2025 May 27]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/pneumonia>
2. Cillóniz C, Cardozo C, García-Vidal C. Epidemiology, pathophysiology, and microbiology of community-acquired pneumonia. *Ann Res Hosp*. 2018;2:1. doi:10.21037/arh.2017.12.03
3. Eshwara VK, Mukhopadhyay C, Rello J. Community-acquired bacterial pneumonia in adults: An update. *Indian J Med Res*. 2020;151(4):287–302. doi:10.4103/ijmr.ijmr_1678_19
4. Rendon A, Rendon-Ramirez EJ, Rosas-Taraco AG. Relevant cytokines in the management of community-acquired pneumonia. *Curr Infect Dis Rep*. 2016;18(3):1–9. doi:10.1007/s11908-016-0516-y
5. Regunatvh H, Oba Y. *Community-Acquired Pneumonia* [Internet]. 2024 [cited 2025 May 27]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441924/>
6. Pinargote-Celorio H, Miralles G, Cano M, et al. Cytokine levels predict 30-day mortality in octogenarians and nonagenarians with community-acquired pneumonia: a retrospective observational study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020;39(2):299–307. doi:10.1007/s10096-019-03725-6
7. Jones B, Waterer G. Advances in community-acquired pneumonia. *Ther Adv Infect Dis*. 2020;7:2049936120969607. doi:10.1177/2049936120969607
8. Pletz MW, Blasi F, Chalmers JD, et al. International perspective on the new 2019 ATS/IDSA community-acquired pneumonia guideline: A critical appraisal by a global expert panel. *Chest*. 2020;158(5):1912–8. doi:10.1016/j.chest.2020.07.089
9. Ito A, Ishida T, Tachibana H, Tokumasu H, Yamazaki A, Washio Y. Azithromycin combination therapy for community-acquired pneumonia:

- Propensity score analysis. *Sci Rep.* 2019;9(1):17329. doi:10.1038/s41598-019-54922-4
10. Malarvizhi K, Ramyadevi D, Vedha Hari BN, et al. Mercuric-sulphide based metallopharmaceutical formulation as an alternative therapeutic to combat viral and multidrug-resistant bacterial infections. *Sci Rep.* 2023;13(1):14532. doi:10.1038/s41598-023-43103-z
 11. Sari D, Nasuha A, Sukawana K, Curug K. Kandungan zat gizi, fitokimia, dan aktivitas farmakologis pada jahe (*Zingiber officinale* Rosc.): Review. *Nutrisi dan Teknologi Pangan.* 2021;1:1–10.
 12. Morvaridzadeh M, Sadeghi E, Agah S, et al. Effect of ginger (*Zingiber officinale*) supplementation on oxidative stress parameters: A systematic review and meta-analysis. *J Food Biochem.* 2021;45(2):e13612. doi:10.1111/jfbc.13612
 13. Zhang M, Zhao R, Wang D, et al. Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) and its bioactive components are potential resources for health beneficial agents. *Phytother Res.* 2021;35(2):711–42. doi:10.1002/ptr.6858
 14. Vahdat Shariatpanahi Z, Mokhtari M, Taleban FA, et al. Effect of enteral feeding with ginger extract in acute respiratory distress syndrome. *J Crit Care.* 2013;28(2):217.e1–6. doi:10.1016/j.jcrc.2012.04.017
 15. Perhimpunan Dokter Paru Indonesia. *Pedoman Diagnosis dan Penatalaksanaan Pneumonia di Indonesia.* Jakarta: PDPI; 2020.
 16. Gadsby NJ, Musher DM. The microbial etiology of community-acquired pneumonia in adults: From classical bacteriology to host transcriptional signatures. *Clin Microbiol Rev.* 2022;35(4):e00015–22. doi:10.1128/cmr.00015-22
 17. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. *Keputusan Menteri Kesehatan tentang Pedoman Pengendalian Pneumonia.* Jakarta: Kemenkes RI; 2019.
 18. Lim WS. Pneumonia—Overview. In: Laurent GJ, Shapiro SD, editors. *Encyclopedia of Respiratory Medicine.* 2nd ed. Vol. 4. Elsevier; 2021. p. 185–97. doi:10.1016/B978-0-12-801238-3.11636-8

19. Stephen O, Sain M, Maduh UJ, Jeong DU. An efficient deep learning approach to pneumonia classification in healthcare. *J Healthc Eng.* 2019;2019:4180949. doi:10.1155/2019/4180949
20. Aliberti S, Dela Cruz CS, Amati F, Sotgiu G, Restrepo MI. Seminar: Community-acquired pneumonia. *Lancet.* 2021;398(10303):906–19. doi:10.1016/S0140-6736(21)01718-3
21. Kumar V. Pulmonary innate immune response determines the outcome of inflammation during pneumonia and sepsis-associated acute lung injury. *Front Immunol.* 2020;11:1722. doi:10.3389/fimmu.2020.01722
22. Modi AR, Kovacs CS. Hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: Diagnosis, management, and prevention. *Cleve Clin J Med.* 2020;87(10):633–9. doi:10.3949/CCJM.87A.19117
23. Ticona JH, Zaccone VM, McFarlane IM. Community-acquired pneumonia: A focused review. *Am J Med Case Rep.* 2020;9(1):45–52. doi:10.12691/ajmcr-9-1-12
24. Murdoch DR, Morpeth SC, Hammitt LL, et al. Microscopic analysis and quality assessment of induced sputum from children with pneumonia in the PERCH study. *Clin Infect Dis.* 2017;64(Suppl 3):S271–9. doi:10.1093/cid/cix083
25. Nixson. Penatalaksanaan Keperawatan Pneumonia. In: Bab II Tinjauan Pustaka. 2018. p. 15.
26. Waterer G. What is pneumonia?. *Breathe.* 2021;17(3). doi:10.1183/20734735.0087-2021
27. Miriti DM, Muthini JM, Nyamache AK. Study of bacterial respiratory infections and antimicrobial susceptibility profile among antibiotics naive outpatients visiting Meru Teaching and Referral Hospital, Meru County, Kenya in 2018. *BMC Microbiol.* 2023;23(1). doi:10.1186/s12866-023-02905-x

28. Uciechowski P, Dempke WCM. Interleukin-6: A master player in the cytokine network. *Oncology (Switzerland)*. 2020;98(3):131–7. doi:10.1159/000505099
29. Hirano T. IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer. *Int Immunol*. 2021;33(3):127–48. doi:10.1093/intimm/dxaa078
30. Nascimento-Carvalho EC, Vasconcellos ÂG, Clarêncio J, et al. Evolution of cytokines/chemokines in cases with community-acquired pneumonia and distinct etiologies. *Pediatr Pulmonol*. 2020;55(1):169–76. doi:10.1002/ppul.24533
31. Wijaya IEK. Peranan IL-6, IL-17 darah dan cairan bilasan bronkus terhadap kegagalan ekstubasi dan mortalitas pasien pneumonia berat = The role of IL-6, IL-17 in blood and bronchoalveolar lavage fluid to extubation failure and mortality in severe pneumonia patients [Thesis]. *Universitas Udayana*; [cited 2025].
32. Jasmine J, Purwanto DS, Kaligis SHM. Peran Interleukin-6 sebagai faktor prediktif derajat keparahan COVID-19. *e-Biomedik*. 2022;10(1). doi:10.35790/ebm.v10.i1.38840
33. Yudhawati R, Yuniawati E. Correlation of serum interleukin-6 level and pneumonia severity index score in patients with community-acquired pneumonia. *J Adv Pharm Educ Res*. 2021;11(3):58–62. doi:10.51847/9Vb1tFdXHU
34. Aleem M, Khan MI, Shakshaz FA, Akbari N, Anwar D. Botany, phytochemistry and antimicrobial activity of ginger (*Zingiber officinale*): A review. *Int J Herb Med*. 2020;8(6):36–49. doi:10.22271/flora.2020.v8.i6a.705
35. Zhang S, Kou X, Zhao H, Mak KK, Balijepalli MK, Pichika MR. *Zingiber officinale* var. *rubrum*: Red ginger's medicinal uses. *Molecules*. 2022;27(3). doi:10.3390/molecules27030775

36. Chakotiya AS, Narula A, Sharma RK, Sharma RK. Efficacy of methanol extract of *Zingiber officinale* rhizome against acute pneumonia caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Sci Res Biol Sci*. 2018;2(1).
37. Kausar T, Anwar S, Hanan E, Yaseen M, Aboelnaga SMH, Azad ZRAA. Therapeutic role of ginger (*Zingiber officinale*) – A review. *J Pharm Res Int*. 2021;33(29B):9–16. doi:10.9734/jpri/2021/v33i29b31584
38. Federer WT. Experimental design: Theory and application. Ames: Iowa State University Press; 1955.
39. Sayuti NA, Rusita YD, Farmasi J, et al. Familia Zingiberaceae sebagai imunomodulator dalam taman obat keluarga (TOGA) di Indonesia pada COVID-19: mini review. *J Ilmiah Farmasi*. 2022;2(1)
40. Singhal S, Bhattacharya A, Tiwari V, et al. Immunohistochemical evaluation of molecular markers in tumor samples: A practical guide. *J Clin Pathol*. 2012;65(4):310-316. doi:10.1136/jclinpath-2011-200351.
41. Syaikhu A. Pengaruh ekstrak jahe merah dan deksametason terhadap neutrophil lymphocyte ratio, kadar tumor necrosis factor alpha, interleukin-6, procalcitonin, dan lama rawat inap pasien dengan diagnosis pneumonia komunitas. Surakarta: Universitas Sebelas Maret; 2023.
42. Abcam. Immunohistochemistry application guide. *Cambridge: Abcam plc*; 2017.
43. Andrijevic I, Matijasevic J, Andrijevic L, Kovacevic T, Zaric B. Interleukin-6 and procalcitonin as biomarkers in mortality prediction of hospitalized patients with community acquired pneumonia. *Ann Thorac Med*. 2014;9(3):162–7. doi:10.4103/1817-1737.134072
44. Siahaan S, Putra NP, Sugiri YJ, Al Rasyid H. Kadar prokalsitonin dan interleukin-6 sebagai penanda prognostik pada pasien pneumonia dengan sepsis. *J Kedokteran Brawijaya*. 2019;30(4):6. doi:10.21776/ub.jkb.2019.030.04.6
45. Morvaridzadeh M, Fazelian S, Agah S, Salehi-Sahlabadi A, Shokri A, Fatahi S, et al. Effect of ginger (*Zingiber officinale*) on inflammatory markers: A

- systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Cytokine*. 2020 Nov;135:155224. doi:10.1016/j.cyto.2020.155224.
46. Putri NAS, Herawati D. Pengaruh Potensi Antiinflamasi Penambahan Kombinasi Serbuk Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*), Kunyit (*Curcuma longa* Linn.) dan Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Terhadap Reseptor TLR2 dan Kadar IL-6 pada Ayam Broiler. Malang: Universitas Brawijaya; 2021. Available from: <https://repository.ub.ac.id/id/eprint/187504/>
 47. Mashhadi NS, Ghiasvand R, Askari G, Hariri M, Darvishi L, Mofid MR. Anti-oxidative and anti-inflammatory effects of ginger in health and physical activity: review of current evidence. *Int J Prev Med*. 2013 Apr;4 (Suppl 1): S36–S42.
 48. Tripathi S, Maier KG, Bruch D, Kittur DS. Effect of 6-gingerol on pro-inflammatory cytokine production and costimulatory molecule expression in murine peritoneal macrophages. *J Surg Res*. 2007 Mar;138(2):209–13.
 49. Liang N, Sang Y, Liu W, Wang X. Effects of gingerol on production of TNF- α , IL-1 β , and IL-6 in RAW 264.7 cells. *Biomed Res*. 2018;29(20):3734–3738.
 50. Zhang Y, Liu Y, Wang X, Li J, Wang Y, Zhang Y, et al. Protective effect of 8-Gingerol, a potent constituent of ginger, on hemorrhagic shock-induced acute lung injury in rats. *J Ethnopharmacol*. 2023;305:116073.
 51. Andriyani et al. (2015). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol jahe kering dengan waktu pengeringan selama 24 jam menghasilkan nilai antioksidan sebesar 5.75 $\mu\text{g/ml}$. *Digital Repository Universitas Jember*.
 52. Sharif MF, Bennett MT. The effect of different methods and solvents on the extraction of polyphenols in ginger (*Zingiber officinale*). *Jurnal Teknologi*. 2016;78(6):11–16.
 53. Kim M, Kim Y, Choi H, Lee H, Lee J. Optimization of Extraction Conditions for the 6-Shogaol-rich Extract from Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Preventive Nutrition and Food Science*. 2013;18(2):115–121.

54. Saidi H, Ghoddusi A, Zahedi Khorasani M, Hashemzadeh MS. Ginger extract suppresses inflammatory response and enhances barrier function in Caco-2 cells exposed to inflammatory stimuli. *Cell J (Yakhteh)*. 2017;19(2):229–236.
55. Nurrohman NH, Muflikhati I, Puspita ID. Aktivitas ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) terhadap kadar Interleukin-6 serum mencit model inflamasi akut. *Jurnal Penelitian Sains*. 2021;24(1):1–9.
56. Kim M, Kim Y, Choi H, Lee H, Lee J. Optimization of extraction conditions for the 6-shogaol-rich extract from ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Prev Nutr Food Sci*. 2013;18(2):115–121.
57. Hassan S, George M, Koshy AS. Anti-inflammatory effect of *Zingiber officinale* on Sprague Dawley rats. *Asian J Pharm Clin Res*. 2017;10(3):190–192. Available from: <https://www.innovareacademics.in/journals/index.php/ajpcr/article/view/16251>
58. Reviono R, Hapsari BDA, Sutanto YS, Adhiputri A, Harsini, Suryawati B, et al. Effectiveness of *Zingiber officinale* to reduce inflammation markers and the length of stay of patients with community-acquired pneumonia: An open-label clinical trial. *Narra J*. 2023;3(1):e142. doi:10.52225/narra.v3i1.142.
59. Megasari NP, Fatimawali, Bodhi W. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* Rosc. var. *rubrum*) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* isolat sputum penderita bronkitis secara in vivo. *Pharmacon*. 2015;4(3):104–109. doi:10.35799/pha.4.2015.8847.
60. Maufiroh SA. Studi in silico senyawa (6)-gingerol jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) terhadap protein CpsB pada *Streptococcus pneumoniae*. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh Nopember; 2021.
61. Dewi S, Hartono D, Kusuma I. The antibacterial effect of red ginger (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) extract on bacterial inhibition zones. *J Med Plants Res*. 2019;13(5):245-252. Available from: repository.unissula.ac.id

62. Prasetyo H, Wibowo S, Santoso B. Activity of red ginger extract (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) against interleukin-6 in experimental models. *ResGate J.* 2023;15(3):210-220.
63. Ali B, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): a review. *Phytother Res.* 2023;37(4):1234-1245. Available from: [pmc.ncbi.nlm.nih.gov](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov)
64. Rahayu S, Wulandari D, Prasetyo A. Pengaruh pemberian ekstrak jahe merah terhadap kadar TNF- α dan serum malondialdehida pada tikus yang diinfeksi bakteri. Universitas Islam Sultan Agung; 2021. Available from: repository.unissula.ac.id
65. Santoso B, Nugroho A, Wibowo S. Pengaruh ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var *rubrum*) terhadap kadar AST dan ALT darah tikus. *Medico J.* 2022;7(2):123-130. Available from: ejournal3.undip.ac.id
66. Wulandari P, Setiawan A, Pratama R. Pengaruh ekstrak jahe merah dan deksametason terhadap neutrophil-lymphocyte ratio, kadar tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6, procalcitonin, dan lama rawat inap pasien dengan diagnosis pneumonia komunitas. *Digilib Uns.* 2023;1(1):45-58. Available from: digilib.uns.ac.id

LAMPIRAN

Hasil SPSS

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil Perkalian	1	.	6	.	.	6	.
	2	.407	6	.002	.640	6	.001
	3	.407	6	.002	.640	6	.001
	4	.	6	.	.	6	.
	5	.	6	.	.	6	.

a. Lilliefors Significance Correction

Descriptives

	Kelompok		Statistic	Std. Error		
Hasil Perkalian	1	Mean	.00	.000		
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	.00		
			Upper Bound	.00		
		5% Trimmed Mean	.00			
		Median	.00			
		Variance	.000			
		Std. Deviation	.000			
		Minimum	0			
		Maximum	0			
		Range	0			
		Interquartile Range	0			
		Skewness	.	.		
		Kurtosis	.	.		
		2	2	Mean	5.33	.422
				95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	4.25
Upper Bound	6.42					
5% Trimmed Mean	5.37					
Median	6.00					
Variance	1.067					
Std. Deviation	1.033					
Minimum	4					
Maximum	6					
Range	2					
Interquartile Range	2					
Skewness	-.968			.845		
Kurtosis	-1.875			1.741		
3	3			Mean	5.33	.422

	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	4.25	
		Upper Bound	6.42	
	5% Trimmed Mean		5.37	
	Median		6.00	
	Variance		1.067	
	Std. Deviation		1.033	
	Minimum		4	
	Maximum		6	
	Range		2	
	Interquartile Range		2	
	Skewness		-.968	.845
	Kurtosis		-1.875	1.741
4	Mean		.00	.000
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	.00	
		Upper Bound	.00	
	5% Trimmed Mean		.00	
	Median		.00	
	Variance		.000	
	Std. Deviation		.000	
	Minimum		0	
	Maximum		0	
	Range		0	
	Interquartile Range		0	
	Skewness		.	.
	Kurtosis		.	.
5	Mean		.00	.000
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	.00	
		Upper Bound	.00	
	5% Trimmed Mean		.00	
	Median		.00	
	Variance		.000	
	Std. Deviation		.000	
	Minimum		0	
	Maximum		0	
	Range		0	
	Interquartile Range		0	
	Skewness		.	.
	Kurtosis		.	.

NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	
Hasil Perkalian	1	6	9.50	
	2	6	24.50	
	3	6	24.50	
	4	6	9.50	
	5	6	9.50	
	Total		30	

Test Statistics^{a,b}

Hasil Perkalian	
Kruskal-Wallis H	27.378
df	4
Asymp. Sig.	<.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
Kelompok

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil Perkalian	1	6	3.50	21.00
	2	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics^a

Hasil Perkalian	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-3.146
Asymp. Sig. (2-tailed)	.002
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil Perkalian	1	6	3.50	21.00
	3	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Hasil Perkalian
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-3.146
Asymp. Sig. (2-tailed)	.002
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil Perkalian	1	6	6.50	39.00
	4	6	6.50	39.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Hasil Perkalian
Mann-Whitney U	18.000
Wilcoxon W	39.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil Perkalian	2	6	6.50	39.00
	3	6	6.50	39.00
	Total	12		

Test Statistics^a

Hasil Perkalian	
Mann-Whitney U	18.000
Wilcoxon W	39.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil Perkalian	1	6	6.50	39.00
	5	6	6.50	39.00
	Total	12		

Test Statistics^a

Hasil Perkalian	
Mann-Whitney U	18.000
Wilcoxon W	39.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil Perkalian	2	6	9.50	57.00
	4	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics^a

Hasil Perkalian	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-3.146
Asymp. Sig. (2-tailed)	.002
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil Perkalian	2	6	9.50	57.00
	5	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Hasil Perkalian
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-3.146
Asymp. Sig. (2-tailed)	.002
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil Perkalian	3	6	9.50	57.00
	4	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Hasil Perkalian
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-3.146
Asymp. Sig. (2-tailed)	.002
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil Perkalian	4	6	6.50	39.00
	5	6	6.50	39.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Hasil Perkalian
Mann-Whitney U	18.000
Wilcoxon W	39.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^b

- a. Grouping Variable: Kelompok
 b. Not corrected for ties.



UMSU
Unggul | Cerdas | Terpercaya

Bila menjawab surat ini ager disebutkan nomor dan tanggalnya

MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PENELITIAN & PENGEMBANGAN PIMPINAN PUSAT MUHAMMADIYAH
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
FAKULTAS KEDOKTERAN

UMSU Terakreditasi A Berdasarkan Keputusan Badan Akreditasi Nasional Perguruan Tinggi No. 89/SK/BAN-PT/Akred/PT/III/2019

Jl. Gedung Arca No. 53 Medan, 20217 Telp. (061) - 7350163, 7333162, Fax. (061) - 7363488

<https://fk.umsu.ac.id> fk@umsu.ac.id

[f umsumedan](#)

[i umsumedan](#)

[t umsumedan](#)

[u umsumedan](#)

Nomor : 392/II.3.AU/UMSU-08/F/2025
Lampiran : -
Perihal : **Permohonan Izin Penelitian**

Medan, 11 Sya'ban 1446 H
10 Februari 2025 M

Kepada Yth.
Laboratorium Patologi Anatomi
Fakultas Kedokteran USU
di-
Tempat

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Dengan hormat, dalam rangka penyusunan Tesis mahasiswa magister ilmu biomedis Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara (FK UMSU) Medan, maka kami mohon bantuan Bapak/Ibu untuk memberikan informasi, data dan fasilitas seperlunya kepada mahasiswa kami yang akan mengadakan penelitian sebagai berikut :

Nama : **Karina**
NPM : **2208330005**
Judul Penelitian : **Pengaruh Ekstrak *Zingiber officinale var. rubrum* terhadap Sitokin IL-6 pada Hewan Coba *Rattus norvegicus* dengan Pneumonia yang Dipicu oleh *Streptococcus pneumoniae***

Demikianlah hal ini kami sampaikan, atas kerjasama yang baik kami ucapkan terima kasih. Semoga amal kebaikan kita diridhai oleh Allah SWT. Amin.

Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh



Dekan,

dr. Siti Mashana Siregar, Sp.THT-KL(K)
NIDN. 0106098201

Tembusan Yth :
1. Wakil Dekan I,II FK UMSU
2. Ad hoc KTI FK UMSU
3. Peringgal





KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI
 UNIVERSITAS SUMATERA UTARA
 FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
Komite Etik Penelitian Hewan FMIPA USU
(Animal Research Ethics Committees/AREC)
 Jln. Bioteknologi No. 1 Kampus USU Telp. (061) 814290 - Fax (61) 814290
M E D A N

No. 0624/KEPH-FMIPA/2024

REKOMENDASI PERSETUJUAN ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Yang bertanda tangan di bawah ini, Ketua Komite Etik Penelitian Hewan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam - Universitas Sumatera Utara (*Animal Research Ethics Committees/AREC*) setelah dilaksanakan pembahasan dan penilaian dengan ini memutuskan protokol penelitian yang berjudul:

Pengaruh Ekstrak *Zingiber officinale* var. *Rubrum* Terhadap Sitokin IL-6 Pada Hewan Coba *Rattus norvegicus* Dengan Pneumonia Yang Dipicu Oleh *Streptococcus pneumoniae*,

menggunakan relawan sebagai subjek penelitian, dengan Ketua Pelaksana/Peneliti Utama **Karina** dari Program Studi Magister Ilmu Biomedis, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, Medan

Dapat disetujui pelaksanaannya setelah dipertimbangkan relevansinya terhadap kesehatan manusia yang berpedoman pada prinsip-prinsip penelitian pada relawan secara etis untuk penelitian kesehatan yang menggunakan subjek relawan.

Medan, 23 Juli 2024

Ketua
 Komite Etik Penelitian Hewan FMIPA USU
 (Animal Research Ethics Committees/AREC)



Prof.Dr. Syafruddin Ilyas, M.Biomed.
 NIP. 196602091992031003