Jurnal Sain Veteriner, Vol. 44. No. 1. April 2026, Hal. 34-44
DOI: 10.22146/jsv.107607
ISSN 0126-0421 (Print), ISSN 2407-3733 (Online)
Tersedia online di https://jurnal.ugm.ac.id/jsv

Efek Preventif Nanoemulsi Akar *Arctium lappa* L. terhadap Ekspresi TNF-α Ginjal Tikus Model Sepsis yang Diinduksi Bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*

Preventive Effect of s Root Nanoemulsion of Arctium lappa L. on Renal TNF-A Expression in a Rat Model of Sepsis Induced by Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus

*0*Imam Agus Faizal[1], Yusuf Eko Nugroho[1], Rahma Shifa Fauziah[1], Frisca Dewi Yunadi[2], Mika Tri Kumala Swandari[3]

[-1] Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Farmasi Sains dan Teknologi, Universitas Al Irsyad Cilacap, Cilacap, Jawa Tengah, Indonesia
[2]Program Studi Pendidikan Profesi Bidan, Fakultas Ilmu Kesehatan,Universitas Al Irsyad Cilacap, Cilacap, Jawa Tengah, Indonesia
[3]Program Studi Pendidikan Profesi Apoteker, Fakultas Farmasi Sains dan Teknologi, Universitas Al-Irsyad Cilacap, Universitas Al Irsyad Cilacap, Cilacap, Jawa Tengah, Indonesia

Naskah diterima: 7 Juni 2025, direvisi: 13 November 2025, disetujui: 26 April 2026

Abstract

Sepsis caused by infection with *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (*MRSA*) is an important contributor to acute kidney injury, partly through increased production of proinflammatory cytokines such as *tumor necrosis factor-α* (*TNF-α*). This study aimed to evaluate the preventive effect of a nanoemulsion of *Arctium lappa* L. root on renal *TNF-α* expression in male Wistar rats (*Rattus norvegicus*) with *MRSA*-induced sepsis. Twenty rats were randomly allocated into five groups (four rats per group): K1, negative control (2 ml aquadest orally); K2, positive control (2 ml gentamicin orally); and K3, K4, and K5, which received *A. lappa* L. root nanoemulsion orally at doses of 150, 300, and 450 mg/kg BW, respectively, for 14 days. All groups were then injected intraperitoneally with 2 ml *MRSA* suspension adjusted to a turbidity equivalent to 0.5 McFarland. Kidneys were fixed in 10% formalin and examined histopathologically and by *immunohistochemistry* (*IHC*) using anti–*TNF-α* antibody; expression was quantified as the percentage of tubular area showing brown staining. Kruskal–Wallis analysis revealed significant differences among groups ($p < 0.05$), and Dunn's post hoc test with Bonferroni correction showed that *TNF-α* expression in K2–K5 was significantly higher than in K1, whereas no significant differences were observed among K2, K3, K4, and K5. The 450 mg/kg BW dose tended to reduce the percentage of *TNF-α*-positive area and improve renal histopathology compared with other sepsis groups. In conclusion, *Arctium lappa* L. root nanoemulsion shows potential as a preventive immunomodulatory agent supporting renal protection in *MRSA*-induced sepsis, although its efficacy requires confirmation in further studies.

Keywords: *Arctium lappa L.; kidney; methicillin-resistant Staphylococcus aureus; nanoemulsion; TNF-α*

Abstrak

Sepsis akibat infeksi *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (*MRSA*) merupakan penyebab penting cedera ginjal akut, antara lain melalui peningkatan sitokin proinflamasi seperti *tumor necrosis factor-α* (*TNF-α*). Penelitian ini bertujuan mengevaluasi pengaruh preventif nanoemulsi akar *Arctium lappa* L. terhadap ekspresi *TNF-α* ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar yang diinduksi sepsis *MRSA*. Sebanyak 20 ekor tikus dibagi acak menjadi lima kelompok (masing-masing 4 ekor): K1 kontrol negatif (akuades 2 ml peroral), K2 kontrol positif (gentamisin 2 ml peroral), K3, K4, dan K5 masing-masing mendapat nanoemulsi akar *A. lappa* L. dosis 150, 300, dan 450 mg/kg BB peroral selama 14 hari. Seluruh kelompok kemudian diinjeksi suspensi

MRSA 2 ml intraperitoneal dengan kekeruhan setara McFarland 0,5. Ginjal difiksasi dalam formalin 10% dan diperiksa histopatologi serta pewarnaan *immunohistochemistry* (*IHC*) anti–*TNF-α*; ekspresi dinyatakan sebagai persentase luas area tubulus ginjal berwarna cokelat. Analisis menggunakan Jeffreys's Amazing Statistics Program (JASP) pada uji Kruskal–Wallis menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok ($p < 0,05$), dan uji Dunn dengan koreksi Bonferroni memperlihatkan bahwa K2–K5 memiliki ekspresi *TNF-α* secara signifikan lebih tinggi dibanding K1, sedangkan antar K2, K3, K4, dan K5 tidak berbeda bermakna. Dosis 450 mg/kg BB menunjukkan kecenderungan penurunan persentase area positif *TNF-α* dan perbaikan gambaran histopatologi ginjal dibanding kelompok sepsis lain. Disimpulkan bahwa nanoemulsi akar *Arctium lappa* L. berpotensi sebagai imunomodulator preventif yang mendukung perlindungan ginjal pada sepsis yang diinduksi *MRSA*, meskipun efektivitasnya masih perlu dikonfirmasi melalui penelitian lanjutan.

Kata kunci: *Arctium lappa* L.; ginjal; *methicillin-resistant Staphylococcus aureus***;** nanoemulsi; *TNF-α*

Pendahuluan

Tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) merupakan sitokin proinflamasi pleiotropik yang berperan penting dalam pengaturan respons imun bawaan dan adaptif. Sitokin ini diproduksi oleh berbagai jenis sel imun dan non-imun, terutama makrofag, monosit, limfosit T, sel dendritik, fibroblas, serta sel endotel sebagai respons terhadap infeksi, kerusakan jaringan, atau rangsangan inflamasi lainnya. TNF-α berfungsi menginisiasi dan memperkuat proses inflamasi melalui mekanisme seperti aktivasi dan perekrutan leukosit, peningkatan suhu tubuh, respon fase akut, diferensiasi sel, proliferasi, serta regulasi apoptosis, yang dimediasi melalui jalur pensinyalan utama seperti *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cell* (NF-κB) dan *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) (Bradley, 2008; Parameswaranet *et al.,* 2010) Pada kondisi infeksi bakteri termasuk *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) peningkatan kadar TNF-α menjadi indikator penting terjadinya inflamasi sistemik dan kerusakan organ, sehingga biomarker ini kerap digunakan dalam model hewan sepsis untuk menilai tingkat keparahan respons inflamasi (Monaghan *et al.,* 2018). TNF-α berperan dalam berbagai proses selama fase peradangan, seperti meningkatkan kecenderungan pembekuan darah, merangsang pelepasan molekul adhesi pada sel-sel leukosit, mengaktivasi sel endotel, serta memicu sitokin dan faktor pertumbuhan yang berperan dalam modulasi aktivitas makrofag dan pengaturan respons imun jaringan. Selain itu, TNF-α juga berfungsi positif dengan mengatur respons imun terhadap infeksi bakteri, virus, jamur, dan parasit. (Supit *et al.,* 2015)

Arctium lappa L. (*A. lappa* L.) juga dikenal sebagai burdock nama lainnya merupakan jenis tanaman herbal populer yang dapat dikonsumsi yang digunakan dalam pengobatan tradisional Tiongkok di Asia Timur dan di negara lain untuk tujuan terapeutik selama ratusan tahun (Wigati *et al.,* 2024). Bagian utama *A. lappa* L. untuk tujuan pengobatan adalah akarnya (Wu *et al.,* 2020). Beragam studi *in vitro* dan *in vivo* telah mengonfirmasi bahwa A. lappa L. beserta metabolit bioaktifnya memiliki spektrum aktivitas farmakologis, meliputi antimikroba, antioksidan, antikanker, antidiabetes, antialergi, hepatoprotektif, neuroprotektif dan antiinflamasi. (Faizal, Puspodewi, *et al.,* 2024). Polisakarida yang larut dalam alkali dari akar *A. lappa* L. menunjukkan aktivitas anti-inflamasi dengan mengurangi disregulasi sitokin inflamasi dan kerusakan oksidatif. Polisakarida larut air lain yang diekstraksi dari akar *A. lappa* L. menunjukkan efek anti-inflamasi dengan mengakomodasi tingkat sitokin inflamasi dalam makrofag dan serum tikus (Yosri *et al.,* 2023)

Salah satu kondisi medis serius yang sering ditemukan di ruang perawatan intensif adalah sepsis. Dalam kondisi syok septik, reaksi tubuh terhadap infeksi dapat berkembang menjadi gangguan fungsi organ, dengan tingkat kematian yang berkisar antara 35% hingga 50%. Salah satu faktor utama terjadinya cedera ginjal akut pada pasien dengan kondisi kritis adalah sepsis, yang merupakan salah satu organ yang paling terpengaruh. Pasien sepsis dengan cedera ginjal akut juga dua kali lebih mungkin meninggal daripada pasien sepsis tanpa cedera ginjal akut (Savitri *et al.,* 2023). Penyebab sepsis diantaranya disebabkan oleh infeksi bakteri gram negatif yang berkisar 30-80%, bakteri gram positif berkisar 20-40%. Peptidoglikan yang terdapat pada lapisan dinding sel bakteri gram positif mengandung polisakarida, enzim ekstraseluler, dan toksin yang dapat menyebabkan reaksi kekebalan yang mirip dengan lipopolisakarida (LPS) (Hudriyah *et al.,* 2023)

Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) merupakan strain dari *Staphylococcus aureus* yang telah mengalami mutasi genetik, menjadikannya kebal terhadap methicillin serta beberapa antibiotik lainnya.. Elemen mobile genetik yang disebut *Staphylococcal cassette chromosome mec* (*SSCmec*) dimasukkan ke dalam kromosom *Staphylococcus aureus*, yang menghasilkan kekebalan ini (Pristianingrum *et al.,* 2021). Bakteri *MRSA* memiliki kemampuan untuk menghasilkan biofilm, toksin, dan superantigen, yang memungkinkan mereka menghindari deteksi oleh sistem kekebalan tubuh. Selain itu, bakteri ini dapat melindungi dirinya dari kerusakan akibat antibiotik melalui transfer *SSCmec*, yang menghasilkan perlindungan terhadap antibiotik berbasis methicillin. Infeksi *Staphylococcus aureus* tipe ini cenderung semakin parah jika terjadi pada kulit yang terluka atau tidak utuh. (Sayogo *et al.,* 2017)

Materi dan Metode

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Teknologi dan Sains di Universitas Al-Irsyad Cilacap. Penelitian ini, telah mendapat perizinan dari Komite Etik UNAIC (No. 2084/280/03.6.1). Alat yang dibutuhkan pada penelitian ini yaitu *blender*, ayakan, corong kaca, batang pengaduk, gelas beaker 500 ml, gelas ukur, mikropipet, tabung rekasi, sonde, skapel, gunting, jarum, *magnetic stirrer, object glass,* mikroskop, *tissue processor, cassete tissue, waterbath, autoclave,* inkubator.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi akar *Arctium lappa* L. kering tersertifikasi BioBest Co., Ltd. Taichung, Taiwan. Aquadest *(Water One), Tween* 80, PEG 400, formalin 10% *(Quimiex), xylol,* serta etanol bertingkat 70%, 80%, 90%, dan etanol absolut *(Onemed).* Larutan natrium klorida fisiologis digunakan untuk pembuatan suspensi bakteri. Media *Blood Agar Plate (BAP)* digunakan untuk peremajaan isolat sebelum proses induksi. Selain itu, larutan H_2SO_4 1%, $BaCl_2$ 1%, dan BNF 10% digunakan dalam pembuatan standar kekeruhan *McFarland.* Isolat bakteri MRSA yang digunakan merupakan kultur murni *Staphylococcus aureus* resisten metisilin yang telah dikarakterisasi berdasarkan uji katalase, koagulase, dan resistensi oksasilin. Isolat ini mengacu pada standar karakter fenotip *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 dan diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Jenderal Soedirman (UNSOED). Hewan coba berupa tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar, dengan rentang usia 3–4 bulan dan berat 150–250 gram, yang diperoleh dari peternak hewan laboratorium tersertifikasi di Fakultas Kedokteran UNSOED. Pewarnaan imunohistokimia, digunakan antibodi primer monoklonal anti–TNF-α *(rabbit monoclonal, clone* EP1125) dari Abcam (UK; katalog ab9739). Antibodi sekunder yang digunakan merupakan antibodi terkonjugasi HRP yang termasuk dalam Millipore IHC DAB Kit (Cat. No. DAB500). Kit ini juga menyediakan larutan penghambat peroksidase endogen, larutan *blocking background,* reagen chromogen, serta substrat DAB sebagai komponen visualisasi utama.

Pembuatan ekstrak diawali dengan penyiapan simplisia akar *A. lappa* L. lalu dikeringkan di bawah sinar matahari hingga mencapai kekeringan optimal, kemudian dihaluskan menggunakan blender dan diayak sampai diperoleh serbuk halus (Nuraini *et al.,* 2025). Sebanyak 600 gram serbuk dimaserasi dengan 2 liter etanol 96% dan disimpan selama tiga hari sambil diaduk secara berkala serta dihindarkan dari paparan cahaya langsung. Maserat dipisahkan melalui penyaringan, sedangkan ampasnya diekstraksi ulang melalui maserasi kedua menggunakan 1 liter etanol 96% selama satu hari. Maserat gabungan diuapkan menggunakan evaporator hingga diperoleh ekstrak pekat akar *A. lappa* L. (Alifah *et al.,* 2023).

Pembuatan nanoemulsi dilakukan menggunakan formulasi modifikasi dengan komposisi sebanyak 0,9 gram ekstrak akar *A. lappa* L. ditambahkan ke dalam campuran Tween 80 sebanyak 6 ml, PEG 400 sebanyak 1 ml, serta minyak ikan cucut botol sebanyak 1 ml, kemudian ditambah aquadest *quantum satis* untuk mencapai volume akhir 100 mililiter. Campuran tersebut dihomogenkan menggunakan *homogenizer* bertekanan tinggi hingga terbentuk nanoemulsi yang stabil dan homogen. Sebanyak 5 mililiter aquadest ditambahkan kembali untuk memastikan konsistensi viskositas sediaan. Karakteristik nanoemulsi, termasuk potensi zeta (menggunakan mode *electrophoretic light scattering*, atau *Particle Size Analyzer* (Penganalisis Ukuran Partikel) dari aplikasi *Design Expert*® versi 10.0.1.0) telah ditetapkan melalui penelitian terdahulu sehingga tidak dilakukan pengukuran maka sebagai acuan dalam penelitian ini (Putri Az-Zahra *et al.,* 2022).

Pembuatan suspensi bakteri diawali dengan penyiapan larutan standar kekeruhan *McFarland* 0,5 yang dibuat melalui pencampuran 9,95 ml

larutan H_2SO_4 1% dan 0,05 ml larutan $BaCl_2$ 1% hingga mencapai tingkat kekeruhan sesuai standar yang berlaku (Rochmah *et al.*, 2021). Isolat MRSA diperemajakan pada media *Mannitol Salt Agar* (MSA) dan dikonfirmasi sebagai MRSA berdasarkan karakter fenotipik khas, meliputi pertumbuhan selektif pada MSA, uji katalase, uji koagulase, serta resistensi terhadap oksasilin sesuai prosedur standar kultur bakteri. Satu koloni bakteri yang telah terkonfirmasi diambil secara aseptik menggunakan ose steril dan disuspensikan ke dalam 5 ml larutan natrium klorida steril hingga kekeruhannya setara dengan standar *McFarland* 0,5 (Ariami *et al.*, 2017).

Perlakuan terhadap hewan uji dilakukan setelah masa aklimatisasi selama tujuh hari. Hewan uji berupa tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar berjumlah 20 ekor, berusia 3–4 bulan, dengan berat badan 150–250 gram. Hewan dibagi menjadi lima kelompok, masing-masing empat ekor. Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih *(Rattus norvegicus)* strain Wistar jantan. Perlakuan hewan uji dimulai dengan aklimatisasi selama 7 hari. Total hewan uji sebanyak 20 ekor dengan kriteria umur 3–4 bulan, berat 150–250 g, dan seluruhnya berjenis kelamin jantan. Tikus kemudian dibagi secara acak menjadi 5 kelompok, masing-masing terdiri dari 4 ekor. Kelompok kontrol negatif diberikan preventif aquades secara peroral sebanyak 2 ml. Kelompok kontrol positif diberikan gentamisin secara peroral sebanyak 2 ml. Kelompok P1 (perlakuan 1) diberikan preventif nanoemulsi akar *A. lappa* L. secara peroral dengan dosis 150 mg/kg BB. Kelompok P2 (perlakuan 2) diberikan preventif akar nanoemulsi *A. lappa* L. secara peroral dengan dosis 300 mg/kg BB. Kelompok P3 (perlakuan 3) diberikan preventif nanoemulsi akar *A. lappa* L. secara peroral dengan dosis 450 mg/kg BB (Faizal, Puspodewi, *et al.,* 2024).

Tikus putih jantan yang telah menerima perlakuan kemudian diinjeksi dengan suspensi bakteri MRSA ke dalam rongga peritoneum. Suspensi bakteri tersebut disiapkan dengan tingkat kekeruhan yang disesuaikan menggunakan standar *McFarland* 0,5, dan diberikan sebanyak 2 ml secara *intraperitoneal.* Setelah 24 jam paparan bakteri, tikus dikorbankan untuk mencegah autolisis jaringan dan memungkinkan pengambilan organ guna pemeriksaan histopatologi serta analisis imunohistokimia. Prosedur ini diperlukan karena apoptosis tidak dapat dinilai melalui tanda klinis pada hewan hidup, tetapi hanya dapat diidentifikasi melalui perubahan morfologis seluler, seperti *cell shrinkage*, kondensasi kromatin, pembentukan *apoptotic bodies*, serta fragmentasi inti, sebagaimana dijelaskan dalam kajian apoptosis terkini (Elmore, 2007; Vitale *et al.,* 2023). Setelah 24 jam paparan bakteri, tikus putih jantan dikorbankan melalui metode eutanasia menggunakan dislokasi serviks oleh praktisi dokter hewan professional (Davidge *et al.,* 2025). Pembedahan dilakukan segera untuk mencegah terjadinya autolisis jaringan. Ginjal yang diangkat kemudian difiksasi dalam formalin netral 10% selama 24 jam, diproses melalui dehidrasi bertingkat, *clearing,* dan infiltrasi parafin hingga diperoleh blok jaringan. Blok parafin dipotong dengan mikrotom pada ketebalan 4–5 μm dan dilekatkan pada kaca objek berperekat. Preparat tersebut selanjutnya digunakan untuk pemeriksaan histopatologi dan pewarnaan imunohistokimia (Cheng *et al.,* 2025). Pewarnaan imunohistokimia (IHC) dilakukan menggunakan metode IHC *Formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE)* dengan *heat-mediated antigen retrieval* dan deteksi HRP–DAB (Pekhale *et al.,* 2025). Preparat dideparafinisasi dengan xylol dan direhidrasi melalui alkohol bertingkat, kemudian dilakukan pemulihan antigen menggunakan buffer sitrat pH 6,0. Aktivitas peroksidase endogen dihambat dengan larutan H_2O_2, dilanjutkan aplikasi background blocking reagent. Antibodi primer yang digunakan adalah antibodi monoklonal anti–TNF-α (rabbit monoclonal, clone EP1125; Abcam, katalog ab9739). Antibodi sekunder terkonjugasi HRP, reagen DAB, dan substrat berasal dari Millipore IHC DAB Kit (Cat. No. DAB500). Setelah pewarnaan, preparat dilakukan *counterstain* dengan hematoksilin, didehidrasi ulang, dilakukan *clearing,* dipasang *cover glass,* dan diamati dengan mikroskop binokuler (Pereira *et al.,* 2025). Preparat dicuci dengan air deionisasi selama dua menit sebanyak dua kali, kemudian dibilas menggunakan *rinse buffer* selama tiga menit dan diulang sebanyak tiga kali. Setelah itu, preparat diangkat dari larutan dan dibiarkan mendingin pada suhu ruang. Preparat selanjutnya dicuci dengan PBS (pH 7,4) selama tiga menit dan diulang sebanyak tiga kali. Tahap inaktivasi dilakukan dengan meneteskan dua tetes *blocking reagent* dan menginkubasi preparat selama lima menit. Untuk menghentikan aktivitas enzim peroksidase endogen, larutan H_2O_2 3% diteteskan pada preparat dan dibiarkan selama 15 menit dalam larutan H_2O_2 30% pada suhu kamar, kemudian preparat dicuci kembali menggunakan

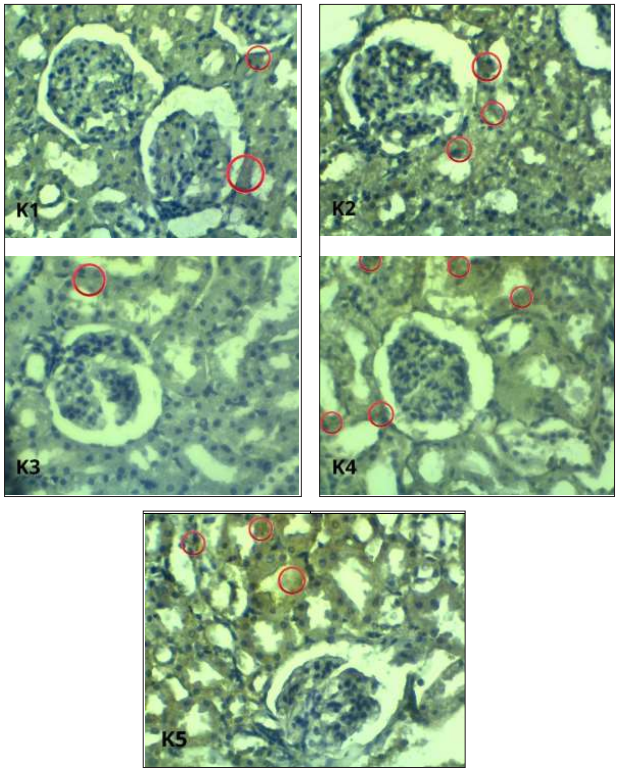
rinse buffer selama tiga menit dan diulang tiga kali. Tahap inkubasi antibodi diawali dengan membasahi kertas *absorbent* menggunakan PBS, kemudian menambahkan serum normal 5% untuk pemblokiran selama 30 menit pada suhu 37 °C. Setelah cairan di sekitar jaringan dikeringkan menggunakan kertas *absorbent*, antibodi primer yang telah diencerkan diteteskan pada area jaringan. Daerah jaringan yang akan diamati diberi batas dengan membuat lingkaran di sekelilingnya menggunakan *Oil palm phenolics* (*OPP*) (Oluwakemi et al, 2025; Ramos-Vara et al, 2014).

Pada bagian kontrol, diteteskan *PBS* sebagai pengganti antibodi primer. Pada preparat perlakuan, antibodi primer yang telah diencerkan diteteskan pada jaringan, kemudian preparat ditempatkan dalam wadah lembap dan diinkubasi semalam pada suhu 4 °C. Setelah inkubasi, preparat dicuci dengan *rinse buffer* selama 3 menit dan diulang tiga kali, lalu dikeringkan dengan kertas *absorbent*. Selanjutnya, antibodi sekunder terkonjugasi *HRP* diteteskan dan preparat diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37 °C. Reagen *chromogen* kemudian diteteskan pada jaringan dan diinkubasi selama 10 menit, dilanjutkan dengan pencucian menggunakan *rinse buffer* selama 3 menit sebanyak tiga kali. Deteksi sinyal dilakukan dengan meneteskan substrat *DAB* secara merata ke seluruh jaringan; sinyal positif ditandai dengan munculnya warna cokelat hingga cokelat kekuningan, kemudian reaksi dihentikan dengan membilas preparat menggunakan air mengalir. Pewarnaan hematoksilin menggunakan prosedur dehidrasi *mounting* ini konsisten dengan penggunaan *Harris hematoxylin* sebagai pewarna nukleus pada jaringan *formalin-fixed paraffin-embedded* (*FFPE*) selama ½–1 menit, dibilas dengan air, kemudian direndam dalam alkohol yang mengandung 1% *HCl* dan dibilas kembali dengan air (Hatgaonkar *et al.,* 2025). Tahap dehidrasi dan *mounting* dilakukan dengan merendam preparat secara bertahap dalam alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, alkohol absolut tahap I dan II, serta *xylol* tahap I dan II, masing-masing selama 2 menit, dikeringkan dalam lemari asam, kemudian ditutup dengan *cover glass* tanpa gelembung udara (Sun *et al.,* 2025). Preparat yang telah kering selanjutnya diamati dan didokumentasikan menggunakan mikroskop binokuler.

Hasil dan Pembahasan

Secara imunohistokimia, ekspresi TNF-α pada jaringan ginjal tampak bervariasi antarkelompok perlakuan (Gambar 1). Pewarnaan positif terlihat sebagai endapan warna cokelat hingga cokelat kekuningan pada sitoplasma sel, terutama di area tubulus ginjal yang diberi tanda lingkaran merah. Pada kelompok kontrol positif tampak lebih banyak area berwarna cokelat dibanding kelompok kontrol negatif, sedangkan pada kelompok yang mendapat nanoemulsi *A. lappa* L. jumlah area positif tampak lebih terbatas.

Hasil Pemeriksaan Histopatologi Pewarnaan IHC



Gambar 1. Gambaran ekspresi *TNF-α* pada jaringan ginjal tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) setelah induksi sepsis bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (*MRSA*) dan pemberian perlakuan preventif yang berbeda. Kelompok 1 (K1): kelompok kontrol negatif diberikan preventif aquades secara peroral sebanyak 2 ml. Kelompok 2 (K2): kelompok kontrol positif diberikan gentamisin secara peroral sebanyak 2 ml. Kelompok 3 (K3): kelompok P1 diberikan preventif nanoemulsi akar *A. lappa* L. secara peroral dengan dosis 150 mg/kg BB. Kelompok 4 (K4): kelompok P2 diberikan preventif nanoemulsi akar *A. lappa* L. secara peroral dengan dosis 300 mg/kg BB. Kelompok 5 (K5): kelompok P3 diberikan preventif nanoemulsi akar *A. lappa* L. secara peroral dengan dosis 450 mg/kg BB. Area positif ditunjukkan oleh endapan warna cokelat hingga cokelat kekuningan (ditandai lingkaran merah) yang menggambarkan ekspresi *TNF-α* dan proses inflamasi pada jaringan ginjal, sedangkan area tanpa pewarnaan cokelat menunjukkan tidak adanya ekspresi *TNF-α*.

Untuk menilai ekspresi *TNF-α* secara kuantitatif pada jaringan ginjal, dilakukan analisis luas area positif hasil pewarnaan *immunohistochemistry* (*IHC*) pada beberapa lapang pandang mikroskopis (LP1–LP5) untuk setiap sampel. Area positif didefinisikan sebagai bagian jaringan yang menampilkan pewarnaan cokelat hingga cokelat kekuningan pada sitoplasma sel, sedangkan area tanpa pewarnaan cokelat dianggap negatif. Persentase luas area positif terhadap luas total lapang pandang kemudian dihitung dan direratakan untuk masing-masing kelompok perlakuan. Hasil pengukuran persentase area positif *TNF-α* pada lima kelompok tikus disajikan pada Tabel 1.

Arctium lappa L., atau yang lebih dikenal sebagai burdock, merupakan bahan alam yang banyak dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional dan kini semakin dilirik sebagai kandidat imunomodulator modern. Akar *A. lappa* L. kaya akan senyawa bioaktif, terutama *lignan arctiin* dan *arctigenin,* yang telah dilaporkan mampu menekan jalur pensinyalan proinflamasi seperti MAPK, NF-κB, HO-1, dan iNOS, sehingga menurunkan produksi sitokin proinflamasi termasuk TNF-α, IL-1β, dan IL-6 pada berbagai model *in vitro* dan *in vivo* (Shyam & Sabina, 2024; Yosri *et al.,* 2023). Tinjauan imunofarmakologi terbaru juga menegaskan bahwa ekstrak *A. lappa* L. dan metabolit *arctigenin* memiliki potensi sebagai agen antiinflamasi sistemik pada penyakit yang dimediasi imun (Yang *et al.,* 2025). Hasil temuan pra-klinik sebelumnya mengenai nanoemulsi akar *A. lappa* L. buatan tim Anda menunjukkan profil keamanan yang baik dan kecenderungan perbaikan parameter biokimia hepar serta ginjal, sehingga mendukung penggunaannya dalam model sepsis eksperimental (Faizal, Irmansa, *et al.,* 2024)

Pada penelitian ini, kondisi sepsis dimodelkan melalui induksi bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (*MRSA*) pada tikus putih jantan, yang ditandai oleh peningkatan persentase luas area jaringan ginjal dengan ekspresi *TNF-α* positif serta kenaikan skor kerusakan histopatologi ginjal pada kelompok yang diinduksi dibandingkan kelompok kontrol negatif. Analisis statistik menggunakan *Jeffreys's Amazing Statistics Program* (JASP) menunjukkan bahwa data ekspresi *TNF-α* tidak homogen, sehingga digunakan uji Kruskal–Wallis. Uji ini menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar kelompok ($p < 0,05$), dan uji lanjut Dunn dengan koreksi Bonferroni memperlihatkan bahwa keempat kelompok yang diinduksi *MRSA* (K2–K5) memiliki ekspresi *TNF-α* yang secara signifikan lebih tinggi dibanding kelompok kontrol negatif (K1), sedangkan antar kelompok yang mendapat gentamisin dan nanoemulsi akar *A. lappa* L. tidak berbeda bermakna. Pola ini menunjukkan bahwa nanoemulsi akar *A. lappa* L. mampu mempertahankan ekspresi *TNF-α* dan derajat kerusakan ginjal pada tingkat yang sebanding dengan terapi gentamisin, dengan kecenderungan penurunan pada dosis 450 mg/kg BB yang paralel dengan perbaikan skor histopatologi ginjal (Faizal *et al.,* 2025; Wigati *et al.,* 2024)

Tabel 1. Rerata persentase luas area jaringan ginjal yang mengekspresikan *TNF-α* berdasarkan pewarnaan *immunohistochemistry* (*IHC*) pada tiap kelompok perlakuan.

Kode Sampel	Area positif TNF-α (%)					Rerata
	Lp1	Lp2	Lp3	Lp4	Lp5	
K1(1) (Aquades) 16,392		14,201	14,492	14,451	14,242	14,756
K1 (2) (Aquades)	11,600	13,328	14,972	13,825	14,436	13,632
K2 (1) (Gentamisin)	38,637	27,958	22,691	37,611	39,557	33,291
K2 (2) (Gentamisin)	34,857	33,079	24,861	28,095	26,948	29,568
K3 (1) (Dosis 150)	30,535	38,661	28,253	35,985	43,856	35,458
K3 (2) (Dosis 150)	24,029	32,363	37,571	32,797	39,606	33,273
K4 (1) (Dosis 300)	47,543	40,057	35,519	27,487	29,992	36,120
K4 (2) (Dosis 300)	25,991	22,176	24,305	32,263	38,922	28,731
K5 (1) (Dosis 450)	31,161	29,393	24,052	25,984	29,838	28,086
K5 (2) (Dosis 450)	22,315	34,229	26,999	31,434	25,444	28,084

Keterangan: LP = lapang pandang;; Area % = persentase luas area lapang pandang yang menunjukkan pewarnaan cokelat positif TNF-α terhadap luas total lapang pandang pada jaringan ginjal.

Dari sudut pandang sitokin proinflamasi dan imunoinflamasi translasi, TNF-α merupakan salah satu sitokin kunci pada fase awal sepsis yaitu kadar yang terlalu tinggi berkontribusi terhadap kerusakan endotel, disfungsi mikrosirkulasi, dan cedera organ, tetapi respon yang sepenuhnya ditekan juga berisiko melemahkan kemampuan eliminasi bakteri. Dalam konteks ini, nanoemulsi akar *A. lappa* L. berperan sebagai imunomodulator yang menyeimbangkan, bukan mematikan, respon TNF-α bermakna menurunkan puncak inflamasi, namun tetap mempertahankan kapasitas pertahanan inang. Kombinasi sifat antioksidan, antiinflamasi, dan kemampuan formulasi nano untuk memfokuskan distribusi senyawa aktif menjadikan nanoemulsi *A. lappa* L. sebagai pendekatan dengan sasaran molekuler yang berlapis (multi-sasaran), yang tidak hanya memengaruhi TNF-α tetapi juga jejaring sitokin dan mediator inflamasi lain. Hal ini memberi dasar ilmiah bahwa penurunan ekspresi TNF-α dan perbaikan skor histopatologi ginjal yang ditemukan dalam studi ini bukan sekadar fenomena lokal, melainkan bagian dari modulasi jejaring imunoinflamasi sistemik yang relevan secara klinis untuk pencegahan disfungsi organ pada sepsis yang diinduksi MRSA (X. Liu *et al.,* 2021)

Tumor necrosis factor-α (*TNF-α*) adalah salah satu sitokin proinflamasi yang disintesis oleh berbagai tipe sel imun maupun nonimun, seperti *T cell*, *macrophage*, sel endotel, dan sel epitel. Pada organ ginjal, sejumlah penelitian mutakhir menunjukkan bahwa sel epitel tubulus khususnya sel epitel tubulus proksimal merupakan salah satu sumber utama ekspresi lokal *TNF-α* pada berbagai bentuk cedera ginjal, disertai keterlibatan podosit, sel mesangial, dan sel inflamasi interstisial (Cai *et al.,* 2025; Hubbi *et al.,* 2025; Jiang & Su, 2023). Dalam penelitian ini, sel yang imunoreaktif terhadap *TNF-α* tampak terutama pada sitoplasma sel epitel tubulus ginjal dan sel-sel inflamasi di ruang interstisial, yang terlihat sebagai endapan warna cokelat pada pewarnaan *immunohistochemistry* (*IHC*). Pola ini sejalan dengan kajian nefroimunologi terkini yang menempatkan sel epitel tubulus ginjal dan sel inflamasi interstisial sebagai kontributor penting jejaring sinyal *TNF-α* pada cedera ginjal akut maupun kronis (Cai *et al.,* 2025; Hubbi *et al.,* 2025; Jiang & Su, 2023).

Pada infeksi bakteri MRSA, TNF-α memainkan peran penting dalam respon imun inang. Pada hewan yang terinfeksi *MRSA*, ekspresi TNF-α meningkat secara signifikan. Sitokin ini membantu dalam memediasi respons inflamasi untuk menghilangkan patogen. Penigkatan TNF- α akan mengaktifkan sel-sel imun yang lain, seperti neutrofil dan makrofag yang kemudian akan meningkatkan fagositosis dan penghancuran bakteri (Johnson *et al.,* 2020). Ekspresi TNF-α ditemukan pada semua kelompok berwarna coklat, sehingga peneliti dapat menunjukkan bahwa ada sel pengekspresi TNF-α yang lebih besar pada jaringan yang mengalami inflamasi karena induksi bakteri MRSA (Zebua *et al.,* 2024).

Kelompok negatif (K1) yang hanya mendapat akuades dan injeksi bakteri *MRSA*, masih tampak ekspresi *TNF-α* meskipun relatif rendah. Hal ini sesuai dengan sifat *TNF-α* sebagai sitokin konstitutif yang diproduksi dalam jumlah kecil pada kondisi fisiologis dan akan meningkat ketika terjadi kerusakan sel akibat infeksi bakteri, proses inflamasi, atau stres jaringan lainnya. Secara kuantitatif, rerata persentase luas area positif *TNF-α* pada K1 berkisar ±14,2%, dan nilai ini secara statistik lebih rendah dibanding keempat kelompok yang diinduksi sepsis ($p < 0,05$), sehingga K1 dapat dianggap mewakili kondisi inflamasi dasar ginjal. Kelompok positif (K2) yang diberikan gentamisin secara peroral 2 ml dan diinduksi *MRSA* menunjukkan peningkatan ekspresi *TNF-α* yang jelas, dengan rerata persentase area positif sekitar 31,4%. Uji Kruskal–Wallis dalam JASP menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok, dan analisis lanjut memperlihatkan bahwa K2 berbeda signifikan dibanding K1 ($p < 0,05$). Peningkatan ekspresi *TNF-α* ini sejalan dengan laporan bahwa sepsis dan pemberian gentamisin dapat memicu kaskade inflamasi dan memperberat kerusakan tubulus ginjal melalui peningkatan *TNF-α* serta mediator inflamasi lain (Wigati *et al.,* 2024). Dengan demikian, pernyataan adanya pengaruh yang signifikan pada K2 didukung oleh baik gambaran histopatologi maupun hasil analisis statistik.

Tiga kelompok perlakuan, yaitu K3, K4, dan K5, yang seluruhnya diinduksi *MRSA* dan diberikan nanoemulsi akar *A. lappa* L. secara peroral dengan dosis 150 mg/kg BB (K3), 300 mg/kg BB (K4), dan 450 mg/kg BB (K5), menunjukkan pola respon yang bervariasi. Rerata persentase area positif *TNF-α* pada K3, K4, dan K5 berturut-turut sekitar 34,4%, 32,4%, dan 28,1%. Dibandingkan K2 (≈31,4%), dosis 450 mg/kg BB (K5) memberikan penurunan numerik ekspresi *TNF-α* sekitar 3–6 poin persentase dibanding K2–K3, meskipun perbedaan ini tidak mencapai signifikansi statistik pada uji lanjut ($p >$

0,05). Oleh karena itu, secara ilmiah K5 lebih tepat diinterpretasikan menunjukkan kecenderungan penurunan ekspresi *TNF-α* dan perbaikan skor histopatologi ginjal di antara kelompok yang diinduksi sepsis, bukan sebagai penurunan yang terbukti lebih unggul secara statistik dibanding gentamisin.

Jika dibandingkan dengan kontrol akuades (K1), kadar *TNF-α* pada K5 tetap lebih tinggi, sehingga hasil ini tidak dimaksudkan sebagai penurunan hingga di bawah kadar basal, melainkan sebagai moderasi respon inflamasi pada kondisi sepsis yang sudah terbentuk. Dengan kata lain, nanoemulsi akar *A. lappa* L. pada dosis 450 mg/kg BB cenderung menurunkan puncak respon *TNF-α* ginjal di antara kelompok septik (K2–K5) dan menghasilkan derajat kerusakan histologis yang relatif lebih ringan, namun efeknya masih berada dalam kisaran yang sebanding dengan terapi gentamisin. Pola ini konsisten dengan sifat *A. lappa* L. sebagai agen antiinflamasi dan antioksidan yang mampu menurunkan ekspresi sitokin proinflamasi, termasuk *TNF-α*, pada berbagai model penyakit inflamasi dan infeksi (Yosri *et al*., 2023; Shyam & Sabina, 2024; Yang *et al*., 2025). Dari data di atas bahwasanya menggambarkan bahwa nanoemulsi akar *A. lappa* L. berperan sebagai imunomodulator yang menahan peningkatan berlebihan *TNF-α* pada ginjal tanpa menghilangkan sepenuhnya respon inflamasi yang tetap diperlukan untuk eliminasi bakteri. Pendekatan seperti ini sejalan dengan konsep imunoinflamasi translasi pada sepsis, di mana pengendalian terukur terhadap sitokin kunci seperti *TNF-α* dipandang lebih aman dan efektif dibanding penekanan menyeluruh jejaring sitokin (Hubbi *et al.,* 2025; Y. Liu *et al.,* 2025).

Arctium lappa L. secara tradisional telah digunakan dalam berbagai budaya karena khasiat obatnya, terutama efek antiperadangannya. Studi ilmiah terkini telah mulai menjelaskan mekanisme yang digunakan *A. lappa* L. dan senyawa bioaktifnya untuk menekan peradangan, terutama yang berkaitan dengan sitokin pro-inflamasi *tumor necrosis factor-alpha (TNF-α).* Mekanisme Penekanan TNF-α oleh akar *A. lappa* L. yaitu menghambat Jalur Sinyal NF-κB pada nuklear memainkan peran penting dalam mengatur ekspresi sitokin pro-inflamasi, termasuk TNF-α (Gao *et al.,* 2018). Studi telah menunjukkan bahwa *arctigenin, lignan* yang ditemukan dalam akar *A. lappa* L., dapat menghambat aktivasi NF-κB, sehingga mengurangi produksi TNF-α. Penghambatan ini terjadi melalui penekanan fosforilasi IκBα dan translokasi nuklir p65, langkah penting dalam aktivasi NF-Kb (Zeng *et al.,* 2023). Penekanan Ekspresi iNOS: *Inducible nitric oxide synthase (iNOS)* adalah enzim lain yang terlibat dalam proses inflamasi. *Arctigenin* dilaporkan menekan ekspresi dan aktivitas iNOS, yang menyebabkan penurunan produksi *nitric oxide,* yang dikaitkan dengan penurunan kadar TNF-α. Modulasi Jalur TLR4/NF-κB: Polisakarida yang diekstrak dari akar *A. lappa* L. telah menunjukkan kemampuan untuk memodulasi jalur pensinyalan *Toll-like receptor 4 (TLR4)*/NF-κB (Zeng *et al.,* 2023). Penurunan aktivitas jalur tersebut menyebabkan produksi *TNF-α* dan sitokin proinflamasi lain terhambat. Selain itu, akar *A. lappa* L. mengandung flavonoid, antara lain morin dan *quercetin 3-O-rhamnoside*, yang memiliki aktivitas antioksidan kuat (Ariyanto *et al.,* 2025). Senyawa ini dapat membersihkan radikal bebas, mengurangi stres oksidatif dan aktivasi jalur inflamasi berikutnya yang menyebabkan produksi TNF-α. Penghambatan Jalur *Mitogen-activated protein kinase (MAPK)* terlibat dalam transmisi sinyal inflamasi. Arctigenin telah terbukti menghambat fosforilasi MAPK, sehingga mengurangi ekspresi TNF-α dan mediator inflamasi lainnya (Cui *et al.,* 2022a, 2022b).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan sepsis *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* meningkatkan ekspresi *TNF-α* ginjal dan nanoemulsi akar *Arctium lappa* L. berpotensi nefroprotektif sebagai imunomodulator preventif yang mendukung perlindungan ginjal pada sepsis yang diinduksi *MRSA*, meskipun efektivitasnya masih perlu dikonfirmasi melalui penelitian lanjutan

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi melalui Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset, dan Teknologi yang telah memberikan dukungan pendanaan penelitian ini melalui Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) 8 Bidang Tahun 2024 berdasarkan Surat Nomor 2546/E2/DT.01.00/2024. Penghargaan yang sama juga disampaikan kepada Bidang Kemahasiswaan Universitas Al-Irsyad Cilacap yang telah memfasilitasi pelaksanaan kegiatan penelitian ini.

Daftar Pustaka

Alifah, A., Faizal, I. A., & Swandari, M. T. K. (2023). Metode Perbandingan Maserasi Dan Soxhletasi Ekstrak Daun Sirih Merah (Piper crocatum Ruiz & Pav) Terhadap Efektivitas Bakteri Staphylococcus epidermidis. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, *4*(1).

Ariami, P., Danuyanti, I., & Anggreni, B. R. (2017). *Efektifitas Teh Kulit Buah Manggis (Garcinia Mangostana L) Sebagai Antimikroba Terhadap Pertumbuhan Bakteri Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus (Mrsa)* (Vol. 3).

Ariyanto, H. F., Kasiyati, K., & Sitasiwi, A. J. (2025). Histomorfometri Ginjal Tikus Putih (Rattus norvegicus L.) Strain Sprague Dawley Setelah Pemberian Doksisiklin dan Ekstrak Etanol Bunga Telang (Clitoria ternatea L.). *Jurnal Sain Veteriner*, *43*(01), 136–144. https://doi.org/10.22146/jsv.70828

Bradley, J. R. (2008). TNF-mediated inflammatory disease. *Journal of Pathology*, *214*(2), 149–160. https://doi.org/10.1002/path.2287

Cheng, J., Li, M., Li, C., Li, X., Li, R., Zhang, Y., Lu, H., Zhao, Z., & Liu, W. R. (2025). Protective Effect of Mangiferin on Cisplatin Induced Acute Kidney Injury in Vivo. *Natural Product Communications*, *20*(3). https://doi.org/10.1177/1934578X251325035

Cui, J., Zong, W., Zhao, N., & Yuan, R. (2022). Burdock (Arctium lappa L.) leaf flavonoids rich in morin and quercetin 3-O-rhamnoside ameliorate lipopolysaccharide-induced inflammation and oxidative stress in RAW264.7 cells. *Food Science and Nutrition*, *10*(8), 2718–2726. https://doi.org/10.1002/fsn3.2875

Davidge, A., Bulat, F., & Vernet, A. (2025). Evaluating cervical dislocation methods, without using tension on the tail, for humanely killing adult laboratory mice. *Laboratory Animals*, *59*(5), 570–577. https://doi.org/10.1177/00236772251332722

Elmore, S. (2007). Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. In *Toxicologic Pathology* (Vol. 35, Issue 4, pp. 495–516). https://doi.org/10.1080/01926230701320337

Faizal, I. A., Irmansa, J., Pangesti, I., Oktaviany, F., Avivah, A. avivah L., Oktafiani, D. P., & Yuniasari, S. D. (2024). Assessing the Therapeutic Potential of Arctium lappa L. (Burdock Root) Ethanol Extract in Wound Healing on Male Rattus norvegicus. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, *13*(2), 8395. https://doi.org/10.29238/teknolabjournal.v13i2.417

Faizal, I. A., Puspodewi, D., & Aji, A. P. (2024). Uji Toksisitas Subkronik Nanoemulsi Akar Burdock (Arctium Lappa L.) Berdasarkan Histopatologi pada Tikus Albino *Rattus noverticus* (strain Wistar). *Indonesian Journal of Innovation Multidisipliner Research*, *2*, 331–342.

Gao, Q., Yang, M., & Zuo, Z. (2018). Overview of the anti-inflammatory effects, pharmacokinetic properties and clinical efficacies of arctigenin and arctiin from Arctium lappa L. In *Acta Pharmacologica Sinica* (Vol. 39, Issue 5, pp. 787–801). Nature Publishing Group. https://doi.org/10.1038/aps.2018.32

Hatgaonkar, K., Hatgaonkar, A., Dawande, P., Sonkusale, S., & Deshpande, S. (2025). Comparative evaluation of CD34 immunohistochemistry and hematoxylin and eosin staining for detection of lymphovascular emboli in oral squamous cell carcinoma: a retrospective cross-sectional study in a developing country. *Discover Oncology*, *16*(1). https://doi.org/10.1007/s12672-025-03633-6

Hudriyah, A., Hartini, S., Gede Andika Sukarya, I., Laboratorium Medis, T., Kemenkes Kalimantan Timur, P., & Penulis, K. (2023). Efek Pemberian Ekstrak Kayu Cendana (Santalum Album L.) Terhadap Kadar *C-Reactive Protein (CRP)* Tikus Putih *(Rattus Norvegicus)* Model Sepsis *Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (Mrsa). Duta Pharma Journal*, *3*(1), 2830–7054. https://doi.org/10.47701.XXX

Johnson, S., R., S., & R.J. (2020). Inflammatory cytokine Response to MRSA Infection in Animal Models . *International Journal of Infectious Disease*, *90*, 12–20.

Liao, C. C., Yu, H. P., Yang, S. C., Alalaiwe, A., Dai, Y. S., Liu, F. C., & Fang, J. Y. (2021). Multifunctional lipid-based nanocarriers with antibacterial and anti-inflammatory activities for treating MRSA bacteremia in mice.

Journal of Nanobiotechnology, *19*(1). https://doi.org/10.1186/s12951-021-00789-5

Monaghan, S. F., Banerjee, D., Chung, C. S., Lomas-Neira, J., Cygan, K. J., Rhine, C. L., Fairbrother, W. G., Heffernan, D. S., Levy, M. M., Cioffi, W. G., & Ayala, A. (2018). Changes in the process of alternative RNA splicing results in soluble B and T lymphocyte attenuator with biological and clinical implications in critical illness. *Molecular Medicine*, *24*(1). https://doi.org/10.1186/s10020-018-0036-3

Nuraini, U., Sitasiwi, A. J., & Isdadiyanto, S. (2025). Pengaruh Paparan Sediaan Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Mimba terhadap Struktur dan Fungsi Ren Tikus Sprague Dawley Jantan. *Jurnal Sain Veteriner*, *43*(01), 145–153. https://doi.org/10.22146/jsv.70828

Oluwakemi, K. O., & Emmanuel, O. I. (2025). Methods of Immunohistochemistry and Its Applications: A Review. *Asian Journal of Medical Principles and Clinical Practice*, *8*(2), 980–989. https://doi.org/10.9734/ajmpcp/2025/v8i2357

Parameswaran, N., & Patial, S. (2010). Tumor necrosis factor-α signaling in macrophages. *Critical Reviews™ in Eukaryotic Gene Expression*, *2*(20), 87–3.

Pekhale, K., Tiwari, V., Hussain, M., Bridges, C. C., Croteau, D. L., Levi, M., Rosenberg, A. Z., Santo, B., Yang, X., Kulikowicz, T., Wang, X. X., Lee, J. H., & Bohr, V. A. (2025). Cockayne syndrome mice reflect human kidney disease and are defective in de novo NAD biosynthesis. *Cell Death and Differentiation*, *32*(11), 2126–2145. https://doi.org/10.1038/s41418-025-01522-7

Pereira, S. de S., Moraes, C. N. de S., Pacheco, V., Rodrigues, É. D. L., Chaves, V. G. B., Bernal, M. K. M., Mota, R. N. de O., Taynara dos Reis Sousa, R., Jaques, A. M. de C. C., de Sousa, J. R., & Casseb, L. M. N. (2025). Histopathology and immunohistochemistry findings in kidney and urinary bladder of rabies virus-infected mice. *Acta Tropica*, *263*. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2025.107550

Pristianingrum, S., Zainiati, B. L., Muttaqin, Z., Desy Puspita, F., & Arman, R. (2021). Deteksi Metichilin Resistance Staphylococcus Aureus (MRSA) Pada Peralatan Medis Yang Digunakan Di Ruang Rawat Inap RSUD Provinsi NTB. *Jurnal Analis Medika Biosains (JAMBS)*, *8*(1), 7–12.

Putri Az-Zahra, A., Triana Wijayanti, F., Ramadhanti, L., & Faizal, I. A. (2022). Formulation And Evaluation Of Eel Fish Oil Nanoemulsion Using Sonication Method. *Jurnal Pharmaqueous*, *4*(2).

Ramos-Vara, J. A., & Miller, M. A. (2014). When Tissue Antigens and Antibodies Get Along: Revisiting the Technical Aspects of Immunohistochemistry-The Red, Brown, and Blue Technique. In *Veterinary Pathology* (Vol. 51, Issue 1, pp. 42–87). https://doi.org/10.1177/0300985813505879

Rochmah, N. N., Elisa, I., Nugroho, Y. E., Faizal, I. A., & Utami, D. R. (2021). Formulation And Evaluation Of Physical Properties Of Katuk *(Sauropus Androgynus L Merr)* Leaf Extract Tablets Using Wet Granulation Method As Antioxidant And Antibacterial. *3rd Borobudur International Symposium 2021*, 22–23. https://doi.org/10.36760/jpma.v3i2.337

Savitri, L., Kasimo, E. R., Sukmawati, D. A. N., Juwita, S. T., Antoro, E. L., Wulansari, I. S., Pringgadani, S. R., & Kholis, A. N. (2023). Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit Model Sepsisyang Diberikan Efek Preventif Ciprofloxacin dan Diinduksi Escherichia coli. *Jurnal Veteriner*, *24*(1), 101–108. https://doi.org/10.19087/jveteriner.2023.24.1.101

Sayogo, W., Dwi, A., Widodo, W., & Dachlan, Y. P. (2017). Potensi +Dalethyne Terhadap Epitelisasi Luka Pada Kulit Tikus Yang Diinfeksi Bakteri Mrsa. In *Jurnal Biosains Pascasarjana* (Vol. 19, Issue 1). William Sayogo.

Supit, I. A., Pangemanan, D. H. C., & Marunduh, S. R. (2015). Profil *Tumor Necrosis Factor (Tnf-A)* Berdasarkan Indeks Massa Tubuh (Imt) Pada Mahasiswa Fakultas Kedokteran Unsrat Angkatan 2014. In *Jurnal e-Biomedik (eBm)* (Vol. 3, Issue 2). Mei-Agustus.

Wigati, A. N., Faizal, I. A., & Puspodewi, D. (2024). Hepatotoxic Test Of Burdock Roots *(Arctium Lappa L)* On Histopathology Hepar Of Male White Rats *(Rattus Norvegicus)*. *Jurnal*

Riset Kesehatan, *13*(2), 128–135. https://doi.org/10.31983/jrk.v13i2.11903

Wu, K. C., Weng, H. K., Hsu, Y. S., Huang, P. J., & Wang, Y. K. (2020). Aqueous extract of Arctium lappa L. root (burdock) enhances chondrogenesis in human bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, *20*(1). https://doi.org/10.1186/s12906-020-03158-1

Vitale, I., Pietrocola, F., Guilbaud, E., Aaronson, S. A., Abrams, J. M., Adam, D., Agostini, M., Agostinis, P., Alnemri, E. S., Altucci, L., Amelio, I., Andrews, D. W., Aqeilan, R. I., Arama, E., Baehrecke, E. H., Balachandran, S., Bano, D., Barlev, N. A., Bartek, J., Galluzzi, L. (2023). Apoptotic cell death in disease—Current understanding of the NCCD 2023. In *Cell Death and Differentiation* (Vol. 30, Issue 5, pp. 1097–1154). Springer Nature. https://doi.org/10.1038/s41418-023-01153-w

Wulandari, E. L., Nurudhin, A., Arifin, A., & Adnan, Z. A. (2022). Efek Secretome Sel Punca Mesenkimal Terhadap Ekspresi Interleukin 17 Dan Tumor Necrosis Factor Alpha. *Smart Medical Journal*, *5*(1), 52. https://doi.org/10.13057/smj.v5i1.48954

Yosri, N., Alsharif, S. M., Xiao, J., Musharraf, S. G., Zhao, C., Saeed, A., Gao, R., Said, N. S., Di Minno, A., Daglia, M., Guo, Z., Khalifa, S. A. M., & El-Seedi, H. R. (2023). Arctium lappa (Burdock): Insights from ethnopharmacology potential, chemical constituents, clinical studies, pharmacological utility and nanomedicine. In *Biomedicine and Pharmacotherapy* (Vol. 158). Elsevier Masson s.r.l. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.114104

Zebua, W. I., Chiuman, L., & Fachrial, E. (2024). Histopathological evaluation of green betel leaf extract ointment on incision wounds infected with Staphylococcus aureus in wistar rats. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, *03*(02), 71–82.

Zeng, F., Li, Y., Zhang, X., Feng, J., Gu, W., Shen, L., & Huang, W. (2023). Arctium lappa L. roots inhibit the intestinal inflammation of dietary obese rats through TLR4/NF-κB pathway. *Heliyon*, *9*(11). https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e21562