

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

Berdasarkan hasil uji statistik menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap imunoekspresi COX-2 pada trakea, $p = 0,4$ ($p > 0,05$) (Lampiran 4). Hal ini ditunjukkan oleh nilai rerata dan standar deviasi pada **Tabel 4.1**, dimana semua kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3) memiliki superskrip yang sama (a), mengindikasikan tidak ada perbedaan nyata antar kelompok.

Ekspresi COX-2 justru menunjukkan hasil yang tidak konsisten terhadap dosis. Kelompok P1 (kontrol) menunjukkan ekspresi COX-2 sebesar $8,59 \pm 1,19$ (%), sedangkan kelompok P2 (dosis sedang) meningkat menjadi $9,00 \pm 2,57$. Kelompok P3 (dosis tinggi), ekspresi COX-2 menurun menjadi $7,67 \pm 1,00$. Ini menunjukkan bahwa peningkatan dosis fermentasi buah berenuk tidak berbanding lurus dengan peningkatan ekspresi COX-2, bahkan cenderung menurun pada dosis tertinggi (Tabel 4.1).

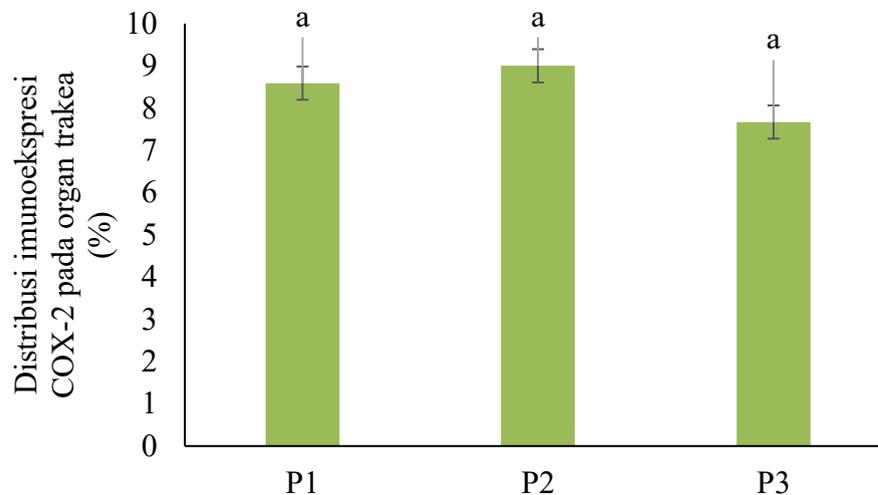
Tabel 4.1. Rerata dan standar deviasi kadar COX-2 pada trakea tikus pasca perlakuan

Kelompok	Rerata \pm standar deviasi (%)
P1	$8,59 \pm 1,19^a$
P2	$9,00 \pm 2,57^a$
P3	$7,67 \pm 1,00^a$

^a superskrip yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata ($p > 0,05$).

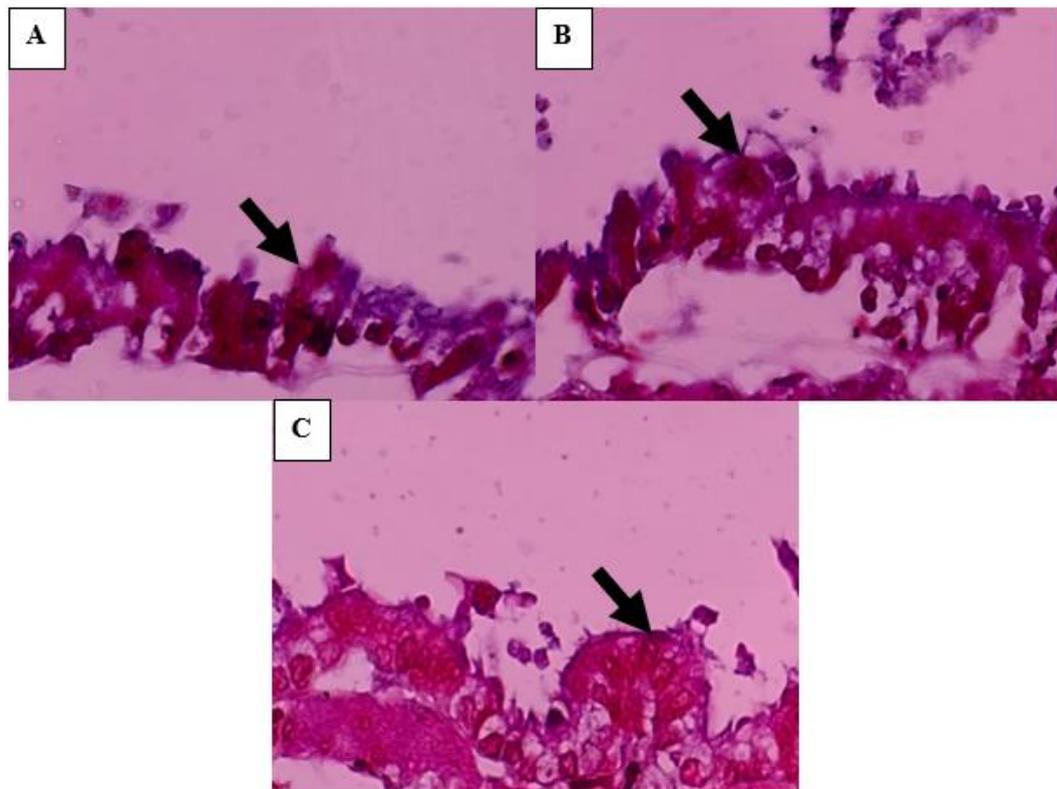
Grafik pada **Gambar 4.1** menunjukkan distribusi imunoekspresi COX-2 pada organ trakea tikus setelah diberikan perlakuan pada tiga kelompok, yaitu P1, P2, dan P3. Berdasarkan hasil analisis, ketiga kelompok perlakuan menunjukkan kadar imunoekspresi COX-2 yang relatif tinggi dan tidak terdapat perbedaan yang

nyata secara statistik. Hal ini ditunjukkan dengan penggunaan superskrip yang sama (a) pada semua kelompok. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa perlakuan yang diberikan pada ketiga kelompok tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap kadar imunoekspresi COX-2 pada organ trakea tikus (**Gambar 4.1**).



Gambar 4.1. Grafik kadar COX-2 pada organ trakea tikus pasca perlakuan. ^a superskrip yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata ($p > 0,05$).

Ekspresi COX-2 tampak terlokalisasi pada sel epitel mukosa trakea, yang ditandai dengan pewarnaan merah akibat penyerapan kromogen AEC (panah hitam) (**Gambar 4.2**). Sel-sel yang menunjukkan imunoreaktivitas positif terhadap COX-2 tampak tersebar di sepanjang lapisan epitel, menunjukkan bahwa aktivitas enzim ini meningkat di area permukaan mukosa saluran napas pasca perlakuan. Lokalisasi ini mengindikasikan peran COX-2 dalam respons inflamasi lokal di saluran napas.



Gambar 4.2. Imunoreaktivitas COX-2 pada trakea tikus. A) imunoreaktivitas COX-2 pada trakea kelompok P1, B) kelompok P2, C) kelompok P3. Imunoreaktivitas COX-2 terbentuk pada sel epitel mukosa (anak panah) trakea yang ditunjukkan oleh sel yang menyerap kromogen AEC. IHK, antibodi anti-COX-2, AEC, 400 \times .

4.2 Pembahasan

Perbandingan antara Kelompok P1 (kontrol) memiliki ekspresi COX-2 sebesar $8,59 \pm 1,19\%$, yang kemudian meningkat sedikit pada kelompok P2 (dosis sedang) menjadi $9,00 \pm 2,57\%$. Namun, pada kelompok P3 (dosis tinggi), ekspresi COX-2 justru menurun menjadi $7,67 \pm 1,00\%$. Dibandingkan dengan P1, P2 mengalami sedikit peningkatan, sedangkan P3 mengalami penurunan. Jika dibandingkan antara P2 dan P3, terlihat adanya penurunan ekspresi meskipun dosis tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa hubungan antara dosis dan ekspresi COX-2 tidak bersifat linear. Tidak adanya perubahan signifikan antara kelompok P1, P2

dan P3 kemungkinan besar disebabkan oleh variabilitas biologis antar individu tikus, waktu perlakuan yang masih tergolong singkat, serta kemungkinan dosis senyawa aktif dari hasil fermentasi belum mencapai ambang efektif secara farmakologis. Selain itu, karena ekspresi COX-2 bersifat dinamis, faktor lingkungan internal seperti stres oksidatif dan status imun tikus juga dapat memengaruhi hasil yang diperoleh. Ekspresi COX-2 justru menunjukkan hasil yang tidak konsisten terhadap dosis. (Liu *et al.*, 2016).

Analgesik adalah kelompok obat yang digunakan untuk mengurangi atau menghilangkan rasa nyeri tanpa menyebabkan hilangnya kesadaran. Salah satu cara utama analgesik bekerja adalah dengan memengaruhi enzim yang siklooksigenase (COX) terutama COX-2 (Kresnadi dan Mulyo, 2016). Siklooksigenase-2 berperan penting dalam sintesis prostaglandin, yaitu mediator kimia yang menimbulkan nyeri, inflamasi, dan demam. Dalam konteks farmakologi modern, *non-steroidal anti-inflammatory drugs* (NSAID) seperti *ibuprofen* dan *celecoxib* bekerja dengan menekan aktivitas COX-2, sehingga mengurangi produksi prostaglandin E2 (PGE2) yang berperan dalam menyebabkan inflamasi dan nyeri (Ahmadi *et al.*, 2022).

Fermentasi buah berenuk (*Crescentia cujete* L.) merupakan pendekatan terapi alternatif yang menjanjikan untuk mengatasi penyakit yang melibatkan proses inflamasi, dengan mekanisme kerja yang menyerupai *non-steroidal anti-inflammatory drugs* (NSAID), terutama sebagai kandidat NSAID selektif terhadap enzim COX-2 (Kresnadi dan Mulyo, 2016). Buah ini diketahui mengandung berbagai metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, dan fenol yang telah terbukti secara ilmiah memiliki aktivitas antiinflamasi, antioksidan, dan

antibakteri (Kusuma *et al.*, 2013). Proses fermentasi tidak hanya meningkatkan bioavailabilitas dan kestabilan senyawa aktif tersebut, tetapi juga menghasilkan metabolit baru seperti asam organik dan enzim yang memberikan efek terapeutik tambahan (Wilujeng *et al.*, 2023). Fermentasi buah berenergi mengandung senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan fenol. Fermentasi ini juga dapat menjadi obat anti-inflamasi dan juga sebagai antibiotik dalam mengobati penyakit (Ejelonu *et al.*, 2011).

Fermentasi buah berenergi menunjukkan potensi sebagai agen imunomodulator melalui penurunan ekspresi biomarker inflamasi, seperti COX-2 yang merupakan enzim kunci dalam produksi prostaglandin pro-inflamasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tikus *Sprague Dawley* yang diberikan fermentasi buah berenergi dengan dosis tinggi mengalami penurunan kadar COX-2 di jaringan trakea, meskipun secara statistik tidak signifikan, hal ini mengindikasikan adanya efek imunomodulasi yang mungkin berasal dari senyawa bioaktif hasil fermentasi seperti flavonoid, asam organik, dan enzim pencernaan (Wilujeng *et al.*, 2023).

Fermentasi buah berenergi mampu mengubah imunoekspresi COX-2 karena proses ini menghasilkan senyawa bioaktif baru yang memiliki aktivitas imunomodulator dan anti-inflamasi (Prakoso *et al.*, 2024). Selama fermentasi, mikroorganisme seperti *Lactobacillus spp.* dan *Saccharomyces cerevisiae* memetabolisme senyawa polifenol kompleks menjadi bentuk yang lebih sederhana dan lebih mudah diserap tubuh, seperti flavonoid aglikon, asam fenolat, dan asam organik (Liu *et al.*, 2024). Senyawa-senyawa ini kemudian dapat memodulasi jalur pensinyalan inflamasi, termasuk menurunkan ekspresi gen proinflamasi seperti

COX-2 melalui hambatan terhadap aktivasi faktor transkripsi NF- κ B dan penurunan pelepasan sitokin seperti IL-1 β dan TNF- α (Husna *et al.*, 2022). Buah berenuk merupakan salah satu alternatif terapi herbal yang memiliki khasiat *anti-inflamasi*. Buah ini mengandung beberapa komponen biokimia, seperti tanin, saponin, alfa-tokoferol, glikosida, asam askorbat, dan apigenin (Das *et al.*, 2014).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, fermentasi buah berenuk menunjukkan potensi sebagai agen terapi alternatif dalam modifikasi respons inflamasi, khususnya melalui penekanan kadar enzim siklooksigenase-2 (COX-2) pada trakea tikus. Meskipun secara statistik tidak ditemukan perbedaan yang signifikan, kecenderungan penurunan kadar COX-2 pada dosis tinggi mengindikasikan adanya efek biologis yang layak untuk ditelusuri lebih lanjut. Temuan ini mendukung kemungkinan bahwa senyawa aktif hasil fermentasi, seperti flavonoid dan asam organik, dapat memberikan efek antiinflamasi melalui mekanisme selektif terhadap COX-2. Dengan demikian, fermentasi buah berenuk dapat dipertimbangkan sebagai kandidat bahan alami yang menjanjikan untuk pengembangan terapi antiinflamasi yang lebih aman dan spesifik, serta membuka peluang riset lanjutan mengenai aplikasi klinis dan veteriner berbasis tanaman obat lokal.