

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. MEKANISME PERTAHANAN TUBUH

Manusia mempunyai beberapa mekanisme pertahanan tubuh untuk melindungi diri dari kerusakan jaringan dan infeksi. Garis pertahanan pertama adalah *natural* atau *innate barrier*, terletak di seluruh permukaan tubuh, yang berfungsi untuk mencegah kerusakan karena substansi yang berasal dari lingkungan maupun menghalangi infeksi dari mikroorganisme patogen. Pertahanan tubuh yang termasuk dalam *natural barrier* adalah barrier anatomi (kulit, membran mukosa), sel dan molekul sekretorik atau sitokin (lisosom, pH lambung yang rendah, urin) dan aktivitas silia (Trask, *et.al.*, 2006).

Ketika barrier pertama tidak mampu mengatasi substansi yang menyebabkan kerusakan jaringan baik diluar maupun yang akan masuk kedalam tubuh, maka mekanisme pertahanan tubuh kedua, yaitu respon inflamasi, akan diaktifkan untuk melindungi tubuh dari kerusakan jaringan lebih lanjut, mencegah infeksi pada jaringan yang terluka dan menghilangkan faktor penyebab (Trask, *et.al.*, 2006).

Mekanisme pertahanan tubuh ketiga yaitu *adaptive immunity* atau imunitas daptan merupakan proses yang relatif lebih lambat dan lebih spesifik. Pada imunitas daptan terdapat peran sel B yang menghasilkan immunoglobulin dan sel T memori yang akan memberikan respon lebih cepat

ketika terjadi paparan mikroorganisme yang sama di kemudian hari (Trask, *et.al.*, 2006).

Untuk lebih jelas mengenai ketiga mekanisme pertahanan tubuh manusia, dapat dilihat pada tabel 1 berikut:

Tabel 1. Mekanisme Pertahanan Tubuh Manusia (Trask, *et.al.*, 2006)

KARAKTERISTIK	<i>Innate Immunity</i>		Imunitas Didapat
	Barrier	Response Inflamasi	
Tingkat pertahanan	Garis prtahanan pertama	Garis pertahanan kedua	Garis pertahanan ketiga
Waktu	Konstan	Respon segera	Terdapat jarak diantara paparan dengan antigen dan respon maksimum
Spesifitas	Luas	Luas	Respon spesifik terhadap antigen tertentu
Reseptor	-	-	Reseptor sel T dan sel B
Sel	Sel epitel	Sel mast, granulosit, monosit/ makrofag, sel NK, platelet, sel endotel	Limfosit T, limfosit B, makrofag, sel dendritik
System memori	Tidak ada	Tidak ada	Spesifik memori dari limfosit T dan B
Peptida	Defensins, katelicidin, laktoferin, toksin bakteri	Komplement, faktor pembekuan, kinin	Komplement, antibodi
Sitokin dan kemokin	Sedikit	Banyak (TNF, IL, GF, CSFs, Ifs, PAF) kemokin (CC dan CXC)	Banyak (TNF, IL, GF, CSFs, Ifs, PAF) kemokin (CC dan CXC)
Perlindungan	Barier anatomi (kulit, membran mukosa), sel dan molekul sekretorik atau sitokin (lisosom, pH lambung yang rendah, urin), dan aktivitas silia	Respon vaskular, komponen sel (sel mast, neutrophil, makrofag), molekul sekretori atau sitokin, dan aktivasi sistem protein plasma	Aktivasi sel limfosit T dan B, mediator kimiawi, dan memori

B. INFLAMASI

Inflamasi merupakan respon protektif setempat yang ditimbulkan oleh cedera atau kerusakan jaringan yang berfungsi menghancurkan, mengurangi, dan mengurung (sekuester), baik agen pencedera maupun jaringan yang cedera (DORLAND, 2000).

Inflamasi dibagi menjadi dua yaitu inflamasi akut yang berlangsung singkat, beberapa menit sampai hari dan mempunyai karakteristik eksudasi cairan dan protein plasma dengan predominan akumulasi leukosit netrofil. Inflamasi kronik berdurasi lebih lama, berlangsung beberapa hari sampai tahun dan mempunyai ciri khas akumulasi limfosit dan makrofag dengan proliferasi vaskular dan jaringan parut (Mitchell & Cotran, 2003).

1. Inflamasi Akut

Inflamasi akut ditandai dengan tanda klasik inflamasi yaitu, nyeri, merah (kolor), rubor (panas), tumor dan hilangnya fungsi sel maupun jaringan (fungsiolesa). Secara histologis, inflamasi akut menyangkut kejadian dilatasi arteriol, kapiler, venula, disertai peningkatan permeabilitas pembuluh darah, eksudasi cairan termasuk protein plasma dan migrasi leukositik ke dalam fokus peradangan (Trask, *et.al.*, 2006; Mitchell & Cotran, 2003).

Respon inflamasi akut merupakan *self limiting* atau suatu proses yang dapat sembuh sendiri, berlangsung hanya sampai ancaman pada *host* dapat dihilangkan, biasanya 8 sampai 10 hari. Respon ini dimulai segera setelah terjadi luka atau infeksi, meliputi respon vaskular, aktivasi sistem protein

plasma dan aktivasi dari berbagai macam sel, termasuk mediator inflamasi dan produk sel (Trask, *et.al.*, 2006),

a. Respon Vaskular

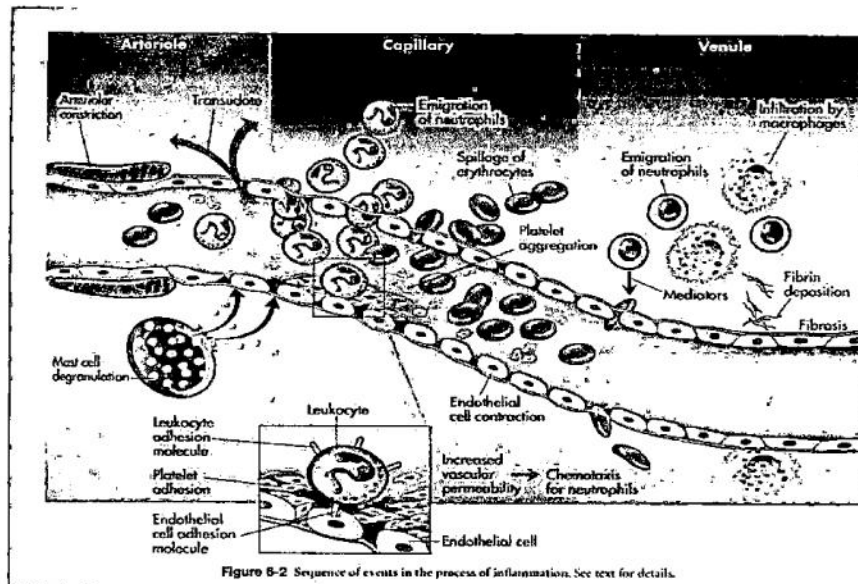


Figure 8-2 Sequence of events in the process of inflammation. See text for details.

Gambar 1. Efek inflamasi tingkat vaskular (Trask, *et.al.*, 2006)

Seperti yang terlihat dalam gambar 1 bahwa efek inflamasi pada tingkat vaskular adalah arteriol yang dekat dengan lokasi inflamasi mengalami kontriksi kemudian terjadi vasodilatasi pada fokus inflamasi. Vasodilatasi ini menyebabkan perlambatan kecepatan aliran darah dan peningkatan aliran darah lokal pada fokus inflamasi. Peningkatan aliran darah dan permeabilitas kapiler memicu terjadinya kebocoran plasma dari pembuluh darah sehingga menimbulkan udem pada lokasi infeksi (Trask, *et.al.*, 2006; Mitchell & Cotran, 2003),

Darah mikrosirkulasi mengalir semakin lambat dan menjadi lebih pekat karena plasma bergerak meninggalkan pembuluh darah menuju jaringan

setempat. Peningkatan aliran darah dan konsentrasi sel darah merah pada lokasi inflamasi menyebabkan lokasi tersebut hangat dan merah. Pada saat yang bersamaan, mediator biokimia (contoh: histamin, bradikinin, leukotrien, substansi P, prostaglandin) menstimulasi sel endotel yang membatasi kapiler dan venula untuk saling menarik diri sehingga menghasilkan jarak pada hubungan antar sel. Hal ini menyebabkan leukosit dan plasma untuk masuk kedalam jaringan (Trask, *et.al.*, 2006; Mitchell & Cotran, 2003).

b. Aktivasi Sistem Protein Plasma

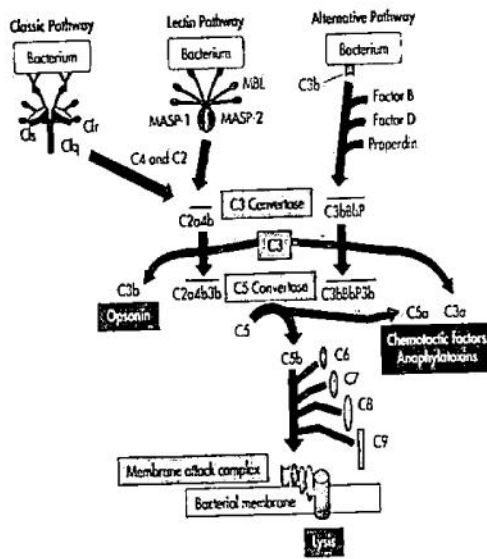
Respon inflamasi termasuk aktivasi 3 sistem protein plasma yaitu sistem komplemen, sistem pembekuan dan sistem kinin. Ketiga mekanisme tersebut melibatkan peran enzim tidak aktif (proenzim) yang kemudian diinisiasi menjadi enzim aktif untuk menghasilkan produk yang berfungsi sebagai mediator biokimia pada respon inflamasi (Trask, *et.al.*, 2006; Mitchell & Cotran, 2003).

(1) Sistem Komplemen

Sistem komplemen terdiri dari beberapa protein plasma yaitu komponen komplemen. Sistem komponen dibedakan menjadi 3 mekanisme, yaitu jalur klasik, jalur lektin dan jalur alternatif.

Pada jalur klasik seperti yang terlihat dalam gambar 2, dimulai dengan adanya ikatan antigen (Ag) dan antibodi (Ab). Ikatan Ag-Ab ini mengaktifkan C1 yang merupakan komponen plasma dari jalur klasik. C1 adalah kompleks makromolekular yang terdiri dari Cq, C1r, dan C1s. Cq yang aktif akan menstimulasi C1r yang dekat dengan C1s sehingga C1s aktif kemudian

berubah menjadi *C1 esterase*. Enzim *C1 esterase* dengan adanya substrat berupa C4 dan C2 akan menghasilkan C3. C3 dengan adanya *C3 convertase* akan diubah menjadi C3b (berfungsi untuk opsonisasi) dan C3a (sebagai faktor kemotaktik, anafilatoksin). C3 kemudian mengaktifkan C5 yang selanjutnya C5 mengaktifkan C6, C7, C8 dan C9 yang berfungsi melisiskan dinding bakteri (Trask, *et.al.*, 2006; Mitchell & Cotran, 2003).



Gambar 2. Aktivasi sistem protein plasma (Trask, *et.al.*, 2006)

Pada jalur alternatif diinisiasi oleh endotoksin polisakarida bakteri dan *zymozam* yaitu karbohidrat dari sel dinding jamur yang mengaktifkan C3b, kemudian C3b yang bekerja sama dengan faktor B, D dan properdin sehingga mengaktifkan C5, selanjutnya mekanisme C5 sama seperti pada jalur klasik dalam melisiskan bakteri (Trask, *et.al.*, 2006; Mitchell & Cotran, 2003).

Pada jalur lektin dimulai dengan pengaktifan protein plasma yaitu *Mannose Binding Lectin* (MBL) yang serupa dengan C1 dan terikat LPS bakteri yang terdapat karbohidrat mannose. MBL berhubungan dengan (MASP-1 dan MASP-2) yang akan mengaktifkan C3. Ketiga jalur tersebut akan mengaktifkan C5 yang kemudian akan berubah menjadi C6, C7, C8, dan C9. Komponen C5 melalui kelompok C9 membentuk *Membrane Attack Kompleks* (MAC) yang menghasilkan pori di membran sel bakteri sehingga mengizinkan masuknya air dan ion ke dalam sel sehingga menyebabkan lisis sel (Trask, *et.al.*, 2006; Mitchell & Cotran, 2003).

(2) Sistem Pembekuan

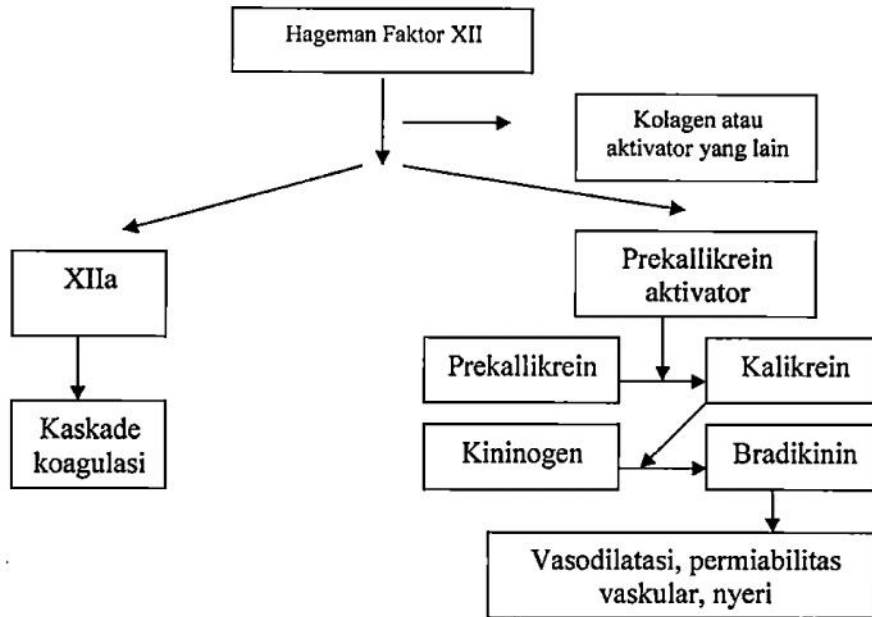
Sistem pembekuan adalah sekelompok protein plasma yang membentuk benang-benang fibrin pada tempat luka maupun infeksi. Tujuan sistem pembekuan diantaranya untuk mencegah penyebaran infeksi disekitar jaringan, menjaga agar mikroorganisme dan benda-benda asing tetap pada lokasi paparan infeksi, membentuk gumpalan untuk menghentikan pendarahan, menyediakan rencana kerja dalam penyembuhan selanjutnya.

(3) Sistem Kinin

Sistem kinin berfungsi sebagai penjebak patogen yang menyerang. Kinin utama adalah bradikinin yang bekerja bersama prostaglandin yang menyebabkan kontraksi sel otot polos, peningkatan permeabilitas vaskular dan peningkatan kemotaksis leukosit.

Skema 1 menjelaskan bahwa Hageman faktor XII yang terbentuk dari sistem pembekuan, dengan adanya kolagen ataupun aktivator yang lain, dapat

mengaktifkan *prekallirein aktivator* untuk mengubah prekallirein menjadi kallikrein kemudian mengubah kinninogen menjadi bradikinin yang berfungsi sebagai vasodilatasi, permeabilitas vaskular dan menyebabkan nyeri (Trask, *et.al.*, 2006; Mitchell & Cotran, 2003).



Skema 1. Sistem kinin (Trask, *et.al.*, 2006)

c. Aktivasi dari Berbagai Macam Sel (Mediator Inflamasi)

Komponen seluler respon inflamasi utama terdiri dari granulosit dan monosit. Granulosit terdiri dari neutrofil, eosinofil dan basofil yang dibedakan dari pigmen dalam granulanya. Komponen seluler lainnya termasuk platelet, monosit agranular dan berbagai bentuk dari limfosit (Trask, *et.al.*, 2006; Mitchell & Cotran, 2003).

(1) Sel Mast

Sel mast merupakan sel utama dalam proses inflamasi. Sebagian besar sel mast ditemukan dikulit, saluran cerna dan saluran pernafasan. Penyebab dari aktivasi sel mast adalah:

- (a) Luka fisik, meliputi panas, trauma mekanik, sinar UV dan X-ray.
- (b) Agen kimia, meliputi toksin, bisa ular, enzim proteolitik dan peptida antimikroba.
- (c) Anafilatoksin yang terbentuk akibat imun dapatan.
- (d) Aktivasi reseptor dari bakteri dan virus.

Mediator biokimia yang terdapat pada granula sel mast termasuk histamin, faktor kemotaktik (*Neutrophil Chemotactic Factor*), *Eosinophil Chemotactic Factor A* (ECF-A) dan sitokin *Tumor Necrosis Factor α* (TNF- α), Interleukin-4 (IL-4) dikeluarkan setelah beberapa detik untuk merespon terhadap stimulus.

Histamin merupakan amonia vasoaktif penyebab konstriksi cepat pembuluh darah dan dilatasi *venula post kapiler*, yang mengakibatkan peningkatan aliran darah ke mikrosirkulasi. Histamin juga meningkatkan permeabilitas vaskular yang menyebabkan tarik-menarik sel endotel yang membatasi kapiler.

Aktivasi sel mast memulai sintesis baru dari mediator inflamasi yang lain, termasuk turunan dari membran lipid plasma, sitokin (TNF- α , interleukin) dan faktor yang menstimulasi sel pertumbuhan dan angiogenesis. Leukotriens, prostaglandin dan *platelet activating factor* merupakan hasil

turunan lipid yang disintesis selama pengaktifasian sel mast (Trask, *et.al.*, 2006; Mitchell & Cotran, 2003).

(2) Leukotriens

Leukotrien bersifat asam, menghasilkan substrat yang berefek seperti histamin yaitu kontraksi otot polos, peningkatan permeabilitas vaskular dan kemotaksis kuat terhadap neutrofil dan eosinofil. Respon leukotrien dalam menstimulasi inflamasi lebih lambat daripada histamin (Trask, *et.al.*, 2006; Mitchell & Cotran, 2003).

(3) Prostaglandin

Prostaglandin merupakan asam lemak rantai panjang yang dihasilkan oleh aksi dari enzim siklooksigenase. Prostaglandin diklasifikasikan menjadi beberapa kelompok yaitu E, D, A, F dan B bergantung dari strukturnya. PGE₂ dapat menyebabkan peningkatan permeabilitas vaskular, kontraksi otot polos dan juga menghambat beberapa aspek dari inflamasi. Hambatan tersebut diantaranya dengan menghambat pengeluaran histamin dari sel mast dan enzim lisosomal neutrofil, suatu enzim yang berperan dalam membunuh dan memakan mikroorganisme (Trask, *et.al.*, 2006; Mitchell & Cotran, 2003).

(4) *Platelet activating factors*

PAF merupakan turunan lipid yang diproduksi oleh pemindahan asam lemak dari membran fosfolipid fosfatidilkolin oleh fosfolipase A₂. Meskipun sel mast merupakan sumber utama dari PAF, molekul ini dapat diproduksi oleh neutrofil, monosit, sel endotel dan platelet. PAF berfungsi menyebabkan retraksi sel endotel untuk peningkatan permeabilitas vaskular, adhesi leukosit

sel endotel dan platelet aktivasi (Trask, *et.al.*, 2006; Mitchell & Cotran, 2003).

(5) Neutrofil

Polimorfonuklear dalam jumlah yang paling besar di tubuh yaitu 50–70%. Neutrofil mempunyai nukleus multilobus, muncul 6 sampai 12 jam setelah inisiasi injuri, tidak bertahan lama (kemampuan hidup selama 3 hari) kemudian mati menjadi salah satu komponen eksudat purulen (pus) yang dikeluarkan melalui sel endotel atau sistem limfatik.

Neutrofil mempunyai enzim hidrolitik pada granulanya dan terdiri dari neutrofil immatur (nukleus berbentuk batang) dan neutrofil matur (nukleus berbentuk segmen). Neutrofil merupakan komponen granulosit dan fagosit utama yang dipicu faktor inflamasi dan komplemen (Crimando, 2005).

(6) Monosit

Monosit berukuran 10 – 40 μm dengan nukleus seperti sepatu kuda, diproduksi di sumsum tulang, masuk ke sirkulasi, migrasi ke jaringan peradangan dan perkembangan menjadi makrofag. Monosit terdapat dalam tubuh sekitar 2-8% dan bertahan hidup selama 8-12 hari (Crimando, 2005).

(7) Makrofag

Makrofag lebih aktif dalam fagosit dan memerlukan waktu yang lama sampai ke fokus peradangan karena membutuhkan faktor kemotaktik untuk menariknya, contohnya neutrofil.

(8) Eosinofil

Eosinofil merupakan sistem fagosit yang lebih ringan yaitu membantu regulasi mediator vaskular yang dilepaskan sel mast. Eosinofil terdapat sekitar 2-4% dan merupakan proteksi terhadap infeksi cacing dan berperan dalam reaksi hipersensitivitas (Crimando, 2005).

(9) Sel Natural Killer

Sel Nk berfungsi dalam mengatasi virus dan sel kanker. Sel Nk yang aktif mempengaruhi produksi sitokin (Crimando, 2005).

d. Aktivasi dari Berbagai Macam Sel (Produk Sel)

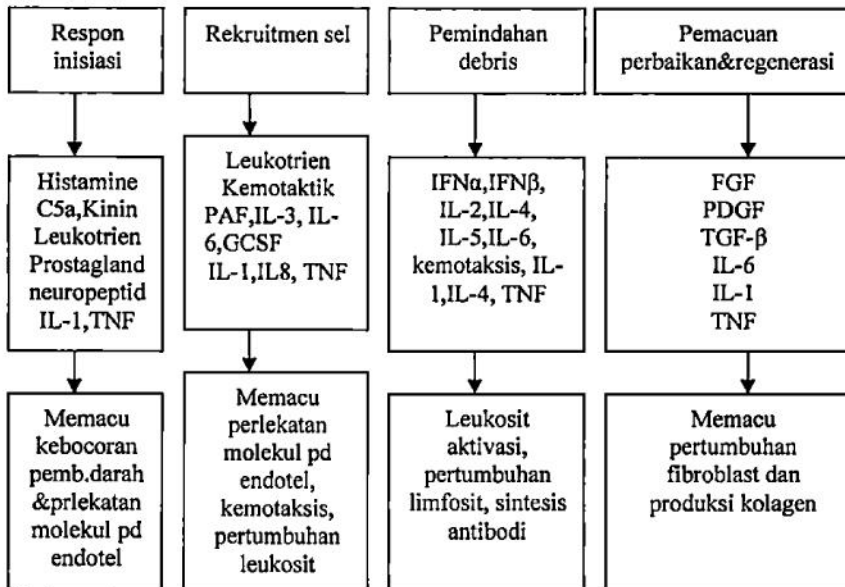
(1) Sitokin

(a) Interleukin

Sesuai dengan gambar 4, interleukin berperan dalam proses inflamasi. IL-1 berperan dalam memacu kebocoran pembuluh darah dan perlekatan molekul pada endotel. IL-1, IL-3, IL-6 dan IL-8 berperan dalam memacu perlekatan molekul pada endotel, kemotaksis dan pertumbuhan leukosit. IL-1, IL-2, IL-4, IL-5 dan IL-6 berperan dalam aktivasi leukosit, pertumbuhan limfosit dan sintesis antibodi. IL-1 dan IL-6 berperan dalam memacu pertumbuhan fibroblast dan produksi kolagen.

(b) Interferon

Interferon (INF) α dan IFN β memacu aktivasi leukosit pertumbuhan limfosit dan sintesis antibodi (Trask, *et.al.*, 2006; Mitchell & Cotran, 2003).



Skema 2. Sitokin dengan tahap-tahap inflamasi (Trask, *et.al.*, 2006)

(2) Kemokin

Kemokin merupakan molekul dengan berat rendah yaitu 8 – 10 kDa, yang berfungsi menginduksi kemotaksis leukosit. Kemokin disintesis oleh makrofag, fibroblas dan sel endotel. Kemokin terdiri dari 2 yaitu kemokin CC yang mempengaruhi monosit, limfosit dan neutrofil, sedangkan kemokin CXC mempengaruhi neutrofil (Trask, *et.al.*, 2006; Mitchell & Cotran, 2003).

2. Inflamasi Kronik

Perbedaan utama antara inflamasi akut dan kronik adalah durasi atau lama proses terjadinya. Inflamasi kronik terjadi selama 2 minggu atau lebih dan dapat terjadi karena respon inflamasi akut yang tidak sukses. Karakteristiknya adalah pembentukan pus, supurasi (purulen) dan penyembuhan yang tidak lengkap.

Pada inflamasi kronik, ketika makrofag maupun neutrofil tidak mampu untuk menghancurkan mikroorganisme patogen maka tubuh mempunyai mekanisme dalam membentuk dinding untuk mengisolasi area yang terinfeksi yang dikenal dengan granuloma (Trask, *et.al.*, 2006; Mitchell & Cotran, 2003).

Perbandingan antara inflamasi akut dan kronik secara lengkap dapat dilihat pada tabel 2 berikut:

Tabel 2. Perbandingan inflamasi akut dan kronik

PERBANDINGAN INFLAMASI AKUT DAN KRONIK		
Faktor Inisiasi	Fragmen dan permukaan bakteri	Organisme yang tidak dapat dicerna atau dihancurkan, reaksi autoimun
Mediator	Sel mast, bradikinin, komponen lisosomal, mediator lipid	Produk dari limfosit T dan makrofag yaitu sitokin dan GF Protease dan reaktif oksigen Complement dan Mediator Lipid
Sel utama yang berperan	Neutrophil Makrofag	Limfosit T, sel plasma, makrofag, fibroblas
Waktu	Beberapa hari	Dalam minggu sampai tahun
Hasil	Resolusi, formasi abses, inflamasi kronik	Kerusakan jaringan, fibrosis

C. PENYEMBUHAN SETELAH PROSES INFLAMASI

Setelah proses inflamasi, terjadi perbaikan luka sehingga dapat kembali pada struktur yang normal dan fungsi fisiologinya, kejadian ini disebut resolusi.

Selain resolusi, penyembuhan selanjutnya adalah *repair* atau perbaikan merupakan penggantian jaringan yang rusak dengan jaringan fibrosis atau bekas luka. Jaringan fibrosis ini terdiri dari kolagen dan pada jaringan yang fibrosis, fungsi fisiologinya menghilang.

Baik resolusi dan *repair* terjadi dalam 2 fase. Fase pertama adalah rekonstruksi, terjadi mulai 3 sampai 4 hari setelah inisiasi inflamasi dan berlanjut selama 2 minggu. Pada fase ini dikarakteristikan dengan proliferasi fibroblas, sintesis kolagen oleh fibroblas, epitelisasi, kontraksi luka dan diferensiasi sel. Fase kedua adalah fase maturasi dimana terjadi beberapa minggu setelah injuri dan penyembuhan lengkap dalam 2 tahun. Pada fase ini diferensiasi sel terus berlanjut sehingga membentuk jaringan fibrosis (Trask, *et.al.*, 2006; Mitchell & Cotran, 2003).

D. MINYAK IKAN

Minyak adalah zat berminyak yang dapat terbakar, berupa cairan atau mudah mencair pada pemanasan dan larut dalam eter namun tidak larut dalam air. Zat demikian bergantung pada asalnya, dikelompokkan menjadi minyak hewan, mineral atau sayur (DORLAND, 2000).

Menurut definisi *Food and Agriculture Organization* (FAO), ikan tidak terbatas pada pengertian ikan yang selama ini dipahami orang awam, yaitu ikan (*fish*) yang bersirip, bersisik dan dapat berenang dengan bebas di air. Definisi FAO mengenai ikan adalah organisme laut yang terdiri dari ikan (*fish*), binatang berkulit keras (krustasea) seperti udang dan kepiting, moluska seperti cumi dan gurita, binatang air lainnya seperti penyu dan paus, rumput laut serta lamun laut.

Sehingga minyak ikan merupakan cairan larut dalam eter tetapi tidak dapat larut dalam air, yang berasal dari ikan. Minyak ikan terutama terdapat

pada ikan kembung, salmon, sardin, kerang, trout (ikan torel), tuna, dan kepiting (Higdon, 2005).

Asam lemak essensial merupakan asam lemak yang dibutuhkan oleh tubuh tetapi tidak dapat diproduksi oleh tubuh sehingga membutuhkan asupan dari luar. Asam lemak essensial terdiri dari 2 macam yaitu ω -6 dan ω -3. Pada minyak ikan, asam lemak essensial yang paling banyak ditemukan adalah ω -3. Omega-3 pada minyak ikan berupa EPA dan DHA (Oh, 2005).

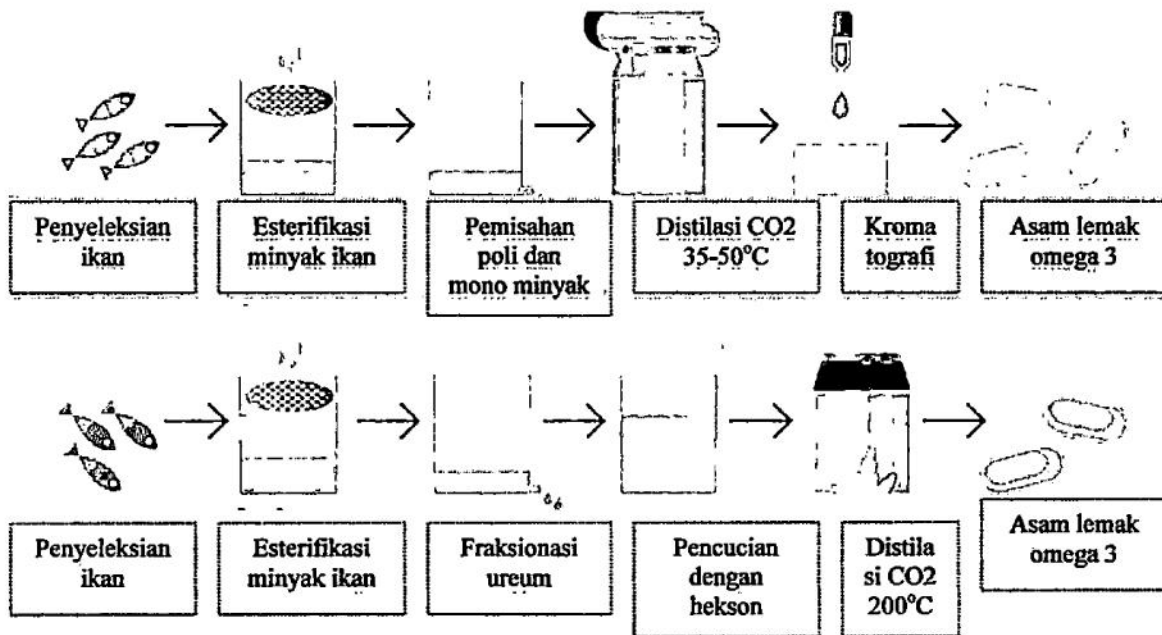
Omega-3 adalah asam lemak tak jenuh yang ikatan ganda terdekat dengan ujung metil (omega) molekul tersebut terdapat pada karbon ketiga dari ujung. Asam ini terdapat dalam lemak hewan laut dan beberapa minyak tanaman. Asam-asam lemak ini dapat mengatur komposisi leukotrien, mengubah sintesis prostaglandin, menghambat agregasi trombosit, peningkatan rasio lipoprotein densitas tinggi terhadap densitas rendah serta menurunkan kadar lipid plasma keseluruhan (DORLAND, 2000).

EPA merupakan asam cis-5,8,11,14,17-eikosapentanoat yaitu suatu asam lemak berkarbon 20 omega 3 dengan rantai tak jenuh ganda (*polyunsaturated*) yang hampir semua ditemukan hanya pada minyak ikan dan hewan laut, asam ini merupakan substrat untuk siklooksigenase.

DHA merupakan asam cis-4,7,10,13,16,19-doksosaheksanoid, suatu omega-3 *polyunsaturated*, asam lemak C22, ditemukan pada ikan dan minyak hewan laut, merupakan substrat untuk siklooksigenase.

Pengertian dari Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA) adalah asam lemak tak jenuh yang mengandung dua atau lebih ikatan rangkap. Asam ini

terdapat sebagai asam linoleat, linolenat, arakhidonat dalam minyak tanaman dan biji-bijian (DORLAND, 2000),



Gambar 3. Pengolahan minyak ikan (Minami Nutrition, ohio-state)

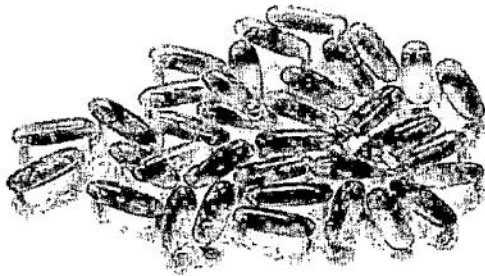
Dari gambar 3, pengolahan minyak ikan dapat melalui 2 cara yaitu:

1. Produksi asam lemak ω -3 dengan distilasi CO₂

Produksi asam lemak ω -3 dengan distilasi CO₂ dimulai dengan pemilihan ikan (contohnya ikan kembung, sardin, dll) kemudian minyak ikan diesterifikasi. Pada tahap selanjutnya minyak yang sudah disaturasi dipisahkan antara minyak *polyunsaturated* dan *monounsaturated*, setelah itu CO₂ digunakan sebagai pelarut pada suhu 35°-50° C, maka terbentuklah konsentrasi tinggi asam lemak ω -3 yang telah dimurnikan.

2. Produksi asam lemak ω -3 dengan distilasi molekular

Produksi asam lemak ω -3 dengan distilasi molekular dimulai dengan pemilihan ikan terlebih dahulu (contohnya ikan kembung, sardin, dll) kemudian minyak ikan diesterifikasi sehingga membentuk pecahan ureum kemudian dilakukan pencucian dengan hexone. Pada tahap akhir, destilasi diulangi pada suhu 200°C maka terbentuklah asam lemak ω -3.



Gambar 4. Minyak ikan yang beredar di masyarakat (sino-biotech)

Kandungan EPA minyak ikan dalam satu tablet sebanyak 180 mg (18%) dan DHA sebanyak 120 mg (12%) (sino-biotech).

E. MINYAK IKAN SEBAGAI ANTI INFLAMASI

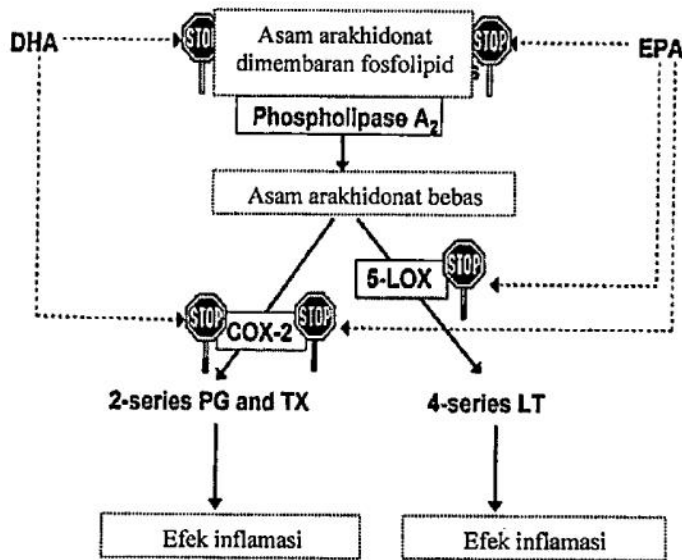
Antiinflamasi adalah segala substrat yang digunakan untuk menurunkan atau mengontrol inflamasi. Obat anti inflamasi non steroid (OAINS) biasa digunakan untuk mengontrol inflamasi yaitu dengan cara menghambat enzim siklooksigenase (khususnya COX-2) sehingga menurunkan produksi prostaglandin dan tromboksan. Beberapa OAINS tidak selektif dalam menghambat enzim siklooksigenase sehingga dapat menimbulkan efek samping. OAINS yang tidak selektif ini menghambat enzim COX-1 sehingga dapat menurunkan produksi prostaglandin yang

khusus melindungi lambung dari peningkatan asam, hal ini dapat menyebabkan gastritis maupun pendarahan dari saluran cerna.

Pada proses inflamasi, seperti yang telah dibahas diatas, melibatkan berbagai mediator inflamasi. Salah satunya adalah peran dari asam arakhidonat. Asam arakhidonat merupakan ω -6 yang berperan dalam pembentukan prostaglandin dan leukotriens melalui enzim siklooksigenase (COX) dan lipooksigenase (LOX). Omega-6 ini merupakan jumlah terbesar *polyunsaturated fatty acids* pada asupan makanan. Pemberian asupan ω -3, yang terdapat dalam jumlah banyak pada minyak ikan, berkompetensi dengan ω -6 (dapat dilihat pada gambar 8) dalam pembentukan prostaglandin pada tingkat enzim, yaitu COX dan LOX (Oh, 2005; Kew, *et.al*, 2004; Bagga, *et.al.*, Simopoulos, 2002).

Peningkatan asupan ω -3 pada minyak ikan dapat menurunkan persatuan asam arakhidonat dari ω -6 pada membran sel, terutama membran sel erosit, platelet, sel endotel, monosit, limfosit, granulosit, sel neuron, fibroblast, sel retinal, sel hepar dan neuroblastoma. Penurunan persatuan ini akan menyebabkan penurunan produksi mediator inflamasi karena itu menurunkan respon inflamasi (Oh, 2005; Kew, *et.al*, 2004; Simopoulos, 2002).

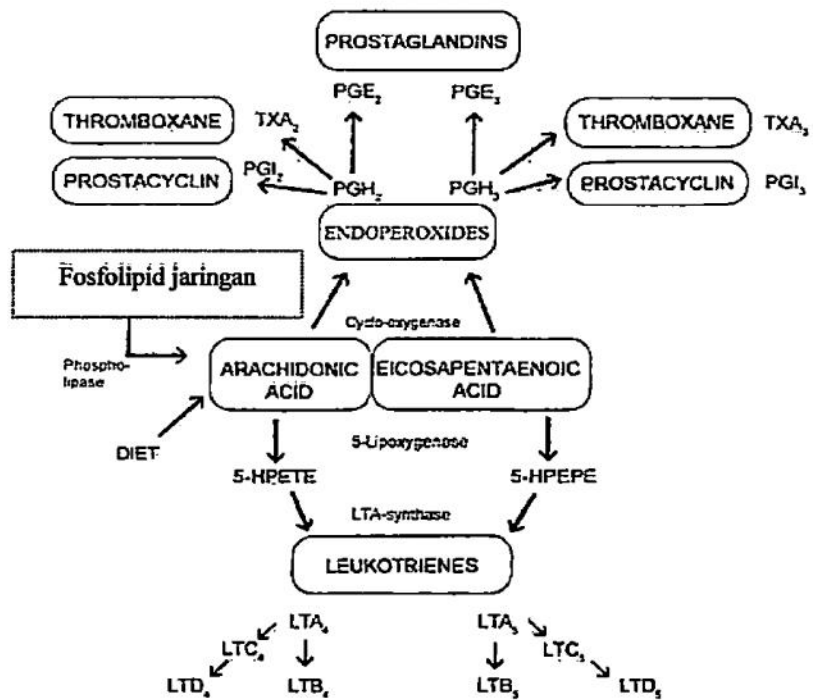
Gambar 7 dan 8 memperlihatkan bahwa EPA dan DHA menurunkan proses inflamasi dengan cara berkompetensi dengan ω -6 dalam membentuk prostaglandin dari asam arakhidonat sehingga menurunkan prostaglandin E seri 2, tromboksan A seri 2, dan leukotrien B seri 4.



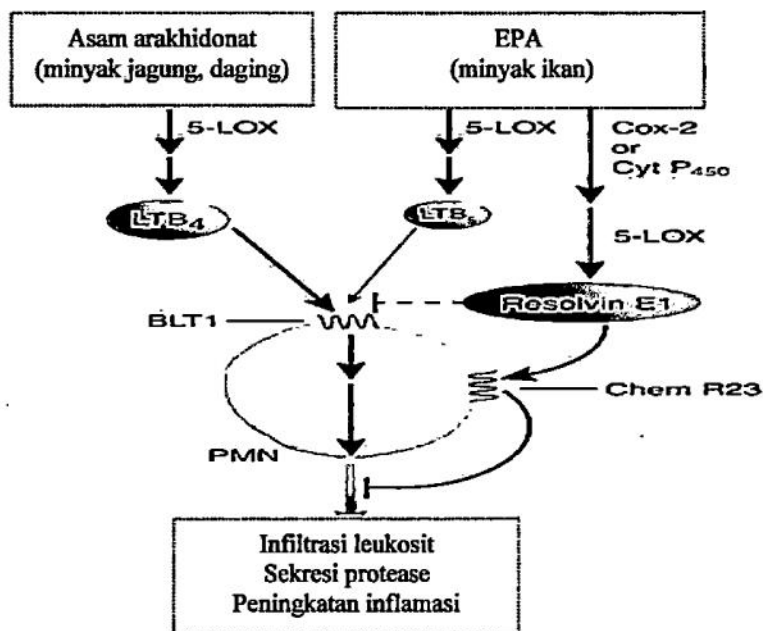
Skema 3. EPA dan DHA mempengaruhi produksi PGE₂, TXA₂, LTB₂ (Calder 2006)

Skema 3 menjelaskan bahwa EPA dari minyak ikan dengan adanya enzim siklooksigenase akan menghasilkan prostaglandin seri 3 (PGE₃), tromboksan A seri 3 (TXA₃) dan prostasiklin seri 3 (PGI₃). PGE₃ mempunyai efek inflamasi lebih lemah dibandingkan dengan PGE₂. TXA₃ sebagai agregator platelet dan vasokonstriksi yang lebih lemah jika dibandingkan dengan TXA₂.

EPA juga menghasilkan leukotriens dengan mengubah menjadi hidroxyeicosapentanoic acids dan dengan adanya enzim LOX. Leukotriens B seri 5 ini mempunyai efek 10 sampai 100 kali lebih rendah daripada LTB₄. Penurunan LTB₄ yang merupakan substrat untuk menstimulasi kemotaksis leukosit (Calder, 2006; Calder, 2006; Trebble, *et.al.*, 2003).



Skema 4. Perbandingan jalur asam arakhidonat dengan EPA dalam memproduksi mediator inflamasi (Calder, 2006)



Skema 5. Mekanisme EPA dalam menurunkan respon inflamasi (Prescott & Stenson, 2005)

Minyak ikan juga menurunkan inflamasi dengan jalur lain yaitu dengan pembentukan Resolvin E1 dari EPA yang berkompetensi dengan LTB4 dalam mengaktifkan PMN sehingga efek anti inflamasi yang lebih rendah (Prescott & Stenson, 2005).

F. PERAN MINYAK IKAN DALAM BEBERAPA PENYAKIT INFLAMASI (PENGGUNAAN KLINIK)

Penggunaan klinik minyak ikan terhadap beberapa penyakit yang didasari oleh proses inflamasi telah dilakukan oleh beberapa peneliti, diantaranya adalah:

1. Rheumatoid Arthritis

Rheumatoid arthritis (RA) merupakan proses inflamasi kronik yang manifestasinya berupa udem, gangguan fungsi, nyeri pada pagi hari dan osteoporosis. Lesi pada sendi dicirikan dengan infiltrasi makrofag, limfosit T dan sel plasma ke dalam ruang sinovial dan proliferasi sel sinovial. Pada biopsi sinovial pasien dengan RA ditemukan konsentrasi tinggi dari TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-7 dan *granulocyte-macrophage colony stimulating factor* (GM-CSF). Pada cairan sinovial juga ditemukan peningkatan ekspresi COX-2 dalam produksi PGE2, LTB4, 5-HETE dan platelet activating factor.

Asupan minyak ikan menunjukkan efek yang menguntungkan yaitu penurunan produksi LTB4, IL-1, IL-1 β , konsentrasi C-Reaktif Protein.

2. *Inflammatory Bowel Disease*

Kolitis ulseratif dan Crohn disease merupakan proses inflamasi kronik pada saluran pencernaan. Pada kolitis ulseratif terjadi terutama pada mukosa

kolon sedangkan pada Crohn disease terjadi di beberapa bagian saluran cerna, termasuk mulut sampai anus tetapi biasanya terjadi pada ileum dan kolon.

Asupan minyak ikan dapat menurunkan produksi LTB₄ dari neutrofil dan mukosa kolon, penurunan PGE₂ dan TXB₂.

3. Asma

Asam arakhidonat turunan eikosanoat seperti PGD₂, LTC₄, LTD₄ dan LTE₄ diproduksi sebagai mediator dalam inflamasi pada asma dan merupakan mediator utama penyebab bronkokonstriksi. Konsumsi minyak ikan menurunkan produksi produksi LTE₄ dan kemotaksis leukosit.

4. Depresi

Stres fisiologi pada manusia dapat memacu produksi dari sitokin inflamasi seperti IFN γ , TNF α , IL-6 dan IL-10. Ketidakseimbangan antara asupan ω -6 dan ω -3 di pembuluh darah perifer menyebabkan produksi berlebih dari sitokin. Asupan minyak ikan dapat menurunkan depresi dengan cara penurunan fase akut dari inflamasi (Simopoulos, 2002; Oh, 2005; Calder, 2006).

G. IBUPROFEN

OAINS tersedia dalam beberapa kelas kimia, sifat fisiko-kimianya menentukan distribusinya dalam tubuh sehingga perbedaan-perbedaan dalam hal ini mungkin menimbulkan Variasi kinerja terapeutik. Pada umumnya OAINS yang lebih mudah larut dalam lemak menembus susunan saraf pusat lebih efektif dan memberikan efek sentral lebih besar seperti perubahan ringan kognisi, *mood* dan persepsi. OAINS yang bersifat asam cenderung terdapat

dalam cairan sinovial sendi yang meradang yang mungkin memberikan efek menguntungkan selama terjadi artritis. Mekanisme kerja utama OAINS adalah menghambat aktivitas enzim siklooksigenase dalam sintesis prostaglandin, urutan potensi OAINS sebagai inhibitor sintesis prostaglandin *in vitro* cenderung mencerminkan potensi antiinflamasinya *in vivo*. Model inhibisi siklooksigenase kompleks dan bervariasi antar OAINS. Di samping itu sejumlah OAINS tertentu juga dapat menghambat enzim lipoksigenase yang juga penting dalam respons inflamasi, mengganggu berbagai proses yang berhubungan dengan membran sel termasuk aktivitas oksidase NADPH dalam neutrofil dan fosfolipase C dalam makrofag (Lastari & Herman, 1995).

Secara umum OAINS diabsorpsi hampir sempurna, memiliki *clearance* hati dan metabolisme *first-pass* rendah, ikatan dengan albumin tinggi dan volume distribusi kecil. Pada OAINS tertentu terdapat hubungan linier kerja antiinflamasi dengan dosis atau kadar plasma obat, akan tetapi hubungan ini tidak dapat menerangkan semua variasi respons terhadap obat. Hal ini menunjukkan bahwa variasi respons bersifat farmakokinetik.

Berdasarkan waktu paruh plasmanya OAINS dapat dikelompokkan menjadi waktu paruh pendek (kurang dari 6 jam) dan panjang (lebih dari 10 jam). Karena kadar plasma setimbang baru dicapai setelah jangka waktu 35 kali waktu paruh, OAINS dengan waktu paruh panjang tidak mencapai kadar konstan dalam plasma dan tidak memberikan efek klinis maksimal secepat OAINS dengan waktu paruh pendek apabila tidak diberi dosis *loading*. Sebenarnya kadar obat dalam cairan sinovial penting karena dekat dengan

tempat kerja obat; kecepatan transfer keluar-masuk kompartemen sinovial yang relatif lambat menyebabkan perbedaan kadar obat dalam plasma dan cairan sinovial pada OAINS dengan waktu paruh pendek. Kadar OAINS dalam cairan sinovial lebih rendah daripada dalam plasma karena kadar albumin cairan sinovial lebih rendah dibanding dengan dalam plasma; padahal sebagian besar OAINS terikat kuat pada albumin (lebih dari 95%).

Ibuprofen, Obat pertama dari kelompok asam propionat (1969) ini adalah NSAIDs (*Non Steroid Anti Inflammatory Drug's*) yang sering digunakan (Hadisoewignyo & Fudholi, 2007), berkat efek sampingnya yang relatif ringan dan status OTC (*Over The Counter*) di kebanyakan negara. Zat ini merupakan campuran *rasemis*, dengan bentuk *dextro* yang aktif. Daya analgetis dan antiradang yang cukup baik dan banyak menggantikan salisilat pada penanganan bentuk reumatoid ringan dan gangguan dari alat gerak (Tjay & Rahardja, 2002).

Daya resorpsi ibuprofen di usus cepat dan baik (sekitar 80%), namun daya resorpsi rektal lebih lambat. Memiliki daya endap 90%-99% dan waktu paruh plasma 2 jam. Kemampuan bertahan di dalam ruang sinovial membuktikan efeknya dalam mengatasi artritis walaupun kadarnya dalam plasma telah berkurang. Ekskresi berlangsung terutama sebagai metabolit-metabolit dan konjugat-konjugatnya. Dari penelitian terhadap binatang diketahui bahwa ibuprofen dan metabolitnya dapat menembus plasenta (Tjay & Rahardja, 2002, Burke et al, 2006).

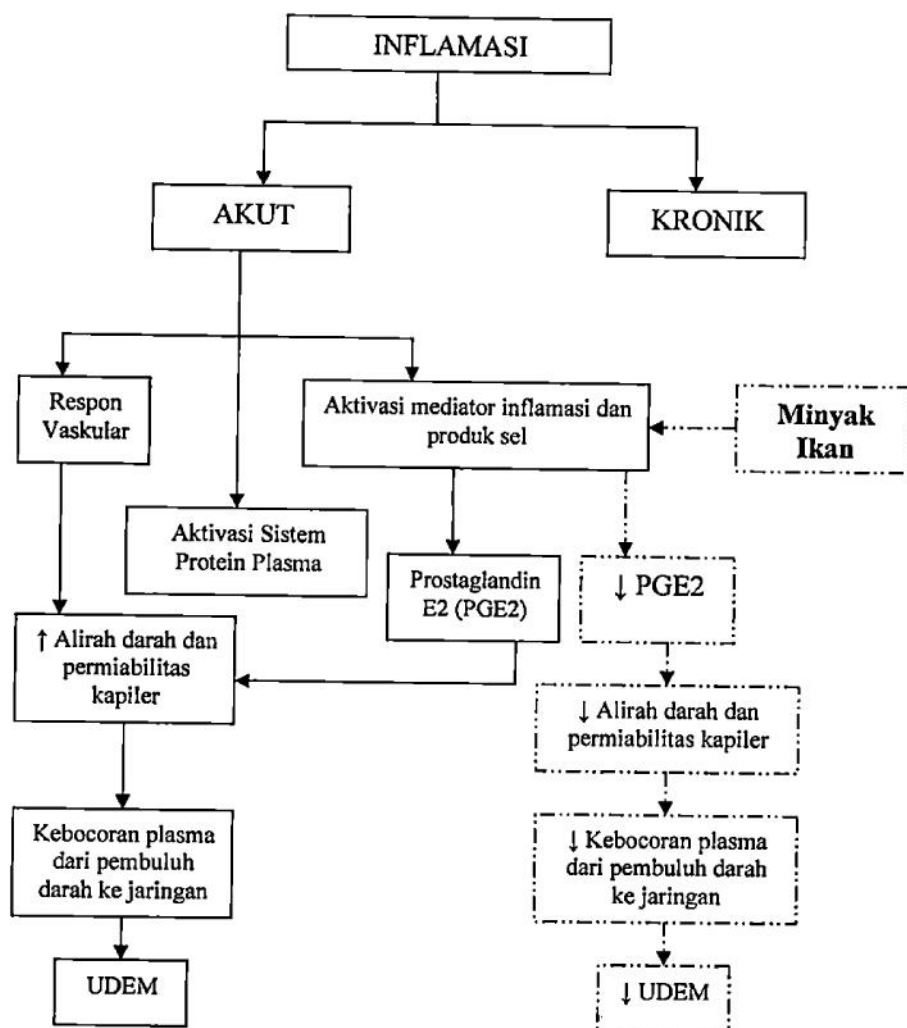
Waktu paruh ibuprofen yang pendek menyebabkan perlu digunakan berulang kali dalam sehari. Dalam bentuk tablet, pada umumnya digunakan dosis 200 mg sampai 800 mg, tiga sampai empat kali sehari. Hal ini yang menyebabkan ibuprofen sesuai untuk diformulasikan dalam sediaan lepas lambat. Dengan ini diharapkan hanya diperlukan satu atau dua kali sehari. Ini dapat meningkatkan kepatuhan pasien untuk minum obat serta mengurangi resiko efek samping (Hadisoewignyo & Fudholi, 2007).

Ibuprofen memiliki toleransi lebih baik terhadap gangguan gastrointestinal dibandingkan aspirin dan indometasin. Dilaporkan hanya 5% dari 15% penderita gangguan gastrointestinal karena NSAID's diakibatkan oleh penggunaan ibuprofen. Jarang dilaporkan terjadinya efek samping akibat penggunaan ibuprofen, namun beberapa efek samping yang mungkin terjadi meliputi trombositopeni, *rash*, sakit kepala, kebingungan, penglihatan kabur, ambliopia toksik, retensi cairan dan edema (Burke et al, 2006).

H. KARAGENIN

Pada penelitian ini digunakan induksi karagenin untuk menimbulkan proses inflamasi berupa udem pada tikus. Karagenin berasal dari kelas rhodophytae (alga merah), sub kelas florideae, ordo gigertinales, famili gigertinaceae, genus chondrus, spesies acellatus, dan diekstrak menjadi karagenin. Karagenin dapat dibedakan menjadi 3 yaitu kappa, lambda dan iota, biasa digunakan sebagai agen pembuat gel, pengembang, dan stabilizer (Minami Nutrition, Ohio-state).

I. KERANGKA BERPIKIR



J. HIPOTESIS

1. Minyak ikan mempunyai kemampuan dalam mengurangi udem yang merupakan salah satu tanda inflamasi.
2. Minyak ikan mempunyai kemampuan dalam menghambat udem yang merupakan salah satu tanda inflamasi.