

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Inflamasi merupakan sistem imunitas tubuh ketika mengalami induksi yang berbahaya seperti patogen, sel-sel rusak, ataupun senyawa beracun. Inflamasi terjadi karena terbentuknya mediator yaitu COX-2 yang dilepaskan ke matriks ekstraseluler sehingga hal tersebut dapat menstimulasi sel-sel imunitas lainnya (Choy and Panayi, 2001). Inflamasi ditandai dengan adanya kalor (demam), dolor (nyeri), rubor (kemerahan), tumor (pembengkakan), dan *functio laesa* (beberapa bagian tubuh yang terdampak kehilangan fungsinya). Sistem imunitas dikategorikan menjadi spesifik (*adaptive*) atau bawaan (*innate*) berdasarkan kecepatan dan spesifisitasnya (Parkin and Cohen, 2001). Obat yang digunakan untuk inflamasi memiliki 2 tujuan yaitu yang pertama untuk mengurangi tanda gejala inflamasi dan yang kedua untuk memperlambat atau mengurangi pada proses kerusakan. Obat antiinflamasi secara umum dibagi menjadi yaitu golongan steroid dan juga golongan non-steroid.

Obat Anti Inflamasi Non Steroid (OAINS) adalah obat yang secara farmakologi digunakan sangat luas yaitu untuk pengobatan analgesik, antiinflamasi dan antipiretik. OAINS memiliki mekanisme kerja yaitu dengan menghambat sintesis mediator inflamasi yaitu prostaglandin dengan menghambat pada kerja enzim siklooksigenase dimana jalur tersebut diketahui merupakan jalur konversi asam arakidonat menjadi prostaglandin dan tromboksan (Vane, 1996). Obat yang cukup terkenal dalam kelompok OAINS adalah Asam Asetilsalisilat (AAS) atau yang dikenal dengan nama Aspirin.

AAS termasuk ke dalam obat kelompok OAINS dengan kerja menghambat pada siklus siklooksigenase (COX) secara non-selektif dengan durasi kerja 4 jam dan diserap dengan baik secara oral (Neal, 2016). Mekanisme kerja AAS yang non-selektif menyebabkan prostaglandin yang diproduksi untuk perlindungan terhadap lapisan mukosa lambung menjadi terganggu sehingga yang terjadi adalah kerusakan mukosa lambung (Musumba *et al.*, 2009). Selain AAS, Celecoxib juga akan digunakan sebagai pembanding karena memiliki mekanisme kerja menghambat secara selektif COX-2 sehingga menurunkan kerusakan saluran pencernaan dibandingkan dengan AAS (Simon *et al.*, 1999). Selain itu penggunaan celecoxib pada penelitian ini ingin membuktikan apakah ada pengaruh COX-2 terhadap respon imunologis CD3CD4 dan CD3CD8.

Efek samping yang tidak dikehendaki tersebut menjadi dasar para peneliti Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya melakukan sintesis senyawa turunan dari AAS yaitu asam 2-(3-(klorometil)benzoiloksi)benzoat (3-CH₂Cl). Sintesis senyawa 3-CH₂Cl dilakukan dengan cara mereaksikan asam salisilat dan 3-klorometilbenzoil klorida dalam labu erlenmeyer. Setelah itu memasukkan sejumlah piridin dan memanaskan dalam *microwave*. Melakukan rekristalisasi dengan pelarut etanol dan air (1:1) dan melakukan uji endapan dengan menggunakan FeCl₃ untuk melihat adanya asam salisilat dalam campuran tersebut. 3-CH₂Cl disintesis dengan cara memodifikasi struktur asam salisilat yaitu dengan melakukan substitusi berupa gugus 3-klorometilbenzoil klorida pada gugus fenolik (Caroline *et al.*, 2019). Senyawa ini memiliki sifat yang lebih non polar dibandingkan senyawa AAS yang membuat senyawa ini memiliki lipofilisitas tinggi sehingga mudah dan optimal untuk berinteraksi dengan reseptor (Tamayanti dkk., 2016).

Sistem imunitas tubuh terbagi menjadi sistem imunitas spesifik (*adaptive*) dan bawaan (*innate*), termasuk sel limfosit dan makrofag. Sel imunitas diproduksi pada organ utama yaitu timus dan sumsum tulang namun juga ditemukan di jaringan limfoid sekunder seperti kelenjar getah bening, limpa, amandel, dan jaringan lainnya (Parkin and Cohen, 2001). Aktivasi sistem imunitas ini terjadi adanya ikatan antigen dengan reseptor spesifik sel T dan sel B. Sel T limfosit merupakan sistem imun spesifik yang dikenal juga sebagai sel CD3. Sel T limfosit akan berikatan dengan reseptor $\alpha\beta$ lalu berdiferensiasi menjadi CD4 dan CD8. CD4 berkontribusi dalam imunitas seluler, humoral, dan mengurangi respon inflamasi (MacIver *et al.*, 2012). CD8 akan berdiferensiasi untuk melawan patogen dan humor intraseluler yang dikenal juga sebagai sel sitotoksik. Diketahui bahwa senyawa AAS dapat meningkatkan ekspresi Foxp3 pada sel CD3^{pos}CD8^{pos}CD25^{pos} dan CD3^{pos}CD4^{pos}CD25^{pos} limfosit-T sehingga dapat menjadi sel T regulator (Gregorczyk and Maslanka, 2019). Diketahui bahwa peningkatan sel T regulator dapat menekan proliferasi dari sel T CD4 sehingga memiliki efek sebagai immunosupresan yang menjadi keuntungan dalam pencegahan penyakit autoimun (Javeed *et al.*, 2009). 3-CH₂Cl diketahui menunjukkan potensi sebagai obat analgesik dan antiinflamasi namun hingga saat ini belum ditemukan adanya pengaruh 3-CH₂Cl terhadap sistem imunitas CD3CD4 dan CD3CD8.

Permasalahan yang timbul bahwa AAS sebagai derivat salisilat yang memiliki keuntungan efek immunosupresan namun juga memiliki kerugian yaitu dapat menyebabkan ulserasi pada saluran pencernaan, maka dari penelitian ini diharapkan 3-CH₂Cl memiliki potensi terhadap sistem imunitas yaitu CD3CD4 dan CD3CD8 dengan efek samping yang minimum. Pada penelitian ini akan menggunakan hewan coba mencit jantan dengan galur Swiss Webster dengan usia yang seragam, lalu dilakukan induksi senyawa

lipopolisakarida dilakukan secara intraperitoneal lalu diberikan senyawa obat uji dengan melalui sonde selama 2 hari. Metode *fluorescence-activated cell sorters* (FACS) digunakan untuk melihat populasi sel yang telah dipreparasi dan diberi pewarnaan antibodi sehingga hasil yang didapatkan berupa populasi sel yang berfluoresensi. Pengecekan menggunakan alat *BD FACS Calibur* (BD Biosciences, San Jose, US) dan pengolahan data menggunakan program *Flowing Software 2TM*. Populasi sel yang dapat dilihat pada alat ini sebanyak 10.000 sel akan dialirkan menggunakan cairan dan dideteksi dalam waktu kurang dari 1 menit (Holmes *et al.*, 2001).

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian senyawa asam 2-(3-(klorometil)benzoioksi)benzoat dosis 60 mg/KgBB dapat mempengaruhi rasio dan jumlah absolut sel limfosit-T CD3CD4 dengan metode *Fluorescence-Activated Cell Sorting* (FACS) saat diinduksi lipopolisakarida dibandingkan dengan mencit normal?
2. Apakah pemberian senyawa asam 2-(3-(klorometil)benzoioksi)benzoat dosis 60 mg/KgBB dapat mempengaruhi rasio dan jumlah absolut sel limfosit-T CD3CD8 dengan metode *Fluorescence-Activated Cell Sorting* (FACS) saat diinduksi lipopolisakarida dibandingkan dengan mencit normal?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh pemberian senyawa asam 2-(3-(klorometil)benzoioksi)benzoat dosis 60 mg/KgBB terhadap rasio dan jumlah absolut sel limfosit-T CD3CD4 dengan metode *Fluorescence-Activated Cell Sorting* (FACS) saat diinduksi lipopolisakarida dibandingkan dengan mencit normal

2. Mengetahui pengaruh pemberian senyawa asam 2-(3-(klorometil)benzoiloksi)benzoat dosis 60 mg/KgBB terhadap rasio dan jumlah absolut sel limfosit-T CD3CD8 dengan metode *Fluorescence-Activated Cell Sorting* (FACS) saat diinduksi lipopolisakarida dibandingkan dengan mencit normal

1.4 Hipotesis Penelitian

1. Senyawa asam 2-(3-(klorometil)benzoiloksi)benzoat pada pemberian dosis 60 mg/KgBB saat diinduksi lipopolisakarida dapat meningkatkan jumlah absolut sel limfosit-T CD3CD4 dibandingkan dengan mencit normal namun tidak memiliki pengaruh jika dibandingkan dengan mencit inflamasi. Selain itu, senyawa asam 2-(3-(klorometil)benzoiloksi)benzoat tidak berpengaruh terhadap rasio sel limfosit-T CD3CD4 jika dibandingkan dengan mencit normal namun dapat menurunkan jika dibandingkan dengan mencit inflamasi.
2. Senyawa asam 2-(3-(klorometil)benzoiloksi)benzoat pada pemberian dosis 60 mg/KgBB saat diinduksi lipopolisakarida dapat menurunkan jumlah absolut sel limfosit-T CD3CD8 dibandingkan dengan mencit normal dan mencit inflamasi. Selain itu, senyawa asam 2-(3-(klorometil)benzoiloksi)benzoat tidak berpengaruh terhadap rasio sel limfosit-T CD3CD4 jika dibandingkan dengan mencit normal namun dapat menurunkan jika dibandingkan dengan mencit inflamasi.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Dari hasil penelitian ini, diharapkan dapat menjadi calon obat baru pengganti senyawa turunan salisilat sebagai immunosupresan dalam

menurunkan rasio sel limfosit-T CD3CD4 dan sel limfosit-T CD3CD8 dengan efek samping yang minimal.