

SYZYGIIUM CUMINI REDUCES VCAM-1 EXPRESSION IN ENDOTHELIAL CELLS FROM PREECLAMPTIC PATIENTS

Siswi Wulandari¹, Binti Qoniah²

^{1,2}Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Kediri

email: wulandariswi@gmail.com, fuyuhanabi9@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini untuk mengetahui peran *Syzygium cumini* pada ekspresi VCAM-1 dalam sel endotel dari pasien preeklampsia. Sel endotel diperoleh dari sel endotel vaskular manusia. Pada pertemuan sel endotel dibagi menjadi lima kelompok, yang termasuk kontrol (tidak diobati), sel endotel dari pasien preeklampsia (PP), sel endotel terkena PP di hadapan ekstrak etanol dari *Syzygium cumini* (PP + SC) pada tiga berikut dosis: 100; 200; dan 400 ppm. Analisis kadar VCAM-2 dilakukan secara imunohistokimia secara teknis. Peningkatan VCAM-1 ini secara signifikan ($P < 0,05$) dilemahkan oleh perlakuan 200 dan 400 ppm ekstrak *Syzygium cumini*. Kesimpulannya, ekstrak *Syzygium cumini* mencegah peningkatan VCAM-1 dan ICAM-1 dalam sel endotel yang diinduksi oleh plasma dari pasien preeklampsia. Oleh karena itu ini dapat memberikan terapi alami untuk melemahkan molekul adhesi yang disebabkan oleh disfungsi endotel yang ditemukan pada komplikasi kehamilan ini.

ABSTRACT

The present study sought to investigate a role for Syzygium cumini on VCAM-1 expression in endothelial cells from preeclamptic patients. Endothelial cells were obtained from human umbilical vascular endothelial cells. At confluency, endothelial cells were divided into five groups, which included control (untreated), endothelial cells from preeclamptic patients (PP), endothelial cells exposed to PP in the presence of ethanolic extract of Syzygium cumini (PP + SC) at the following three doses: 100; 200; and 400 ppm. Analysis of VCAM-2 level were done by immunohistochemistry technically. This increase in VCAM-1 was significantly ($P < 0.05$) attenuated by both the 200 and 400 ppm treatments of Syzygium cumini extract. In conclusion, Syzygium cumini extract prohibits the increase in VCAM-1 and ICAM-1 in endothelial cells induced by plasma from preeclamptic patients. Therefore this may provide a natural therapy for attenuating the adhesion molecule induced by endothelial dysfunction found in this pregnancy complication.

Keywords: Herbal medicine, pregnancy, hypertension, adhesion molecules, *Syzygium cumini*

PENDAHULUAN

Preeklampsia-eklampsia merupakan salah satu dari tiga penyebab kematian ibu selain perdarahan dan infeksi. Menurut hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT), Angka Kematian Ibu (AKI) pada tahun 2012 sebesar 228/100.000 Kelahiran Hidup (KH). Tingginya angka kematian ibu (AKI) disebabkan karena perdarahan (24,8%), infeksi (14,9%), preeklampsia-eklampsia (12,9%), partus lama (6,9%), penyebab langsung kematian ibu (7,9%), dan penyebab tidak langsung (19,8%) (Stalker, 2008). Preeklampsia adalah suatu gangguan kehamilan yang spesifik ditandai dengan hipertensi dan proteinuria yang terjadi setelah minggu ke-20 kehamilan. Invasi trofoblas pada arteri spiral uterus (Sankaralinga, *et al.*, 2006) dengan gejala

klinis hipertensi, proteinuria dan edema, yang berasal dari perubahan patologis dalam vaskularisasi endotelium ibu atau mengakibatkan disfungsi endotel pada plasenta (Roberts & Cooper, 2001).

Disfungsi endotel merupakan kegagalan endotel dalam melakukan adaptasi adekuat terhadap stimulasi yang disebabkan paparan sitokin inflamasi dan peningkatan ekspresi VCAM-1 sehingga terjadi stress oksidatif (Wulandari, *et al.*, 2014). Disfungsi endotel merupakan kegagalan endotel dalam melakukan adaptasi adekuat terhadap stimulasi yang disebabkan paparan sitokin inflamasi dan peningkatan ekspresi VCAM-1 sehingga terjadi stress oksidatif. Stress oksidatif pada preeklampsia bisa dikendalikan dengan pemberian antioksidan. Antioksidan banyak terdapat di buah-buahan. Buah Juwet

(*Syzygium cumini*) mengandung antosianin, fenol dan polifenol, senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan dan antiinflamasi (Lindy, 2008). Jumlah antosianin pada Juwet lebih tinggi dibandingkan Strawberry dan Anggur merah (Lindy, 2008), dan Juwet banyak ditemui dipedesaan sehingga mudah untuk didapat (Safitri, 2008). Ekstrak etanol Juwet memiliki konsentrasi antosianin lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak isopropanol (Sari, *et al.*, 2005). Penggunaan etanol karena senyawa pada Juwet larut dalam air. Selain itu, etanol memiliki sifat melarutkan hampir semua zat baik yang bersifat polar, nonpolar maupun semipolar (Helmi, *et al.*, 2006).

Pada penelitian ini, akan dilakukan penelitian pengaruh pemberian ekstrak Juwet (*Syzygium cumini*) pada Model HUVECs preeklampsia terhadap ekspresi molekul adhesi sel vaskuler 1 (VCAM-1).

Preeklampsia digambarkan sebagai sindrom spesifik pada kehamilan yang dapat mempengaruhi hampir semua sistem organ. Preeklampsia adalah penyakit dengan tanda-tanda tekanan darah tinggi (hipertensi), pembengkakan jaringan (edema) dan protein dalam urine (protein urine). Preeklampsia pada umumnya terjadi pada triwulan ke 3 namun ada yang terjadi pada triwulan ke 2. Preeklampsia sering tidak diketahui oleh ibu hamil yang bersangkutan sehingga tanpa disadari preeklampsia ringan bisa berubah menjadi preeklampsia berat dan berlanjut menjadi eklampsia (Wiknjosastro, 2002). Gangguan imunologi pada preeklampsia menurunkan produksi antibodi. Berkurangnya antibodi menghambat invasi trofoblas sampai batas tertentu hingga mengganggu fungsi plasenta. Ketika kehamilan yang terus berlanjut, hipoksia plasenta menginduksi proliferasi sitotrofoblas dan penebalan membran basalis trofoblas yang mengganggu fungsi metabolik plasenta. Sekresi vasodilator prostasiklin oleh sel endotel plasenta berkurang dan sekresi trombosan oleh trombosit bertambah. Akibatnya terjadi pengurangan perfusi plasenta sebanyak 50%, hipertensi ibu, penurunan volum plasma ibu (Cunningham, 2010).

Perubahan inflamasi merupakan kelanjutan dari perubahan yang terjadi pada plasenta. Pada desidua terdapat banyak sel yang bila

diaktivasi akan mengeluarkan bahan – bahan tertentu yang dapat merusak sel endotel. Sel yang masuk ke tempat lesi akan melepaskan produknya yang meneruskan perjalanan proses inflamasi dan kadang menimbulkan kerusakan jaringan akibat pelepasan oksigen reaktif. IL-1 dan TNF- α , meningkatkan ekspresi ICAM-1 dan VCAM-1 pada permukaan sel endotel yang berinteraksi dengan ligannya pada permukaan leukosit (ICAM-1 mengikat LFA-1, VCAM-1 mengikat VLA-4) (Susianto, *et al.*, 2009).

VCAM-1 adalah protein yang pada manusia, berisi enam atau tujuh domain imunoglobulin, dan diekspresikan pada pembuluh darah besar dan kecil setelah sel-sel endotel dirangsang oleh sitokin yang berperan dalam perkembangan aterosklerosis dan rheumatoid arthritis. Sitokin pada sel endotel meningkatkan transkripsi gen (misalnya, dalam menanggapi *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- α) dan Interleukin - 1 (IL-1)). VCAM - 1 mengandung *Nuclear Factor-Kappa B* (NF- κ B). Ekspresi berkelanjutan VCAM - 1 berlangsung lebih dari 24 jam (Endermann & Schiffrin, 2004).

Penelitian dilakukan secara eksperimental yang dikerjakan di laboratorium secara *in vitro* dengan dua kelompok kontrol yaitu kontrol negative, tiga kontrol positif dan enam kelompok perlakuan (dosis 100ppm, 200ppm dan 400ppm, inkubasi 1 jam, 3 jam dan 24 jam). HUVECs dipapar 2% plasma preeklampsia sebagai model HUVECs preeklampsia secara *in vitro*. Pemeriksaan ekspresi ICAM-1 dan VCAM-1 menggunakan immunohistokimia. Analisa statistic menggunakan uji *Two Way Anova* dan uji *regresi*. Pada waktu inkubasi 1 jam, 3 jam, dan 24 jam diperoleh tidak ada perbedaan yang bermakna ekspresi VCAM-1 ($p=0.980 > \alpha$) dan ICAM-1 ($p=0.392 > \alpha$). Pada dosis Juwet VCAM-1 dan ICAM-1 diperoleh ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol positif dengan kelompok dosis ($p=0.000 < \alpha$). Ekspresi ICAM-1 dan VCAM-1 meningkat pada kondisi preeklampsia, pemberian juwet dengan dosis 100 ppm, 200 ppm dan 400 ppm dapat menurunkan ekspresi ICAM-1 dan VCAM-1 pada kondisi preeklampsia. Pada penelitian ini tidak diketahui kadar antosianin yang bisa

menurunkan ekspresi ICAM-1 dan VCAM-1 (Wulandari, et al., 2014).

Hipotesis pada penelitian ini adalah ada pengaruh pemberian ekstrak etanol Juwet (*Syzygium cumini*) terhadap ekspresi molekul adhesi sel vaskuler 1 (VCAM-1) pada Model HUVECs Preeklampsia, dengan masa inkubasi 16 jam.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental yang dikerjakan di laboratorium secara *in vitro* dengan dua kelompok kontrol yaitu kontrol negative, kontrol positif dan tiga kelompok perlakuan (dosis 100 ppm, 200 ppm dan 400 ppm, inkubasi 16 jam). Pemeriksaan ekspresi VCAM-1 menggunakan imunohistokimia analysis. Analisa statistic menggunakan uji One Way Anova. Pemberian ekstrak etanol Juwet dengan dosis 100 ppm, 200 ppm dan 400 ppm dapat menurunkan ekspresi VCAM-1 pada kondisi preeklampsia.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil uji *Anova* pada perlakuan dengan waktu inkubasi 16 jam antara kelompok kontrol positif (perlakuan pemberian plasma preeklampsi), kelompok perlakuan dengan pemberian juwet 100 ppm, kelompok perlakuan dengan pemberian juwet 200 ppm, dan kelompok perlakuan dengan pemberian juwet 400 ppm diperoleh tidak ada perbedaan yang bermakna rerata VCAM-1 ($p=0.070>\alpha$). Sedangkan hasil uji perbandingan berganda dengan uji Beda Nyata Terkecil/BNT (*Least Significant Difference/LSD*) diperoleh dan ditampilkan secara lengkap disajikan pada Tabel 5.1 di bawah ini.

Tabel 1. Perbandingan VCAM-1 antara kelompok Kontrol dan Perlakuan

Kelompok pengamatan	VCAM-1	
	Rerata ± stan.dev	<i>p-value</i>
Kontrol	85.76±11.71 ^a	0.070
Kontrol + juwet 100 ppm	86.66±9.71 ^a	

Kontrol + juwet 200 ppm	67.76±5.96 ^{ab}
Kontrol + juwet 400 ppm	63.08±15.59 ^b

Keterangan: Pada rerata±sd jika memuat huruf yang berbeda berarti ada. perbedaan yang bermakna ($p-value<0.05$) dan jika memuat huruf yang sama berarti tidak ada perbedaan yang bermakna ($p-value>0.05$).

Berdasarkan hasil uji perbandingan berganda dengan uji *LSD* tampak pada Tabel 5.1 kolom VCAM-1 rerata±sd menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna rerata±sd antara kelompok kontrol (85.76±11.71^a %) dengan kontrol + juwet 100 ppm (86.66±9.71^a %), juga dengan kelompok kontrol + juwet 200 ppm (67.76±5.96^{ab} %), tetapi ada perbedaan yang bermakna dengan kelompok kontrol plasma + juwet 400 ppm (63.08±15.59^b %). Tampak ada penurunan rerata±sd VCAM-1 dari kelompok kontrol positif ke kelompok perlakuan dengan juwet 100 ppm dan 200 ppm, walaupun penurunan ini tidak bermakna secara statistik. Sedangkan antara kelompok kontrol dengan kelompok kontrol+ juwet 400 ppm ada penurunan rerata±sd VCAM-1 yang berarti dan bermakna secara statistik. Hal ini berarti bahwa perlakuan pemberian juwet 400 ppm dapat menurunkan VCAM-1 pada preeklampsi dengan waktu inkubasi 16 jam atau dengan kata lain pada kondisi preeklampsi jika diberi juwet 400 ppm maka dapat menurunkan VCAM-1.

Pada penelitian ini, kultur sel preeklampsia dapat melepaskan radikal bebas sehingga meningkatkan aktivitas permukaan sel. Aktivitas permukaan sel akan memicu ekspresi VCAM-1. Antibodi VCAM-1 yang diberikan akan bereaksi dengan molekul VCAM-1 yang muncul pada permukaan sel. Molekul VCAM-1 merupakan gejala awal yang dapat muncul ke permukaan sel apabila terjadi gangguan terhadap membran sel.

Hal ini didukung oleh riest Endemann& Schiffrin (2004) dalam Rodrigo (2007) yang menyatakan fungsi endotel dapat terganggu karena adanya stress hemodinamik, paparan dengan sitokin inflamasi dan stress oksidatif

dengan ditandai adanya peningkatan berbagai molekul adhesi. Selain itu sel endotel juga merupakan sumber sitokin. Sitokin merupakan mediator polipeptida terlarut yang menjaga komunikasi dengan leukosit dan jaringan. Sitokin mengaktifasi endotel melalui pembentukan thrombus dan inflamasi. Sitokin pada sel endotel meningkatkan transkripsi gen (misalnya, dalam menanggapi *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- α))

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dan pembahasan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekspresi VCAM-1 terdapat pada HUVECs preeklampsia
2. Pemberian ekstrak Juwet dengan dosis 100 ppm, 200 ppm dan 400 ppm dapat menurunkan ekspresi VCAM-1 pada HUVECs preeklampsia.

DAFTAR PUSTAKA

- Baktianita, S. C. W., 2009. Peran Ekstrak Juwet (*Syzygium Cumini*) terhadap Faktor Transkripsi pada Model HUVECs Preeklampsia: Study in-vitro Penurunan Lipid Peroksidasi melalui Ekspresi NF- κ B dan kadar TNF- α .
- Cunningham, L. B. H. R. S., 2010. *Williams Obstetric*. 23 ed. United States of America: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Endermann, D. & Schiffrin, E. L., 2004. Endothelial Dysfunction. *Journal of the American Society of Nephrology*, Volume 15, p. 1983–1992.
- Helmi, A., Nelvi, A., Dian, H. & Rosalinda, R., 2006. Standarisasi Ekstrak Etanol Daun *Eugenia cumini* Merr. *Jurnal Sains Teknologi Farmasi*, 11(2).
- Leimena, B. B., 2008. *Karakterisasi dan Purifikasi Antosianin pada Buah Duwet (Syzygium cumini)*, Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Lindy, T. E. N., 2008. *Aplikasi Ekstrak Antosianin Buah Juwet (Syzygium cumini) pada Produk Jelly, Yogurt dan Minuman Berkarbonasi*, Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Nhofer, N. D. & Stepan, H., 2008. Preeklampsia – More than a pregnancy complication. *HUMAN ONTOGENET*, 2(1), pp. 29-38.
- Roberts, J. M. & Cooper, D. W., 2001. Pathogenesis and genetics of pre-eclampsia. *THE LANCET*, Volume 357, p. 53–56.
- Rodrigo, R., Prat, H., Passalacqua, W. & Araya, J., 2007. Relationship between Oxidative Stress and Essential Hypertension. *Hypertens Res*, 30(12), pp. 1159-1167.
- Safitri, D. E., 2008. *Stabilisasi Antosianin dan Aktifitas Antioksidan pada Minuman Sari Buah Duwet (Syzygium cumini)*, Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Safitri, D. E., 2011. *Stabilisasi Antosianin dan Aktifitas Antioksidan pada Minuman Sari Buah Duwet (Syzygium cumini)*, Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Sankaralinga, S., Arenas, I. A., Lalu, M. M. & Davidge, S. T., 2006. Preeclampsia: current understanding of the molecular basis of vascular dysfunction. *expert review in molecular medicine*, 8(3).
- Sari, P., 2009. *Potensi Antosianin Buah Duwet (Syzygium cumini) sebagai Pewarna Alami yang Memiliki Kemampuan Antioksidasi*, Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Sari, P. et al., 2005. Ekstraksi dan Stabilitas Antosianin dari Kulit Buah Duwet (*Syzygium cumini*). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, XVI(2), pp. 142-150.
- Stalker, P., 2008. *Millenium Development Goals*, Jakarta: s.n.
- Susianto, I. A., Suharsono & Hadijono, S., 2009. Kadar TNF-Alpha, IL-6 dan Trofoblas pada Preeklampsia-Eklampsia. *Media Medika Indonesiana*, 43(4), pp. 166-173.
- Wiknjastro, H., 2002. *Ilmu Kebidanan*. ketiga ed. Jakarta: Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo.
- Wulandari, S., Baktiyani, S. C. W. & Winarsih, S., 2014. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Juwet (Syzygium cumini) terhadap Ekspresi ICAM-1 dan VCAM-1 pada Model HUVECs yang dipapar Plasma Preeklampsia*, s.l.: s.n.