

STUDI EKSPERIMENTAL: PENURUNAN PROFIL NETROFIL DAN TNF- α SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK TERIPANG EMAS (*STICHOPUS HERMANNI*)

Varidianto Yudo¹, Prawesty Diah Utami^{2*}, Herin Setianingsih³

¹Bagian Mikrobiologi, Prodi Kedokteran - Universitas Hang Tuah, Surabaya, Jawa Timur Indonesia

²Bagian Parasitologi, Prodi Kedokteran - Universitas Hang Tuah, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia

³Bagian Anatomi, Prodi Kedokteran - Universitas Hang Tuah, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia

*Korespondensi : prawesty.diah@hangtuah.ac.id, Telp/ HP: 08113442112

Naskah Masuk 13 Januari 2022, Revisi 24 Januari 2022 Layak Terbit 28 Januari 2022

Abstrak

Vaginitis candida adalah penyakit infeksi jamur yang diderita hampir setiap wanita di dunia. Meningkatnya jumlah netrofil dan kadar faktor nekrosis tumor alfa (TNF- α) merupakan ciri khas dari penyakit ini. Ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanni*) telah banyak diteliti terutama untuk anti jamur dan bakteri, anti peradangan, anti oksidan dan lain-lain. Tujuan penelitian ini adalah untuk membandingkan profil netrofil dan TNF- α antara kelompok kontrol dengan kelompok studi lain yang mendapatkan ekstrak teripang emas (*S. hermanni*) melalui studi eksperimental menggunakan mencit coba. Penelitian ini merupakan studi eksperimental dengan desain "post-test only control group design". Unit eksperimentalnya terdiri dari 24 mencit BALB/c yang diinokulasi *C. albicans* per vaginam dan dibagi menjadi empat grup terdiri dari: (K-) kelompok yang tidak mendapatkan perlakuan; (P1) kelompok yang mendapatkan ekstrak *S. hermanni* dosis 8,5 mg/kgBB; (P2) kelompok dengan dosis ekstrak 17 mg/kgBB; dan (P3) kelompok dengan dosis ekstrak 34 mg/kgBB. Jumlah netrofil dilihat dari pemeriksaan mikroskopis jaringan mukosa vagina. Kadar sitokin TNF- α dilihat dari pemeriksaan ELISA sampel darah. Hasil pengamatan profil netrofil pada jaringan mukosa vagina mencit coba menunjukkan bahwa kelompok P2 mengalami penurunan netrofil tertinggi namun secara statistik tidak signifikan penurunannya ($p=0,156$; $p>\alpha$). Pengamatan profil TNF- α pada serum darah mencit pada kelompok P2 menunjukkan penurunan yang signifikan dibanding kelompok lain ($p=0,001$; $p<\alpha$). Perbedaan ini terutama bila dibandingkan kelompok K- ($p=0,004$; $p<\alpha$) dan kelompok P1 ($p=0,004$; $p<\alpha$). Dari analisis statistik membuktikan bahwa pemberian ekstrak *S. hermanni* terbukti mampu menurunkan profil netrofil dan kadar TNF- α pada mencit coba, dengan dosis efektifnya sebesar 17 mg/kgBB.

Kata Kunci: ekstrak *Stichopus hermanni*, vaginitis candida, netrofil, TNF- α

Abstract

Candida vaginitis is a disease affects almost all women worldwide. An increased number of neutrophils and levels of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) are hallmarks of this disease. Golden sea cucumber (*Stichopus hermannii*) extract has been widely studied, especially for anti-fungal and bacterial, anti-inflammatory, anti-oxidant, and others. The research's objective was to compare neutrophils and TNF- α profiles between control negative and other groups with *S.hermannii* extract administration in mice models. The design of this experimental research is a post-test-only control group design. The sample unit was composed of 24 BALB/c mice that were inoculated intravaginally with *C. albicans* (3 groups study: negative control; P1 received 8.5 mg/kg BW extract; P2 received 17mg/kg BW extract; and P3 received 34 mg/kg BW extract). The neutrophils's number was count from the microscopic examination of the vaginal mucosal tissue. TNF- α cytokine levels were seen from the ELISA examination of blood samples. The mice vaginal mucosal tissue observations showed the highest decrease in neutrophils count in the P2 group, even though there was no statistically substantial difference among groups ($p=0.156$; $p>\alpha$). The TNF-profile test revealed that the P2 group had the greatest decrease, with a notable difference between groups ($p=0.001$; $p<\alpha$). There is a significant difference when P2 group compared to group K- ($p=0.004$; $p<\alpha$) and group P1($p=0.004$; $p<\alpha$). The administration of *S. hermannii* extract reduced the number of neutrophils and TNF- α levels in BALB/c mice inoculated with *C. Albicans* intravaginally, with 17mg/kg BW the most effective dose.

Keywords: *Stichopus hermannii* extract, candida vaginitis, neutrophils, TNF- α

PENDAHULUAN

Vaginitis candida adalah suatu infeksi dan peradangan pada vagina yang disebabkan jamur golongan candida, dengan *Candida albicans* sebagai penyebab terbanyak (1). Faktor predisposisi terjadinya vaginitis candida ini antara lain penggunaan kontrasepsi oral estrogen, terapi hormonal, penggunaan antibiotik, dan diabetes mellitus dan hal-hal lain yang mengganggu mikrobiota vagina (2). Vaginitis candida menyebabkan gejala antara lain keputihan abnormal, bau, iritasi, gatal, atau rasa terbakar (3).

Gejala peradangan pada vaginitis candida ini salah satunya disebabkan perekrutan netrofil yang berlebihan ke lumen vagina, tetapi kurang efektif dalam menghilangkan jamur (4). Epitel mukosa vagina dan netrofil sendiri akan mengeluarkan sitokin TNF- α yang akan menarik sel-sel fagosit lain (5). Beberapa penelitian menyimpulkan pengurangan perekrutan netrofil kedalam lumen vagina akan mengurangi gejala pada vaginitis candida (6).

Jumlah wanita yang mengalami vaginitis candida diperkirakan lebih dari 75% diseluruh dunia, dengan minimal satu kali kejadian (7). Pengobatan dengan terapi standar biasanya dapat menghilangkan gejala. Tetapi beberapa wanita akan mengalami vaginitis candida berulang dan mendapatkan terapi antijamur terus menerus (8). Pengobatan standar ini dianggap kurang efektif sehingga dibutuhkan terapi alternatif atau penyerta (*adjunctive*)(9,10).

Teripang, terutama *Stichopus hermanni* diketahui memiliki berbagai manfaat sebagai antijamur, antibakteri, antiinflamasi dan antioksidan(11,12). Manfaat sebagai anti jamur telah banyak

diteliti terutama dalam pengobatan oral candidiasis (13). Kemampuan dari ekstrak teripang emas dalam hambatan anti jamur diperkirakan dengan adanya kandungan saponin (glikosida triterpen)(14). Selain itu teripang juga dapat menurunkan beberapa aktivitas sitokin proinflamasi (15,16)

Berdasarkan fenomena yang dipaparkan pada paragraf sebelumnya, maka penelitian ini bertujuan untuk mengobservasi dan menganalisis pemberian ekstrak teripang emas (*S.hermanni*) pada profil penanda radang yaitu netrofil dan TNF- α menggunakan metode studi eksperimental pada mencit coba yang diinokulasi *C.albicans* intra vaginal, Tujuan lainnya yaitu untuk menentukan dosis yang paling efektif dalam menurunkan profil penanda radang (netrofil dan TNF- α). Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan acuan bagi penelitian yang mengeksplorasi *S.hermanni*. Selain hal itu jika hasil penelitian ini terbukti manfaat *S.hermanni* untuk terapi infeksi *C.albicans* maka dapat dilanjutkan untuk penelitian lebih lanjut sampai dengan dihasilkannya produk yang dapat digunakan masyarakat luas.

METODE

Penelitian eksperimental dengan tipe desain “*post test only control group design*”, karena pengukuran variabel yang diteliti dilakukan di fase akhir penelitian. Ekstrak teripang emas (*Sticopus hermanni*) menjadi bahan yang diuji dan pelarut yang digunakan dalam proses ekstrak adalah pelarut metanol.

Penelitian ini menggunakan 4 kelompok mencit BALB/c yang diinokulasi *C.albicans* yaitu kelompok kontrol (K-) yang tidak mendapatkan perlakuan

pemberian ekstrak teripang emas (*S.hermannii*). Kelompok perlakuan merupakan kelompok yang mendapat ekstrak *S.hermannii*, yang terdiri dari tiga grup meliputi : (1) P1, grup studi dengan 8,5 mg/kgBB ekstrak; (2) P2, grup studi dengan 17 mg/kgBB ekstrak; dan (3)P3, grup studi dengan 34mg/kgBB ekstrak. Penetapan dosis berdasarkan pada beberapa penelitian sebelumnya (13,17,18)

Penelitian dimulai dengan pemberian *C.albicans* intravagina dan dilakukan pengamatan kolonisasi *C.albicans* dan infiltrasi neutrofil pada kelompok yang diinfeksi (pada hari keempat). Kemudian dilakukan pemberian ekstrak teripang emas (*Stichopus hermannii*) pada kelompok perlakuan selama tujuh hari. Kemudian dilakukan pemeriksaan parameter yang diteliti yaitu jumlah Netrofil dan kadar TNF- α .

Semua tahapan penelitian diselenggarakan dilaboratorium anatomi-FKH, Universitas Airlangga-Surabaya, dan penelitian telah mendapatkan rekomendasi laik etik Komite etik FKH- Universitas Airlangga.

Inokulasi *C.albican* per vagina

Langkah pertama proses inokulasi mencit adalah penyuntikan intraperitoneal“*sesame oil*”, dengan dosis 100 μ l yang setara dengan kandungan 0,1-0,5 mg β -estradiol di area abdomen mencit (tiga hari sebelum inokulasi). Jarum dimasukkan sekitar 5 hingga 10 mm lateral ke kulit untuk meminimalkan kebocoran dari tempat injeksi.Injeksi diulang setiap minggu sekali.Inokulum disiapkan dengan cara menambahkan satu lingkaran penuh *C. albicans* blastoconidia dari subkultur pada SDA atau “*Sabouraud-DextroseAgar*” ke dalam 10 ml *Phytone-pepton*medium yang

dilengkapi dengan glukosa 0,1%.Campuran medium *Phytone-peptone* yang mengandung *C. albicans* diinkubasi selama 18 jam pada 25 ° C dalam bak air yang bergetar.Setelah inkubasi, kultur medium dikumpulkan ke dalam tabung kerucut 15 ml dan dicentrifuge pada 800 x G selama 5 menit. Pelet dicuci dua kali menggunakan PBS steril. Blastokonidia dihitung menggunakan hemositometer.Konsentrasi sel disesuaikan menjadi $2,5 \times 10^6$ / ml (atau konsentrasi inokulum yang diinginkan) dalam PBS steril. Mencit distabilkan dengan cara memegang pangkal ekor dengan dua jari dan mengangkat pinggul ke atas sehingga vagina menghadap ke arah pemeriksa. Suspensi inokulum diambil menggunakan pipet sebanyak 20 μ l (atau volume yang diinginkan tidak melebihi 20 μ l). Suspensi inokulum dimasukkan dengan cara memasukkan ujung pipet sekitar 5 mm ke dalam lumen vagina(19).

Pengambilan sampel cairan vagina mencit untuk pemeriksaan netrofil (PMN)

Mencit dilakukan anestesi menggunakan Ketamin. Mencit dipegang pada pangkal ekor dengan dua jari sehingga lubang vagina menjadi terbuka. Lumen vagina dibilas dengan menggunakan 100 μ l PBS steril dan dilakukan aspirasi berulang dengan ujung pipet. Cairan pembilasan dikumpulkan ke dalam tabung microcentrifuge(19).

Pemeriksaan jumlah netrofil (PMN)

Preparat basah dibuat dengan cara melakukan transfer 10 μ l cairan hasil pembilasan vagina ke kaca slide. Pemeriksaan netrofil (PMN) dilakukan dengan cara mewarnai fraksi seluler dari

cairan pembilasan. Jumlah netrofil diamati dengan mikroskop cahaya pada pembesaran 400-1000x (19).

Pengambilan sampel serum untuk pemeriksaan kadar TNF- α

Pada mencit dilakukan anestesi menggunakan Ketamin. Untuk pengambilan darah dilakukan pembedahan terlebih dahulu. Kemudian jarum ditusukkan langsung ke bagian jantung dan disedot perlahan. Darah yang didapat digunakan untuk keperluan pemeriksaan kadar TNF- α . Mencit kemudian dilakukan eutanasia(20).

Prosedur pengukuran kadar TNF- α menggunakan teknik ELISA.

Kadar TNF- α diperiksa secara kuantitatif dengan menggunakan ELISA dengan prinsip pemeriksaan sebagai berikut: persiapan semua bahan (reagen, larutan standar, dan larutan sampel) mengikuti instruksi pabrik dan semua bahan disimpan dalam suhu kamar. Proses pengujian juga dilaksanakan dalam suhu kamar. Proses pengujian menentukan total strip yang dibutuhkan dalam penelitian. Strip dimasukkan di tempat yang sesuai. Penyimpanan strip yang tidak digunakan harus dilakukan pada suhu tertentu yaitu dengan suhu 2-8°C. Larutan standar 50 μ l dimasukkan kedalam sumur (*well*) standar. Larutan sampel 40 μ l ditambahkan kedalam sumur (*well*) sampel dan kemudian ditambahkan antibodi sesuai pemeriksaan yang dikehendaki (TNF- α), dan untuk sisa larutan standar sebesar 10 μ l dimasukkan ke dalam *well* sampel. Dilakukan penambahan 50 μ l larutan streptavidin-HRP kedalam dua "*well*" yaitu "*well*" sampel dan standar. Penutupan "*plate*" menggunakan "*sealer*" dan dilanjutkan proses inkubasi selama satu

jam dengan suhu 37 °C. Setelah proses inkubasi selesai, dilanjutkan dengan pelepasan "*sealer*" dan berlanjut dengan pencucian "*plate*" sebanyak 5 kali menggunakan "*wash buffer*". Perendaman "*well*" dilakukan minimal 30 detik dan maksimal 1 menit setiap kali pencucian dan cairan yang digunakan untuk merendam adalah *wash buffer*. Kertas isap/handuk kertas digunakan untuk mengeringkan *plate*. Dalam setiap "*well*" dilakukan penambahan 50 μ l larutan substrat A dan 50 μ l substrat B. Tahap selanjutnya adalah penutupan kembali *plate* menggunakan *sealer* dengan durasi 10 menit dan suhu 37 °C di dalam ruangan gelap. Setelah itu dilakukan penambahan 50 μ l larutan *stop solution* ke dalam setiap *well* sampai terjadi perubahan warna biru menjadi berwarna kuning. Intensitas warna dihitung dengan *ELISA Reader* pada kerapatan optik (nilai OD) 450 nm selama 30 menit (21).

Pengambilan jaringan vagina untuk pemeriksaan netrofil (PMN)

Mencit dilakukan eutanasia, kemudian di punggungnya dan area selangkangan disterilkan dengan etanol 70%. Lubang kemih diangkat ke atas menggunakan tang sehingga lubang vagina terlihat. Sepasang tang melengkung dimasukkan ke dalam lumen vagina hingga lokasi serviks. Sambil mempertahankan cengkeraman kuat dengan forseps, dilakukan penarikan serviks melalui rongga vagina. Vagina dipotong mulai dari dasar pembukaan vagina. Serviks disingkirkan dari vagina menggunakan gunting bedah(19).

Pembuatan preparat histologi dengan pewarnaan hematoxilin eosin menggunakan

prosedur dari Slaoui dan Fiette (2011). Pengamatan preparat vagina mencit menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 100x untuk melihat infiltrasi sel radang (netrofil)(22).

Ekstraksi *Stichopus hermanni*

Stichopus hermanni berat 100-250 gram diambil dari perairan Sumenep Madura. Teripang dibersihkan, dipotong-potong dengan ukuran 3-10 cm, ditimbang berat basah setelah dikeringkan di rak pengering surya untuk sampel sampai terlihat kering (3-4 hari) untuk mengurangi kadar air. Sampel teripang dikeringkan, dipotong-potong \pm 1 cm, dilumatkan dalam blender. Penelitian ini menggunakan metode maserasi, cara ekstrak yang paling sering diaplikasikan karena mudah, efektif dan murah. Langkah awal metode maserasi adalah proses perendaman 250-gram bahan uji yang kering ke dalam 500 mL pelarut metanol pelarut methanol, dan harus dipastikan semua bahan yang diuji terendam. Proses perendaman dilakukan dalam suhu kamar dengan durasi 24 jam. Langkah berikut adalah penyaringan untuk pemisahan filtrat dan residunya menggunakan kertas saring, kemudian direndam lagi dengan 500 mL pelarut metanol selama 24 jam. Dilakukan penyaringan kedua dengan metode yang sama dengan penyaringan pertama, sehingga diperoleh filtrat dengan perbandingan sampel 250 gram / 1000 ml pelarut (1: 4 w / v). Filtrat metanol (polar) dilakukan homogenisasi dengan pelarut heksana (non-polar) dan 1.000 mL dilakukan dengan partisi corong pemisah, kemudian masing-masing lapisan pelarut filtrat metanol dan pelarut heksan dipisahkan. Filtrat metanol dilakukan homogenisasi kembali dengan

pelarut kloroform (semi-polar) dan 1.000 mL dilakukan dengan partisi funnel yang terpisah, kemudian masing-masing lapisan pelarut filtrat metanol dan pelarut kloroform dipisahkan. Langkah akhir adalah pemisahan filtrat dari pelarutnya untuk mendapatkan ekstrak, proses ini dilakukan dengan alat rotary evaporator (13).

Pemberian Ekstrak *Stichopus hermanni*

Semua kelompok perlakuan akan mendapatkan dosis ekstrak sesuai dengan besaran dosis yang ditetapkan pada sub bab sebelumnya. Proses pemberian ekstrak dilaksanakan dengan *feeding tube*(13). Pada hari ke 7 setelah pemberian perlakuan maka mencit dimatikan(23).

Analisis Data

Pemilihan uji statistik memperhatikan jenis data, uji normalitas dan homogenitas data yang diuji. Jika memenuhi syarat uji parametrik (data berdistribusi normal dan homogen), maka data diuji dengan analisis statistik uji beda parametrik. Tetapi jika syarat uji parametrik tidak terpenuhi maka akan digunakan uji komparasi non parametrik (Kruskal Wallis dan Mann Whitney).

HASIL

Data deskriptif pada profil neutofil dan TNF- α . Analisis deskriptif meliputi penyajian data nilai rata-rata dan standar deviasi profil netrofil dan TNF- α yang disajikan dalam tabel sebagai berikut :

Tabel 1. Data deskriptif profil netrofil & TNF- α

Grup		Netrofil	TNF- α
K-	R	2,33	424,1
	SD	0.53	68,6

P1	R	1,73	419,7
	SD	0.74	47,1
P2	R	1,40	150,9
	SD	0.74	55,8
P3	R	1,67	209,2
	SD	0,73	101,2

Keterangan :

R : rerata

SD : standar deviasi

K(-): Mencit BALB/c + injeksi estrogen subkutan (0.1 mg β -estradiol) + inokulasi *C.albicans* + placebo.

(P1): Mencit BALB/c + injeksi estrogen subkutan (0.1 mg β -estradiol) + inokulasi *C.albicans* + ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanni*) dosis 8,5 mg / kgBB peroral.

(P2): Mencit BALB/c + injeksi estrogen subkutan (0.1 mg β -estradiol) + inokulasi *C.albicans* + ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanni*) dosis 17 mg / kgBB peroral.

(P3): Mencit BALB/c + injeksi estrogen subkutan (0.1 mg β -estradiol) + inokulasi *C.albicans* + ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanni*) dosis 34 mg / kgBB peroral.

O(1-4) : Pengamatan pada kelompok K(-), (P1), (P2) dan (P3), dilihat jumlah netrofil dan kadar TNF- α

Hasil analisis uji normalitas data penelitian.

Penentuan uji yang digunakan dalam analisis statisti ditentukan oleh hasil uji normalitas yang tersaji dalam tabel sebagai berikut:

Tabel 2.Pengujian distribusi normalitas data studi

Variabel	Nilai p			
	K- (n = 6)	P1 (n = 6)	P2 (n = 6)	P3 (n = 6)
Netrofil	0,204	0,096	0,131	0,149
TNF-α	0,501	0,708	0,048	0,193

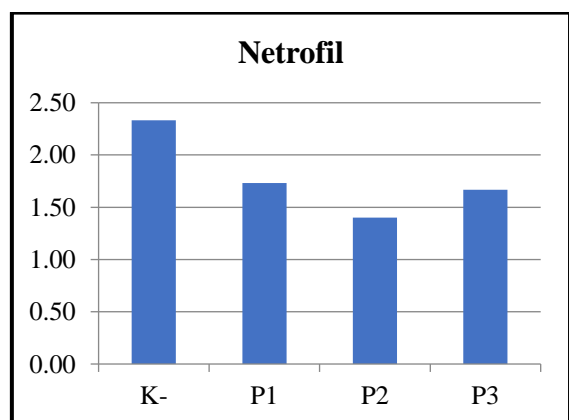
Hasil uji normalitas pada dua variabel penelitian menunjukkan bahwa profil netrofil berdistribusi normal (nilai $p > 0.05$), sehingga dilanjutkan dengan uji homogenitas. Profil TNF- α tidak berdistribusi normal sehingga perbedaan antar kelompok di uji menggunakan Kruskal Wallis.

Hasil pemeriksaan netrofil pada jaringan vagina mencit Balb/c.

Hasil uji homogenitas data netrofil menunjukkan data yang bersifat homogen ($p=0,82$; $p>0,05$). Karena syarat uji parametrik terpenuhi maka pada profil netrofil akan dilakukan uji beda menggunakan analisis parametrik(anova one-way). Hasil pengamatan dan pengukuran netrofil tersaji dalam tabel sebagai berikut:

Tabel 3.Hasil pengukuranprofilneutrofil

Grup	Rerata	SD	Nilai p
K-	2,33	0,53	0,156
P1	1,73	0,74	
P2	1,40	0,74	
P3	1,67	0,73	



Gambar 1. Data jumlah rata-rata sel netrofil pada jaringan vagina mencit BALB/c

Pengamatan profil netrofil baik pada data dalam tabel 3 dan gambar 1 tampak bahwa grup P2 memiliki profil netrofil terendah dibandingkan 3 kelompok lainnya. Namun secara statistik membuktikan hasil yang berbeda dimana penurunan netrofil antar kelompok tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan nilai p di atas nilai α yaitu $p = 0,156$.

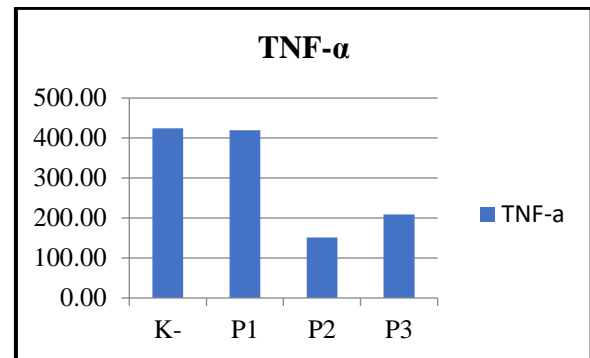
Hasil pemeriksaan ELISA profil TNF- α .

Hasil pengukuran profil TNF- α menggunakan metode ELISA pada sampel serum darah mencit BALB/c disajikan dalam tabel sebagai berikut:

Tabel 4. Uji analisis deskriptif & statistik profil TNF- α

Grup	Rerata	SD	Nilai p
K-	424,08	68,64	0,001
P1	419,75	47,05	
P2	150,89	55,79	
P3	209,19	101,22	

Hasil uji statistik membuktikan adanya beda yang signifikan pada profil TNF- α antar kelompok ($p < 0,05$), sehingga untuk menganalisis beda antara dua grup studi dilakukan uji Mann Whitney. Analisis uji beda dua grup studi "Mann Whitney" pada profil TNF- α menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara grup K- dengan grup P1; dan grup P2 dengan grup P3. Perbedaan signifikan tampak pada profil TNF- α grup K- dengan grup P2 dan P3; grup studi P1 dengan grup P2 dan P3.



Gambar 2. Rerata kadar TNF- α pada serum darah mencit BALB/c masing-masing kelompok.

Pada gambar 2. tampak penurunan tertinggi kadar TNF- α pada kelompok P2, diikuti kelompok P3 dan P1. Penurunan ini bermakna secara statistik (Tabel 4.).

DISKUSI

Aktivitas ekstrak *Stichopus hermanni* terhadap jumlah netrofil

Dari gambar 1. dan tabel 3. pemberian ekstrak teripang emas (*S.hermannii*) pada kelompok P2 dengan dosis 17 ml/kgBB dapat menekan jumlah netrofil dibandingkan kelompok K- (tanpa perlakuan), kelompok P1 (dosis 8,5 ml/kgBB) dan kelompok P3 (dosis 34 ml/kgBB), meskipun secara statistik perbedaan penurunan profil netrofil tidak signifikan ($p = 0,156; p > \alpha$). Hal ini menunjukkan efek teripang emas dalam menurunkan netrofil tergantung dari dosis yang diterima.

Penurunan ini dapat disebabkan adanya kemampuan teripang emas (*S.hermannii*) pada penghambatan *C.albicans* (efek anti jamur) dan efek anti inflamasi. Efek anti jamur pada penelitian sebelumnya kemungkinan karena teripang emas memiliki kandungan glikosida triterpen (saponin) (11,12). Dengan

hambatan pada *C.albicans* maka akan mengurangi paparan antigen pemicu rekrutmen netrofil. Selain itu teripang emas juga dapat mengurangi efek inflamasi dengan menghambat sitokin pro inflamasi, dimana dengan penurunan sitokin pro inflamasi ini akan mengurangi rekrutmen netrofil kedalam lumen vagina (5). Penelitian ini menunjukkan efek teripang emas dalam menurunkan netrofil tergantung dari dosis yang diterima.

Aktivitas ekstrak *Stichopus hermanni* terhadap kadar TNF- α

Dari gambar 2.dan tabel 4. Dan tabel 5. pemberian ekstrak teripang emas (*S.hermannii*) pada kelompok P2 dengan dosis 17 ml/kgBB dapat menekan sitokin proinflamasi TNF- α secara signifikan ($p=0,001$; $p<\alpha$).dibandingkan kelompok K- (tanpa perlakuan), kelompok P1 (dosis 8,5 ml/kgBB) dan kelompok P3 (dosis 34 ml/kgBB). Perbedaan ini terutama bila dibandingkan kelompok P2 (dosis 17 ml/kgBB) dengan kelompok K- (tanpa perlakuan) ($p=0,004$; $p<\alpha$) dan kelompok P1(dosis 8,5 ml/kgBB) ($p=0,004$; $p<\alpha$).

Penurunan kadar sitokin pro inflamasi TNF- α ini juga terkait dengan efek penurunan netrofil, dimana sel netrofil merupakan salah satu sel yang dapat memproduksi TNF- α . Terdapat beberapa sel lain yang mampu memproduksi sitokin pro inflamasi TNF- α contohnya adalah sel dendritik, sel makrofag, serta sel mukosa vagina sendiri (1,5). Disini kemungkinan dikarenakan teripang emas juga memiliki efek dalam anti inflamasi dan perbaikan mukosa jaringan (11,12). Dengan adanya efek anti inflamasi maka akan menurunkan sitokin-sitokin pro inflamasi, demikian juga efek perbaikan mukosa akan mengurangi

produksi sitokin-sitokin pro inflamasi. Seperti pada efek terhadap netrofil, penelitian ini menunjukkan efek teripang emas dalam menurunkan kadar sitokin pro inflamasi TNF- α tergantung dari dosis yang diterima.

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak *Stichopus hermanni* mampu menurunkan jumlah netrofil, dimana dosis 17 mg/kgBB yang paling banyak menurunkan jumlah netrofil.

Pemberian ekstrak *Stichopus hermanni* mampu menurunkan kadar TNF- α , dimana dosis 17 mg/kgBB paling besar menurunkan kadar TNF- α .

SARAN

Penelitian memiliki berbagai keterbatasan meliputi: kontrol yang digunakan hanya kontrol negatif saja, sehingga ke depan dapat ditambahkan dengan kontrol positif yang menerima terapi standard untuk infeksi *C.albicans*.Dosis ekstrak yang digunakan juga hanya 3 jenis dosis, sehingga belum menggambarkan dosis yang efektif dan efisien untuk kasus infeksi *C.albicans*. Parameter keberhasilan terapi diukur berdasarkan dua variabel yaitu TNF alfa dan jumlah netrofil, sehingga ke depan dapat ditambahkan marker lain yang dapat menggambarkan keberhasilan terpai dengan lebih akurat dan jelas.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti ingin menyampaikan rasa terimakasih yang mendalam pada: FK Universitas Hang Tuah yang telah membiayai pelaksanaan penelitian dan publikasi artikel. Peneliti juga mengucapkan terimakasih atas bantuan sarana – prasarana yang telah disediakan oleh Lab. Anatomi

FKH Universitas Airlangga sehingga penelitian dapat diselesaikan dengan *timeline* kegiatan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cassone, A., 2014. Vulvovaginal *Candida albicans* infections: pathogenesis, immunity and vaccine prospects. *BJOG*.122(6):785-794. doi:10.1111/1471-0528.12994
2. Yano J, Peters BM, Noverr MC, Fidel PL Jr. Novel Mechanism behind the Immunopathogenesis of Vulvovaginal Candidiasis: "Neutrophil Anergy". *Infect Immun*. 2018 Feb 20;86(3):e00684-17. doi: 10.1128/IAI.00684-17. PMID: 29203543; PMCID: PMC5820946.
3. Paladine, H.L., Desai, U.A., 2018. Vaginitis: diagnosis and treatment. *Am Fam Physician*. 97(5):321-9
4. Peters, B.M., Palmer, G.E., Nash, A.K., Lilly, E.A., Fidel, P.L. Jr., Noverr, M.C., 2014. Fungal morphogenetic pathways are required for the hallmark inflammatory response during *Candida albicans* vaginitis. *Infect Immun*. 82(2):532-543. doi:10.1128/IAI.01417-13
5. Kalia, N., Singh, J., Kaur, M., 2019. Immunopathology of Recurrent Vulvovaginal Infections: New Aspects and Research Directions. *Front. Immunol*. 10:2034. doi: 10.3389/fimmu.2019.02034
6. Swidergall, M., 2019. *Candida albicans* at Host Barrier Sites: Pattern Recognition Receptors and Beyond. *Pathogens* , 8, 40.
7. Denning, D.W., Kneale, M., Sobel, J.D., Richardson, R.R., 2018. Global burden of recurrent vulvovaginal candidiasis: a systematic review. *Lancet Infect Dis*. 18:e339-47. 10.1016/S1473-3099(18)30103-8
8. Willems, H.M.E., Ahmed, S.S., Liu, J., Xu, Z., Peters, B.M., 2020. Vulvovaginal Candidiasis: A Current Understanding and Burning Questions. *J. Fungi*, 6, 27
9. Felix TC, de Brito Röder DVD, Dos Santos Pedroso R. Alternative and complementary therapies for vulvovaginal candidiasis. *Folia Microbiol (Praha)*. 2019 Mar;64(2):133-141. doi: 10.1007/s12223-018-0652-x. Epub 2018 Sep 30. PMID: 30269301.
10. Davidson, L., Netea, M.G., Kullberg, B.J., 2018. Patient Susceptibility to Candidiasis-A Potential for Adjunctive Immunotherapy. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 4(1), 9. <https://doi.org/10.3390/jof4010009>
11. Bahrami, Y., Franco, C.M., 2016. Acetylated Triterpene Glycosides and Their Biological Activity from Holothuroidea Reported in the Past Six Decades. *Mar Drugs*;14(8):147. doi:10.3390/md14080147
12. Bordbar, S., Anwar, F., Saari, N., 2011. High-value components and bioactives from sea cucumbers for functional foods—a review. *Mar Drugs*, 9(10):1761-805.
13. Revianti, S., Parisihni, K., 2016. Potency of *Stichopus hermanni* extract as oral candidiasis treatment on epithelial rat tongue. *Dent. J. (Majalah Kedokteran Gigi)*. 49(1): 10-16
14. Coleman, J.J., Okoli, I., Tegos, G.P., Holson, E.B., Wagner, F.F., Hamblin, M.R., Mylonakis, E., 2010. Characterization of plant-derived saponin natural products against *Candida albicans*. *ACS Chem Biol*. 5(3):321-332. doi:10.1021/cb900243b
15. Song, Y., Jin, S. J., Cui, L. H., Ji, X. J., Yang, F. G., 2013. Immunomodulatory effect of *Stichopus japonicus* acid mucopolysaccharide on experimental hepatocellular carcinoma in rats. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 18(6), 7179-7193. <https://doi.org/10.3390/molecules18067179>
16. Kareh, M., El Nahas, R., Al-Aaraj, L., Al-Ghadban, S., Naser Al Deen, N., Saliba, N., El-Sabban, M., Talhouk, R., 2018. Anti-proliferative and anti-inflammatory activities of the sea cucumber *Holothuria polii* aqueous extract. *SAGE open medicine*, 6, 2050312118809541. <https://doi.org/10.1177/2050312118809541>
17. Parisihni, K., Revianti, S., Pringgienes, D., 2012. Daya Anti Jamur Ekstrak Teripang Emas (*Stichopus hermanni*) terhadap *Candida albicans* in Vivo. Prosiding Peluang dan tantangan Obat Tradisional dalam Pelayanan Kesehatan Formal 2012.
18. Revianti, S., Soetjipto, Rahayu, R.P., Parisihni, K., 2016. Protective role of *Sticophus hermannii* ethanol extract supplementation to oxidative stress and oral hyperkeratosis in smoking exposed rats. *International Journal of ChemTech Research*, 2016,9(5),pp 408-417.
19. Yano, J., Fidel, P.L., Jr., 2011. Protocols for vaginal inoculation and sample collection in the experimental mouse model of *Candida* vaginitis. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, (58), 3382. <https://doi.org/10.3791/3382>
20. Nugroho, R.A., 2018. Mengenal Mencit Sebagai Hewan Laboratorium. *Mulawarman University Press*. Samarinda. Hal.76
21. Setianingsih, H., 2018. Mekanisme Perbaikan Disfungsi Endotel Pasca Pemberian Oksigen Hiperbarik Pada Hewan Coba Terpapar Diet Aterogenik. Disertasi, Universitas Airlangga .

22. Slaoui, M., Fiette, L., 2011. Histopathology procedures: from tissue sampling to histopathological evaluation. *Methods Mol. Biol.* 691, 69–82.
23. Ollu, S., Pandarangga, P., Ndaong, N., 2019. Persembuhan luka incisi kulit mencit (*Mus musculus*) dengan pemberian ekstrak etanol teripang getah (*Holothuria leucospilota*). *Jurnal Veteriner Nusantara*, 2(1), 60-69. Retrieved from <http://ejurnal.undana.ac.id/jvn/article/view/1096>