



MEKANISME ANTI-INFLAMASI

Daur Karamunting
(R. tomentosa)

IN SILICO DAN IN VIVO
Model Kombinasi Asma
dan Paparan Debu Batubara

PENULIS : FUJIATI DAN HARYATI

 **SARI MULIA** *Indah*

MEKANISME ANTI-INFLAMASI

Dauu Karamunting
(R.tomentosa)

IN SILICO DAN IN VIVO

Model Kombinasi Asma
dan Pajanan Debu Batubara

MEKANISME ANTI-INFLAMASI DAUN KARAMUNTING

(*R.tomentosa*)

IN SILICO DAN IN VIVO

Model Kombinasi Asma dan Paparan Debu Batubara

Penulis

Fujiati dan Haryati

Penerbit :



SARI MULIA *Indah*

MEKANISME ANTI-INFLAMASI DAUN KARAMUNTING

(R.tomentosa)

IN SILICO DAN IN VIVO

Model Kombinasi Asma dan Paparan Debu Batubara

Copyright @2021

Penulis : Fujjati
Haryati

Layout & Cover : Wawan Wicaksono

Cetakan Pertama, Desember 2021

Ukuran : 16 x 23 cm ; vi + 64 hlm

ISBN : 978-623-93475-6-7

Diterbitkan oleh :

CV SARI MULIA INDAH

Jl. Pramuka No 2 Km 6 Banjarmasin

Telp. (0511) 6742822 | 0821 3644 7888

Hak cipta dilindungi oleh undang-undang. Dilarang mengutip atau memperbanyak sebagian atau seluruh buku ini dalam bentuk apapun, juga tanpa izin tertulis dari penerbit

***Sanksi Pelanggaran Pasal 72
Undang Undang Nomor 19 Tahun 2002***

1. Barang siapa dengan sengaja dan tanpa hak melakukan perbuatan sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2 ayat (1) atau Pasal 49 ayat (1) dan ayat (2) dipidana dengan pidana penjara masing-masing paling singkat 1 (satu) bulan dan/atau denda paling sedikit Rp. 1.000.000.000,00 (satu juta), atau pidana penjara paling lama 7 (Tujuh) tahun dan/atau denda paling banyak Rp. 5.000.000.000,00 (lima milyar rupiah).
2. Barang siapa dengan sengaja menyiarkan, memamerkan, mengedarkan atau menjual kepada umum suatu Ciptaan atau barang hasil pelanggaran Hak Cipta atau Hak Terkait sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dipidana dengan pidana penjara paling lama 5 (lima) tahun dan/atau denda, paling banyak Rp. 500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah)

PRAKATA

Puji syukur dihaturkan kehadirat Allah SWT, yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga buku referensi ini dapat diselesaikan. Buku berjudul "Mekanisme Anti-Inflamasi Daun Karamunting (*R. Tomentosa*): *in silico* dan *in vivo* pada Kombinasi Asma dan Paparan Debu Batubara" memberikan tujuan untuk memberikan wawasan kepada pembaca tentang mekanisme anti-inflamasi daun karamunting secara *in silico* dan *in vivo*.

Topik-topik yang dikemas dalam buku ini memaparkan aspek-aspek bioinformatika mekanisme peranan bahan bioaktif ekstrak etanol daun karamunting sebagai anti-inflamasi melalui jalur *in silico* dengan menggunakan jalur penghambatan molekul yang berperan pada pengaturan produksi sitokin pro-inflamasi. Hasil penelitian potensi sebagai anti-inflamasi ekstrak etanol daun karamunting secara *in vivo* juga dimasukkan dalam buku ini. Topik ini memberikan kesempatan pembaca dari bidang kedokteran, biologi molekuler dan peminat dalam imunologi kombinasi asma dan paparan debu batubara.

Akhir kata semoga buku ini dapat dimanfaatkan sebagai salah satu sarana untuk membantu pembaca memahami tanaman yang dapat digunakan sebagai anti-inflamasi. Penulis mengharapkan masukan dan saran dari seluruh pembaca agar dapat menjadi kesempurnaan bagi buku ini.

Banjarmasin, Desember 2021

Penulis

UCAPAN TERIMAKASIH

Tim penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang membantu dalam penyelesaian dan penerbitan buku ini, terutama kepada Universitas Lambung Mangkurat-Dosen Wajib Meneliti (PDWM) yang telah memberikan Hibah Penelitian Dasar tahun 2021

DAFTAR ISI

	Hlm
PRAKATA	v
UCAPAN TERIMAKASIH	vi
DAFTAR ISI	vii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
BAB 2 KARAMUNTING (<i>Rhodomyrtus tomentosa</i>)	5
BAB 3 INFLAMASI, ASMA DAN DEBU BATUBARA	17
BAB 4 ANTI-INFLAMASI DAUN KARAMUNTING PADA KOMBINASI ASMA DAN PAJANAN DEBU BATUBARA	31
BAB 5 PENUTUP	43
DAFTAR PUSTAKA	47

BAB 1

PENDAHULUAN

Asma bronkial adalah gangguan inflamasi kronik saluran nafas yang melibatkan banyak sel dan produknya. Inflamasi kronik menyebabkan peningkatan hiperresponsif saluran nafas yang menimbulkan gejala episodik berulang berupa mengi, sesak nafas, dada terasa berat dan batuk yang bervariasi intensitasnya dari waktu ke waktu. Gejala tersebut bersamaan dengan keterbatasan aliran udara ekspirasi dan keterbatasan ini dapat menjadi persisten (Reddel *et al.*, 2021).

Prevalensi asma bronkial di seluruh dunia menunjukkan angka yang tinggi. Berdasarkan data dari *Global Initiative for Asthma*/GINA (2011), di seluruh dunia terdapat 300 juta orang menderita asma bronkial dan tahun 2025 diperkirakan jumlah pasien asma bronkial menjadi 400 juta. Data prevalensi penyakit asma pada tahun 2018 dari berbagai propinsi menunjukkan bahwa Kalimantan Selatan (2,8%) termasuk dari 9 propinsi teratas dari 15 propinsi yang mempunyai prevalensi penyakit asma melebihi angka nasional (2,4%) (Balitbangkes Kemenkes RI, 2018). Fenomena ini diduga disebabkan oleh peningkatan paparan dari lingkungan seperti debu, bahan kimia, polutan dari industri dan kendaraan bermotor, serta asap rokok yang dapat menstimulasi ekspresi faktor proinflamasi (Hough *et al.*, 2020; Reddel *et al.*, 2021).

Beberapa penelitian menunjukkan polusi udara menyebabkan penurunan fungsi saluran nafas kecil pada penderita asma (Liu *et al.*, 2009). Penelitian lain telah membuktikan hubungan antara eksaserbasi asma dengan polusi udara yang mengandung *particulate matter* 2,5 (PM_{2,5}), ozon (O₃), nitrat dioksida (NO₂) (Tétreault *et al.*, 2016). Paparan PM₁₀ dan PM_{2,5} menyebabkan eksaserbasi asma. Hal ini berfungsi sebagai parameter epidemiologi yang berguna untuk manajemen klinis risiko asma pada populasi sensitif (Wu *et al.*, 2019; Zuo *et al.*, 2019). Salah satu polutan udara yang penting di daerah

tambang adalah PM debu batubara.

Badan Geologi Indonesia (2015) menunjukkan bahwa Kalimantan Selatan termasuk salah satu 3 propinsi penghasil tambang batubara yang terbesar di Indonesia. Tambang batubara meningkatkan devisa negara, namun di sisi lain debu batubara merupakan salah satu polusi udara penting di daerah tambang batubara. Inhalasi debu batubara berkontribusi terhadap peningkatan penyakit pernafasan termasuk peningkatan remodeling paru pada hewan (Kania *et al.*, 2011; Saputri *et al.*, 2014). Sangat beresiko individu yang berada di daerah tambang batubara (Ishtiaq *et al.*, 2018).

Adanya perubahan lingkungan hidup pada penderita asma memungkinkan terjadinya perubahan fenotifik asma yang dominan eosinofil. Kortikosteroid merupakan pengobatan jangka panjang untuk mengontrol asma dan memiliki efek utama mengurangi proses inflamasi pada dinding saluran nafas, menekan ekspresi berbagai gen inflamasi pada saluran nafas dan memperbaiki hiperresponsivitas bronkus (GINA, 2020). Pada umumnya pasien asma berespon baik terhadap pemberian kortikosteroid, tetapi sejumlah kecil (5-10%) dari pasien asma menunjukkan respon buruk bahkan tidak berespon terhadap pemberian kortikosteroid (Henderson *et al.*, 2020). Sehingga diperlukan pengobatan baru yang dapat mencegah rekrutmen dan aktivasi sistem imun dan sel inflamasi di paru (Caramori *et al.*, 2021). Pengobatan baru dapat berasal dari tanaman.

Berbagai tumbuhan digunakan dalam pengobatan tradisional telah dikenal sejak bertahun-tahun lalu. Banyak penelitian menunjukkan efek terapeutik dari obat-obatan herbal, termasuk antioksidan, anti-inflamasi, antikanker, antimikroba dan imunomodulator (Das *et al.*, 2020). Diantaranya adalah *Lychnis coronaria* menunjukkan efek anti-asmatik melalui penurunan hiperresponsivitas saluran nafas dan sitokin proinflamasi (Verma *et al.*, 2021). Contoh lain adalah tanaman karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*). Tanaman ini termasuk keanekaragaman hayati yang ada di lahan basah Kalimantan Selatan. Berdasarkan hasil penelitian aktivitas farmakologis *R. tomentosa* menunjukkan berbagai potensi terapeutik termasuk aktivitas antibakteri, antitumor, anti-

inflamasi dan antioksidan baik *in vivo* maupun *in vitro* (Jeong *et.al.*, 2013). Senyawa yang diduga mempunyai aktifitas farmakologis pada tanaman karamunting diantaranya adalah triterpenoid, flavonoid, fenol, dan meroterpenoid. Bagian daun *R. tomentosa* mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, saponin, dan terpenoid (Sutomo dkk, 2016). Tanaman *R. tomentosa* dapat digunakan sebagai kandidat anti-inflamasi pada pengobatan baru asma.

BAB 2

KARAMUNTING (*R.tomentosa*)

2.1 Klasifikasi Tanaman

Rhodomyrtus tomentosa adalah anggota keluarga *Myrtaceae*. *R. tomentosa* termasuk tanaman semak setinggi sekitar 1-2 m. Tanaman ini memiliki cabang dengan warna keabu-abuan. Daun *R. tomentosa* sering berlawanan dan helai daun elips untuk obovate. Bunga *R. tomentosa* memiliki 5 sepal hypanthium obovoid dengan warna abu-abu. Kelopak obovate dan benang sari merah juga dapat ditemukan pada bunga *R. tomentosa*. Buah *R. tomentosa* adalah berry hitam urceolate. Tahap berbunga berkisar dari April sampai Mei, dan fase buah matang biasanya dari Juli sampai Agustus (Lai *et al.*, 2015).



Gambar 2.1 Tanaman karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*)

2.2 Kandungan Zat Gizi

Buah *R. Tomentosa* mengandung zat gizi termasuk protein, karbohidrat, lipid, vitamin, mineral, serat makanan, minyak esensial dan mineral. Prosentasi kandungan zat gizi dalam buah sebagai berikut: protein total 4%, asma amino utama triptofan. Kadar serat makanan total 66,6%. Selulosa merupakan serat tidak larut utama dengan kandungan

hingga 50%, serat yang larut sekitar 7,6% dari total kandungan serat pangan. Kadar gula yang dapat dicerna buah *R. tomentosa* tidak tinggi (19,96% DW) dibandingkan dengan buah tropis lainnya. Selain itu, buah *R. tomentosa* mengandung lipid dengan kadar rendah (4,19% DW). Kandungan asam lemak dalam tanaman ini adalah asam linoleat (75,36%) dan asam palmitat (10,45%) dari total asam lemak, total fenolat (49,21 mg/setara dengan asam galat/g berat kering). Selain itu, terdapat mineral dalam *R. tomentosa*, antara lain kalium (221,76 mg/150 g buah), kalsium (73,65 mg/150 g buah), mangan (3,23 mg/150 g buah), zat besi (1,54 mg/150 g buah), seng (0,61 mg/150 g buah), dan tembaga (0,40 mg/150 g buah). Hasil ini menunjukkan *R. tomentosa* mempunyai sifat rendah kalori dan dapat meningkatkan kesehatan (Huang *et al.*, 2010; Lai *et al.*, 2015; Wu *et al.*, 2004).

2.3 Karakteristik fisikokimia

Analisis fitokimia *R. tomentosa* menunjukkan adanya senyawa golongan jenis utama adalah triterpenoid, flavonoid, fenol dan meroterpenoid. Semua senyawa tersebut seperti penjelasan berikut:

Triterpenoid

R. tomentosa mengandung banyak triterpenoid. Sampai saat ini, 24 senyawa triterpenoid telah diisolasi dari *R. tomentosa*. Di antaranya sebagian besar adalah senyawa triterpenoid pentasiklik sapogenin. β -sitostenone dan β -stigmasterol adalah lanostane jenis tetrasiklik triterpenoid sapogenins, dan laevigata noside A adalah pentasiklik saponin triterpenoid. Kerangka dasar sapogenin triterpenoid pentasiklik dapat dibagi menjadi tiga jenis seperti ursane, oleanane dan lupane (Zhang *et al.*, 2017).

Flavonoid

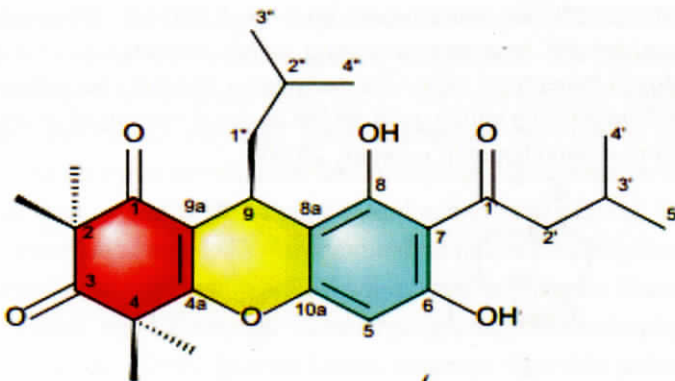
Kandungan flavonoid dalam *R. Tomentosa* sangat banyak. Strukturnya terutama mengandung kerangka myricetin yang ditandai dengan 3',4',5'-trihidroksil gugus pada cincin C dari flavonoid. Turunan antosianin, sejenis senyawa flavonoid bermuatan positif, sering dianggap sebagai pigmen alami yang berharga pada tumbuhan. Analoginya

kaempferol, quercetin juga telah diisolasi dari *R. tomentosa*. Selain itu telah diidentifikasi dari *R. Tomentosa*, jenis flavonoid lainnya termasuk laricitrin, vitexin, naringenin dan blumeatin A (Zhao *et al.*, 2018).

Polifenol

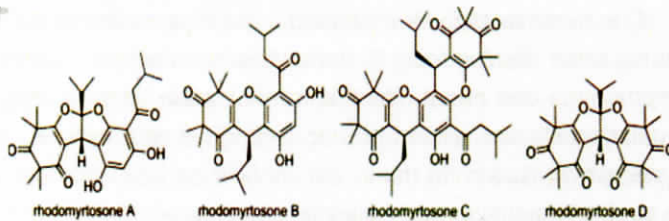
R.tomentosa banyak mengandung senyawa fenol. Sekitar 34 jenis fenol telah diisolasi dari *R. tomentosa* secara total. Diantaranya, fenol sederhana dan dapat ditemukan fenol asam, seperti progallin A, asam galat, metil galat, resveratrol dan analognya, piceatannol, astringin dan seterusnya. Selain itu, tanin terhidrolisis dengan unit asam galat dalam struktur fenol juga telah diisolasi dari *R.tomentosa*.

Rhodomyrton adalah senyawa khas dengan beberapa bioaktivitas yang diisolasi dari *R.tomentosa*, dapat dianggap sebagai turunan dari phloroglucinol. Beberapa sifat bioaktif senyawa ini telah banyak dilaporkan termasuk antimikroba (Saising *et al.*, 2018), antitumor (Chorachoo *et al.*, 2016) dan anti-inflamasi (Na-Phatthalung *et al.*, 2018b). Bioaktivitas yang menguntungkan terkait erat dengan struktur diastereomer senyawa ini, yaitu terdapat beberapa karbon kiral C2, C4 dan C9). Selain itu, rhodomyrton dan turunannya dapat diperoleh dengan sintesis organik melalui serangkaian reaksi kondensasi dengan bantuan katalis asimetris (Tan *et al.*, 2017), dengan phloroglucinol sebagai bahan awal, menunjukkan kemungkinan produksi skala industri untuk floroglucinol.



Gambar 2.2 Struktur rhodomyrton (Zhao *et al.*, 2021)

Analisis spektroskopi dan perbandingan dengan senyawa terkait telah diidentifikasi senyawa asylphloroglucinol bernama rhodomyrtonones A-C dan turunan leptospermone bernama rhodomyrtonone D yang diisolasi dari ekstrak aseton daun *R.tomentosa* (Aiton) Hassk (Hiranrat *et al.*, 2008).

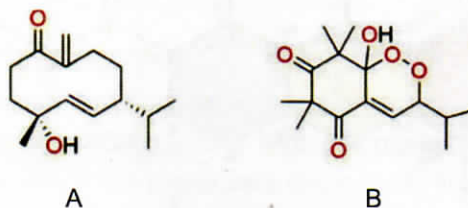


Gambar 2.3 Struktur rhodomyrtonone A-D (Hiranrat *et al.*, 2008)

Meroterpenoid

Meroterpenoid adalah produk alami hibrida yang sebagian berasal dari jalur terpenoid (Geris dan Simpson, 2009). Kerangka dari meroterpenoid ini terdiri dari dua bagian, unit asam syncarpic teralkilasi dengan bagian terpenoid (Zhang *et al.*, 2016). Keragaman struktural mono atau seskui-terpen bagian struktur dari meroterpenoid ini. Senyawa ini juga terdapat dari famili Myrtaceae termasuk *Eucalyptus tereticornis* (Liu *et al.*, 2018), *Leptospermum brachyandrum* (Zou *et al.*, 2018) dan *Callistemon rigidus* (Cao *et al.*, 2018). Pada struktur meroterpenoid dari *R. tomentosa* terdapat karbon kiral dan gugus isobutil

Hasil analisis spektroskopi (IR, UV, NMR, ECD, dan HRESIMS) telah diidentifikasi seskui-terpen baru (A), turunan β -triketon (B), bersama dengan lima senyawa yang sudah diketahui (3-7) diisolasi dari daun *R.tomentosa*. Selain itu, senyawa 1 dan 6 menunjukkan efek penghambatan yang lemah pada sel HeLa, dan 3 menunjukkan aktivitas antiinflamasi yang lemah (Luo *et al.*, 2019).



Gambar 2.4 struktur (A) seskui-terpen baru, (B) turunan β -triketon (Luo *et al.*, 2019).

2.4 Sifat Farmakologis

Ekstraksi konstituen sebagian besar memiliki berbagai sifat farmakologis, seperti potensi antibakteri, anti-tumor, anti-inflamasi dan antioksidan.

Anti-bakteri

Beberapa senyawa yang diisolasi dari *R. tomentosa* telah terbukti sebagai antimikroba dan antijamur. Hal ini dimungkinkan karena adanya kandungan meroterpenoid yang tinggi (Saeloh *et al.*, 2018). Ekstrak metanol *R. tomentosa* mampu menghambat pertumbuhan mikroba *S.aureus* dan *E.coli* (Rosli *et al.*, 2017), ekstrak etanol dapat menghambat *B.cereus*, *C.albicans*, *S.typhi*, dan *P.acnes* (Kusuma *et al.*, 2016). Ekstrak etanol dan ekstrak air dari daun *R.tomentosa* dapat menghambat pertumbuhan mikroba *S.aureus* (Sukeri *et al.*, 2021). Meroterpenoid sebagai metabolit sekunder dari Myrtaceae (Nicoletti *et al.*, 2018), aplikasinya dalam sanitasi tanah sebagai agen antibiotik (Prosser *et al.*, 2016). Oleh karena itu, *R. tomentosa* berpotensi digunakan sebagai agen biokontrol dan pengawet alami untuk mencegah pembusukan mikroba serta memperpanjang umur simpan makanan (Salehi *et al.*, 2018).

Ekstrak etanol *R.tomentosa* (EER) menunjukkan efek antibakteri terhadap 47 jenis isolat klinis *S.pyogenes* (konsentrasi penghambatan minimum/MIC: 3,91-62,5g/mL) (Limsuwan *et al.*, 2012). Ekstrak tanaman ini terbukti berperan dalam pengobatan *S. mastitis* sapi (Mordmuang & Voravuthikunchai, 2015), dan menurunkan kerusakan jaringan dan cedera inflamasi yang disebabkan oleh infeksi bakteri. Infeksi bakteri terhadap isolat stafilokokus berkurang setelah pemberian EER dengan nilai MIC 16-64 g/mL (Mordmuang *et al.*, 2015). Ekstrak yang bergantung pada dosis mempromosikan hidrofobisitas permukaan sel bakteri dan mengurangi adhesi sel bakteri ke jaringan. Ekstrak ini juga sebagai agen biokontrol dalam menghambat *L.monocytogenes* (Odedina *et al.*, 2015). Ekstrak etanol tanaman diberikan selama 30 menit dengan konsentrasi 128 g/mL, telah menghentikan fase diam sel *L. monocytogenes* lebih dari 3-log unit. Ekstrak menurunkan jumlah

L. monocytogenes pada tingkat inokulum yang berbeda dalam daging ayam dengan pembilasan dan injeksi (Odedina *et al.*, 2016). EER yang dilarutkan menurunkan jumlah bakteri *L. monocytogenes* setelah dibilas selama 5 menit, menunjukkan bahwa *R. tomentosa* dapat digunakan dalam memasak ayam sebagai agen bio-aditif ampuh untuk memastikan keamanan pangan. Dalam *S.agalactiae* dan model tilapia Nil yang terinfeksi *S.iniae*, EER memberikan efek antibakteri yang kuat terhadap patogen ikan bergantung dosis dengan MIC: 7,8-62,5 g/mL (Na-Phatthalung *et al.*, 2017). Selain itu, dengan induksi H₂O₂, sel-sel *S.agalactiae* diberi perlakuan sebelumnya dengan EER menjadi lebih sensitif terhadap stres oksidatif, dan kematian ikan nila berkurang melalui pemberian ekstrak. EER menunjukkan pengurangan yang luar biasa dalam resistensi *methicillin Staphylococcus aureus* (MRSA) adhesi ke keratinosit HaCaT manusia (Srisuwan & Voravuthikunchai, 2017). Pada konsentrasi tidak beracun (128 mg/L), EER menunjukkan antibakteri yang kuat efek terhadap MRSA intraseluler. Selain itu, sitotoksitas yang diinduksi MRSA setidaknya berkurang 50% oleh *R. tomentosa*. EER menunjukkan potensi untuk berkembang sebagai agen terapi alternatif melawan kandidiasis mulut (Hmoteh *et al.*, 2018). Pada dosis yang berbeda, penghambatan EER terhadap faktor virulensi *C.albicans* dapat diartikan sebagai indikasi penurunan kemampuan untuk pembentukan biofilm, dan promosi fagositosis dan efek neutrofil dalam penghancuran organisme.

Rhodomyrtone, yang diisolasi dari ekstrak daun *R. tomentosa*, menunjukkan efek antibakteri pada *S.pyogenes* (Limsuwan *et al.*, 2011). Analisis proteomik menunjukkan rhodomyrtone mengubah protein seluler dan disekresikan terkait dengan tiga jalur metabolisme pada pertumbuhan *S.pyogenes*. Senyawa ini menurunkan faktor virulensi sel-sel *S.pyogenes* termasuk siklik adenosin monofosfat (CAMP) dan gliseraldehida-3-fosfat dehidrogenase. Rhodomyrtone dapat digunakan sebagai anti-MRSA (Visutthi *et al.*, 2011). Rhodomyrtone menunjukkan penekanan ekspresi berlebih protein ekstraseluler MRSA, dan menurunkan protein antigenik stafilococcus seperti *staphylococcal secretory antigen* (SsaA). Hal ini disebabkan rhodomyrtone mengganggu sistem Walk/WalR (YycG/YycF), yang terlibat dalam sintesis autolisin

terkait dengan metabolisme dinding sel dan pembentukan biofilm. Rhodomyrtone menunjukkan aktivitas antibakteri dengan menginduksi ekspresi faktor-faktor yang terkait dengan respon imun bawaan dalam monosit THP-1 MRSA (Srisuwan *et al.*, 2014). Senyawa rhodomyrtone dengan dosis rendah menyebabkan upregulasi interleukin 6 (IL-6) dan inducible NO synthase (iNOS) pada monosit THP-1. Senyawa ini juga meningkatkan ekspresi faktor kunci respon reseptor imun bawaan seperti tol (TLR2) dan ekspresi tumor nekrosis faktor alpha (TNF- α). Hal ini menunjukkan rhodomyrtone mempunyai aktivitas imunostimulator dan anti-inflamasi. Di sisi lain, rhodomyrtone juga dapat mengaktifkan monosit dengan meningkatkan ekspresi reseptor imun bawaan untuk membantu membersihkan MRSA.

Ekstrak etanol daun *R. tomentosa* dan senyawa rhodomyrtone, berfungsi sebagai agen potensial yang terkait dengan penyakit mulut, dengan aktivitas anti-pelekatan terhadap mikroba mulut termasuk *S.aureus* ATCC 25923 dan *S.mutans* (Limsuwan *et al.*, 2014). Setelah *C. albicans* ATCC 90028 diperlakukan selama 48 jam, ditemukan adanya penghambatan adhesi dari rhodomyrtone. Senyawa ini dapat digunakan sebagai agen anti-jerawat baru karena kemampuan inhibisi yang kuat pada produksi enzim virulensi, pembentukan biofilm dan penghancuran sel-sel biofilm matang pada *P.acnes* (Wunnoo *et al.*, 2017). Setelah media kultur diberi rhodomyrtone pada 1/2 MIC, daerah lipolitik sementara berkurang untuk semua isolat hanya 50% isolat yang menurunkan efek proteolitik. Senyawa pada konsentrasi yang berbeda juga menurunkan pembentukan biofilm. Isolat yang diperlakukan dengan rhodomyrtone pada 8 MIC (2 mg/mL) struktur sel bakteri terdistorsi dan persentase kelangsungan hidup mereka adalah antara 39% dan 75%. Rhodomyrtone menargetkan sel bakteri dan membran sel mamalia (Saising *et al.*, 2018). Rhodomyrtone menekan produksi asam oleh *S.mutans*. Mikroba ini sebagai agen kariogenik utama pada manusia dengan menghambat aktivitas enzim yang bertanggung jawab untuk produksi dan toleransi asam, termasuk enzim terikat membran F-ATPase dan sistem fosfotransferase (PTS), serta enzim glikolisis gliseraldehid fosfat dehidrogenase (GAPDH) dan piruvat kinase (PK) dalam sitoplasma *S.mutans* (Bach *et al.*, 2020).

Rhodomyrtonone menghilangkan potensial membran dengan cepat dan mendorong pelepasan adenosin trifosfat (ATP) dan protein sitoplasma, tanpa pembentukan nukleus dalam *S.aureus*. Penambahan asam lemak jenuh dan lipopolisakarida (LPS) menetralkan efek antimikroba rhodomyrtonone. Senyawa ini menyebabkan vesikel intraseluler menangkap berbagai protein membran dengan menginduksi invaginasi membran dan merombak membran dengan berinteraksi secara langsung dengan kepala fosfolipid daripada masuk ke lipid bilayer (Saeloh *et al.*, 2018). Rhodomyrtonone B dari daun *R.tomentosa* menunjukkan aktivitas antibakteri *in vivo* yang signifikan melalui gangguan potensi membran bakteri dan peningkatan permeabilitas membran dan menunjukkan aktivitas antibakteri dengan menghilangkan ulkus kulit pada model murine *in vitro* (Zhao *et al.*, 2018).

Tomentosone C dan rhodomyrtonone dari daun *R. tomentosa* mempunyai efek antimikroba terhadap mikroba gram positif *S.aureus* dengan fraksi larut n-heksana dan etil asetat dari ekstrak etanol dengan nilai MIC masing-masing sebesar 3,66 dan 1,83 g/mL (Liu *et al.*, 2016a). Faktor Sigma B (SigB) yang mengontrol ekspresi *S.aureus* juga terkait dengan efek penghambatan rhodomyrtonone terhadap strain bakteri (Mitsuwan *et al.*, 2019), dengan perkembangan mikrobiologi memungkinkan menggunakan senyawa dari *R.tomentosa* sebagai antibiotik (Saeloh *et al.*, 2018).

Anti-tumor

Beberapa studi telah menemukan bahwa *R. tomentosa* juga menunjukkan efek anti-tumor tertentu pada beberapa model penelitian. Beberapa konstituen diisolasi dan dikarakterisasi dari daun *R. tomentosa* oleh Zhang *et al* (2018). Di antara senyawa yang diisolasi, rhodomyrtonone memberikan efek anti-tumor paling kuat pada sel HeLa (IC50: 0,33 M), dan menunjukkan selektivitas yang menguntungkan antara sel normal dan sel tumor (IC50 untuk sel Vero: 0,94 M, indeks selektivitas: 2,85). Chorachoo *et al.* (2016) melaporkan bahwa rhodomyrtonone (2-32 mg/mL) yang bergantung waktu menghambat proliferasi sel keratinosit HaCaT *in vitro* tanpa iritasi kulit *in vivo*, menunjukkan potensi untuk berkembang sebagai

agen anti psoriasis alami. Setelah dirawat selama 24, 48, dan 72 jam, rhodomyrtone menghambat strain sel uji dengan tingkat penghambatan masing-masing 13,62-61,61%, 50,59-80,16%, dan 61,82-85,34%. Tayeh *et al* (2017) menemukan bahwa rhodomyrtone pada konsentrasi subsitotoksik (0,5 dan 1,5 g/mL) menunjukkan penghambatan nyata dari metastasis kanker dengan mengurangi migrasi sel, kemampuan adhesi sel dan invasi sel pada sel karsinoma epidermoid A431. Penelitian lebih lanjut menunjukkan bahwa rhodomyrtone menekan metastasis sel dengan mengurangi aktivitas dan ekspresi matrix metalloproteinase (MMP)-2/9 melalui penghambatan jalur sinyal ekstraseluler yang diatur sinyal kinase 1/2 (ERK1/2), p38 dan focal adhesi kinase (FAK) melalui aktivitas NF- κ B. Serangkaian meroterpenoid diisolasi dari *R. Tomentosa*, diantaranya adalah, tomentodione D. Senyawa tersebut menunjukkan aktivitas penghambatan metastatik paling kuat terhadap sel DLD-1 dengan menghambat aktivasi Akt dan ERK yang diinduksi oleh 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate, yang akhirnya mengatur penurunan ekspresi MMP-2 dan MMP-9 (Zhang *et al.*, 2016).

Anti-Inflamasi

Rhodomyrtus tomentosa memiliki potensi dalam akuakultur untuk melindungi ikan dari penyakit terkait inflamasi. Ekstrak etanol daun *R.tomentosa* (EER) mempunyai aktivitas anti-inflamasi dalam model trout pelangi dengan memperantarai ekspresi gen terkait imunitas (Na-Phatthalung *et al.*, 2018a). Di organ yang berbeda, beberapa gen termasuk IL-10, SAA, hepcidin, transforming growth factor- β (TGF- β) dan iNOS dipengaruhi oleh *R. tomentosa*. Setelah diperlakukan dengan LPS, *R. tomentosa* (10 g per ikan) menghambat kadar sitokin pro-inflamasi IL-1 β , IL-8, yang menunjukkan aktivitas anti-inflamasi *R.tomentosa*. Selain itu, *R. tomentosa* menurunkan kadar kortisol tetapi tidak berdampak pada parameter hematologi, menunjukkan potensi untuk berkembang sebagai agen anti-stres. EER dan rhodomyrtone menunjukkan aktivitas imunostimulator dan anti-inflamasi dengan menginduksi ekspresi gen yang berhubungan dengan imun dalam model makrofag ginjal ikan kepala pelangi. Hasilnya menunjukkan bahwa EER dan rhodomyrtone mengubah ekspresi gen terkait imun, termasuk sitokin pro-inflamasi (IL-1 β , IL-8, dan TNF- α) dan sitokin anti-inflamasi (IL-10 dan TGF- β). Selain

itu, setelah pajanan rhodomyrtone selama 4 jam, terjadi pengaturan ekspresi IL-1 β , IL-8, TNF- α dan peningkatan kadar ekspresi IL-10 dan TGF- β di makrofag ginjal ikan (Na-Phatthalung *et al.*, 2018b).

Watsonianone A yang diisolasi dari buah *R. tomentosa* secara signifikan menghambat reaksi inflamasi melalui induksi respiratory-syncytial-virus (RSV) pada makrofag RAW264.7 dan sel HEp-2 (Zhuang *et al.*, 2017). Senyawa watsonianone menurunkan ekspresi TNF- α , IL-6, dan monosit chemoattractant protein-1 (MCP-1) dalam sel RAW264.7 yang terinfeksi virus pernapasan (RSV). Studi lebih lanjut mengungkapkan bahwa watsonianone menghambat aktivasi jalur NF- κ B melalui stimulasi sistem thioredoxin dan mengurangi spesies oksigen reaktif intraseluler (ROS) yang terkait erat dengan respon inflamasi. Ekstrak metanol daun *R. tomentosa* memiliki efek antiinflamasi pada makrofag terstimulasi LPS *in vitro* dan model inflamasi akut *in vivo*. Ekstrak menghambat produksi mediator inflamasi (NO dan PGE2) dalam sel RAW264.7 dan makrofag peritoneum yang terpajan LPS dengan cara yang bergantung pada dosis. Selain itu, *R. tomentosa* secara langsung menargetkan jalur pensinyalan aktivasi NF- κ B dan protein aktivator (AP)-1 melalui inhibisi langsung enzim Syk/Src dan IRAK1/IRAK4 (Jeong *et al.*, 2013).

Antioksidan

Ekstrak aseton daun *R. tomentosa* mempunyai aktivitas antioksidan secara *in vitro* dan *in vivo* (Lavanya *et al.*, 2012). Potensi sebagai antioksidan dengan aktivitas scavenging DPPH (Kusuma dkk, 2016; Rosli *et al.*, 2017). Hal ini disebabkan *R. tomentosa* terutama dapat menghambat peroksidasi lipid, meningkatkan kemampuan mereduksi dan menangkap radikal bebas tergantung dosis secara *in vitro*. Sementara itu, ekstrak *R. tomentosa* (0,8 g/kg) secara efektif mencegah peningkatan kadar zat reaktif asam tio-barbiturat (TBARS) dan penurunan kadar glutathione (GSH), superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT) dan glutathione peroksidase (GPx) yang diinduksi oleh CCl₄ pada tikus Swiss Albino. Buah *R. tomentosa* dilaporkan menunjukkan potensi efek antioksidan (Lai *et al.*, 2015). Senyawa fenolik dalam jumlah tinggi (49,21 mg setara asam galat/g berat kering)

menghasilkan kapasitas antioksidan yang tinggi (431,17 mol setara Trolox/g berat kering), menunjukkan potensi untuk dikembangkan sebagai sumber senyawa yang meningkatkan kesehatan. Kapasitas antioksidan dari sub-fraksi yang berbeda dari ekstraksi *R. tomentosa* dievaluasi dengan: uji *scavenging* radikal (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil, DPPH), kapasitas antioksidan pereduksi tembaga (CUPRAC) dan uji pemutihan-karoten (Abd Hamid *et al.*, 2017). Fraksi metanol menunjukkan aktivitas antioksidan paling signifikan pada pemutihan DPPH, CUPRAC dan β -karoten dengan nilai EC50 masing-masing 110,25; 53,84 dan 58,62 g/mL. aktivitas antioksidan yang kuat diduga berkaitan erat dengan adanya kandungan total flavonoid dan total fenol yang tinggi.

Aktivitas lain

Aktivitas lain dari *R.tomentosa* telah diteliti oleh Chai *et al* (2019). Senyawa rhodomyrtone memberikan efek antidepresan dalam mencegah penurunan perilaku sosial pada model tikus stres ringan-kronis (Chai *et al.*, 2019).

Senyawa rhodomyrtone mencegah gangguan memori spasial, membalikkan cacat kepadatan dendritik tulang belakang, menekan peningkatan aktivitas glikogen sintase kinase-3 β , dan membalikkan penurunan faktor neurotropik yang diturunkan dari otak dan kepadatan protein pascasinaps 95. Ekstrak petroleum eter dari daun dan batang *R. tomentosa* menunjukkan tingkat penghambatan asetilkolinesterase (AChE) yang signifikan (81%, 500 g/mL), dan memberikan efek inhibisi AChE, dengan nilai IC50 masing-masing 6,6; 8,8 dan 6,0 μ M (Qin *et al.*, 2019).

Ekstrak alkohol 70% dari *R. tomentosa* menunjukkan efek antiulkus. Efek antiulkus dibuktikan dengan penurunan indeks ulkus, peningkatan kadar superoksida dismutase dan katalase, dan penurunan peroksidasi lipid (Geetha *et al.*, 2015).

R. tomentosa berpotensi sebagai agen terapeutik untuk osteoporosis. Senyawa aktif yang diisolasi dari *R. tomentosa* diungkapkan mempromosikan aktivitas alkaline phosphatase, sintesis

kolagen, dan mineralisasi nodul sel osteoblastik MC3T3-E1. (Nguyen *et al.*, 2009).

Ekstrak etanol daun *R.tomentosa* dan konstituen aktif piceatannol dilaporkan menekan sitotoksitas yang diinduksi ultraviolet (UV) dalam kultur keratinosit epidermis manusia normal. Ekstrak dan senyawa piceatannol menurunkan produksi dimer siklobutana pirimidin yang diinduksi UV dan meningkatkan aktivitas enzim seluler DNA polimerase. Hal ini menunjukkan bahwa kerusakan DNA yang dirangsang oleh UV diperbaiki oleh polimerase (Shiratake *et al.*, 2015). Hasil ini mengungkapkan nilai pasar potensial untuk *R. tomentosa* dan kemungkinan untuk dikembangkan sebagai produk perawatan kulit.

1.5 Toksisitas

Toksisitas ekstrak etanol daun karamunting termasuk lemah pada dosis 8 kali MIC (Limsuwan *et al.*, 2012). LD50: 43,4 dan 8,5 g/ml (Kusuma *et al.*, 2016).

Ekstrak etanol daun *R.tomentosa* dengan dosis 0,5-3,0 g/kg berat badan mencit diberikan secara oral setiap hari sampai 14 hari. Integritas perilaku dan fungsional dinilai dengan analisis baterai observasional fungsional (FOB). Perubahan histopatologi dan ultrastruktur divisualisasikan masing-masing di bawah mikroskop cahaya dan mikroskop elektron transmisi. Ekstrak pada konsentrasi hingga 3,0 g/kg berat badan per hari selama 14 hari tidak menyebabkan kematian. Ekstrak pada 0,5-2,0 g/kg berat badan tidak menunjukkan efek samping atau tanda-tanda toksisitas. Terbukti ekstrak *R. tomentosa* aman sampai dosis 2,0 g/kg berat badan mencit per hari yang setara dengan 20,0 g/hari untuk 70 kg orang. Menurut Pedoman Pengembangan Kerjasama Ekonomi (OECD), dosis mematikan ekstrak *R. tomentosa* berada di bawah nilai kelas empat tanpa tanda-tanda toksisitas pada 2,0 g/kg berat badan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *R. tomentosa* dianggap aman karena tidak ada efek samping terkait penggunaannya (Mordmuang *et al.*, 2021).



BAB 3

INFLAMASI, ASMA DAN DEBU BATUBARA

3.1 Asma

Asma adalah penyakit inflamasi kronis saluran nafas, yang mempengaruhi lebih dari 300 juta orang. Patogenesis asma menunjukkan heterogenitas yang ditandai dengan banyak fenotipe yang menentukan karakteristik yang terlihat dan endotipe yang menentukan mekanisme molekuler (Kaur & Chupp., 2019).

Asma dikaitkan dengan aktivasi sistem kekebalan, hiperresponsif saluran napas (*airway hyperresponsiveness* (AHR), aktivasi sel epitel, produksi mukus yang berlebihan dan remodeling saluran napas. Baik imunitas bawaan maupun adaptif berperan dalam mekanisme imunologis asma. Asma tipe 2 dengan eosinofilia adalah fenotipe umum pada asma. Ini terjadi dengan dan tanpa alergi yang terlihat (Lambrecht *et al.*, 2019).

Endotipe tipe 2 terdiri dari; Sel T helper tipe 2 (Th2), sel limfoid bawaan tipe 2 (ILC2), sel B yang mensekresi IgE dan eosinofil. Asma eosinofilik nonalergi didominasi ILC2, yang menghasilkan IL-5 untuk merekrut eosinofil ke dalam mukosa saluran napas. Subkelompok utama kedua asma adalah asma non-tipe 2, yang mengandung kelompok endotipe dan fenotipe yang heterogen, seperti asma yang disebabkan oleh olahraga, asma yang diinduksi oleh obesitas, dll (Akar-Ghibril *et al.*, 2020; Kaur & Chupp., 2019).

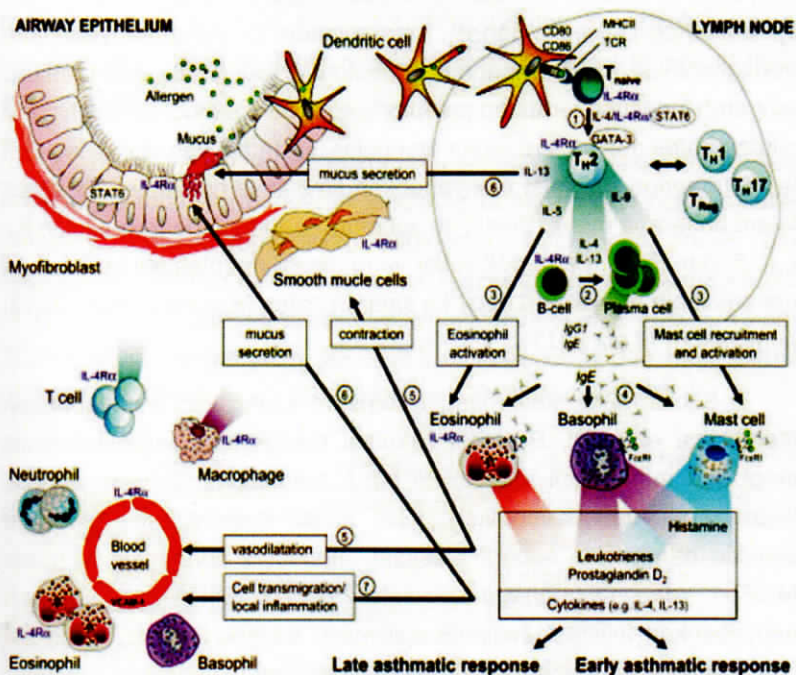
Asma neutrofilik tidak diinduksi oleh alergen tetapi dapat diinduksi oleh infeksi, asap rokok dan polutan (Cooper *et al.*, 2020). IL-17 yang diproduksi oleh sel Th17 dan ILC tipe 3, dapat merangsang inflamasi saluran napas neutrofilik. Makrofag, sel

dendritik, dan sel NKT semuanya mampu memproduksi sitokin yang diketahui berkontribusi pada asma alergi dan non-alergi. Aktivasi sel epitel bronkus dan pelepasan sitokin, seperti IL-33, IL-25 dan TSLP memainkan peran utama dalam asma. Terutama, alergen atau paparan lingkungan terhadap agen beracun, seperti polutan, knalpot diesel, deterjen dapat mempengaruhi penghalang epitel yang mengarah pada perkembangan asma (Potaczek *et al.*, 2020; Sözüner *et al.*, 2020).

3.2 Patofisiologi asma

Gambaran khas inflamasi asma yaitu sel mast aktif, peningkatan jumlah eosinofil aktif, peningkatan jumlah reseptor sel T yang berlainan, natural killer T sel dan T helper 2 limfosit (TH2). Mekanisme imun yang menggerakkan proses inflamasi diperantarai sel-sel imun, terutama sel limfosit T. Jumlah sel limfosit T CD4⁺ meningkat pada hewan coba yang disensitisasi ovalbumin dengan dominasi sel limfosit Th2 (Faturrahman *et al.*, 2012; Kasaian *et al.*, 2013; Munayakorn *et al.*, 2013).

Paparan alergen pada saluran nafas selanjutnya terjadi prosesing alergen dan presentasi antigen (Ag) oleh sel dendritik menginduksi diferensiasi sel T CD4⁺ naive menjadi sel efektor Th2. Sel ini mensekresi sitokin IL-4 dan IL-13. Sitokin IL-4 berperan penting dalam tahapan diferensiasi TH2. Sinyal IL-4 melalui IL-4R mengaktifasi faktor transkripsi stat6, berfungsi untuk meningkatkan ekspresi protein faktor transkripsi GATA-3 spesifik Th2-lineage. GATA-3 berikatan ke skuen gen sitokin Th2 (IL-4, IL-5, IL-9, dan IL-13) dan mempromosikan ekspresinya. Sitokin IL-4 bersama dengan IL-13 dapat mendorong sel B untuk menghasilkan IgE. IL-4 bersama dengan IL-9, IL-13 menarik dan mendorong diferensiasi sel mast. Sitokin tersebut juga meningkatkan afinitas reseptor IgE pada sel mast tapi mengurangi afinitas reseptor IgE pada sel B dan sel fagosit mononuklear (gambar 3.1) (Wenzel, 2012; Maest *et al.*, 2012).



Gambar 3.1 Gambaran aktivasi faktor transkripsi oleh kaskade signal IL-4 dan IL-13. (1) Peranan IL-4 untuk diferensiasi ke arah TH₂, (2) Polarisasi sel B untuk menghasilkan IgE spesifik alergen diperantarai IL-4 dan IL-13, (3) Efek IL-5 pada aktivasi dan rekrutmen eosinofil dan IL-9 aktivasi serta rekrutmen sel mast, (4) IgE yang dilepaskan sel plasma berikatan dengan reseptor IgE pada sel mast, basofil dan eosinofil, (6) Histamin, leukotrien, prostaglandin D₂ menginduksi kontraksi sel otot polos dan vasodilatasi pembuluh darah, (7) Sitokin IL-13 dan IL-4 menginduksi sekresi mukus dan hiperplasia sel goblet, (8) Sitokin IL-4 dan IL-13 berkontribusi pada rekrutmen sel inflamasi dengan meningkatkan pengaturan ekspresi vascular cell adhesion molecular-1, yang memfasilitasi transmigrasi eosinofil, basofil, monosit, dan sel T karena respon dari kemokin yang diturunkan sel mast (respon lambat asmaatik), (9) Sitokin IL-13 meningkatkan produksi kolagen pada fibroblast melalui aktivasi TGF- β , MMP (Maest et al., 2012)

Sel limfosit B memiliki peranan penting pada asma melalui sintesis IgE. Immunoglobulin E menempel pada sel mast jaringan dan basofil sirkulasi melalui reseptor Fc (Fc ϵ RI) yang diekspresikan di permukaan sel. Alergen menempel pada IgE spesifik dan berikatan dengan sel mast, kemudian terjadi aktivasi sel mast yang akan menyebabkan

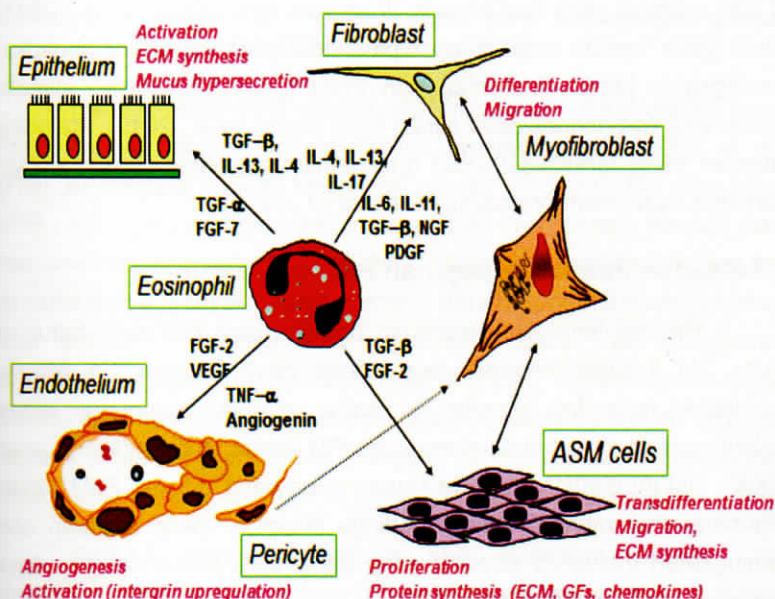
pelepasan mediator-mediator inflamasi seperti histamin, leukotrien C₄, leukotrien D₄, leukotrien E₄, prostaglandin D₂ yang menyebabkan bronkokonstriksi. Hal tersebut menyebabkan terjadi gejala asma melalui pengaruh langsung terhadap reseptor syaraf dan pembuluh darah pada saluran nafas dan juga reseptor otot polos. Histamin dan leukotrien dari basofil maupun sel mast menyebabkan timbulnya gejala secara cepat dalam beberapa menit. Selain itu sel mast akan melepaskan sitokin IL-4, IL-5, dan IL-13. *Stem-cell factor* yang dihasilkan oleh sel epitel akan menarik lebih banyak sel mast ke saluran nafas (Kasaian *et al.*, 2013; Munayakorn *et al.*, 2013).

Sitokin IL-5 akan menuju sumsum tulang dan menyebabkan diferensiasi eosinofil. Eosinofil sirkulasi masuk ke daerah inflamasi alergi dan mengalami migrasi ke paru, mengalami aktivasi, adhesi, ekstrasvasi dan kemotaksis. Sel epitel melepaskan beberapa kemokin dan sitokin seperti eotaksin, *monocyte chemotactic protein* (MCP)-1, dan *macrophage inflammatory protein* (MIP)-1 α , yang akan menyebabkan infiltrasi eosinofil, sel mast, basofil, limfosit T dan sel Langerhan ke saluran nafas. Eosinofil teraktivasi melepaskan mediator inflamasi antara lain leukotrien, faktor pertumbuhan, enzim elastase, metaloproteinase, kemokin (RANTES, MIP-1 α , eotaksin), mediator lipid dan sitokin untuk mencederai saluran nafas. Survival eosinofil diperlama oleh IL-4 dan GM-CSF, mengakibatkan inflamasi saluran nafas persisten (Faturrahman *et al.*, 2012; Wenzel, 2012; Kasaian *et al.*, 2013; Munayakorn *et al.*, 2013).

Eosinofil juga terlibat dalam remodeling saluran nafas yang akan menyebabkan *refractory asthma*. Fibrosis subepitel terlihat pada proses remodeling asma alergi (gambar 3.2). Eosinofil menghasilkan sitokin, kemokin, mediator lipid, faktor pertumbuhan dan mampu meningkatkan sekresi mukus, menyebabkan fibrosis subepitel. Eosinofil teraktivasi melepaskan protein toksik yang mengakibatkan kerusakan jaringan saluran nafas yaitu *major basic protein* (MBP) dan eosinophil cationic protein (ECP) yang merusak sel epitel dan syaraf, *eosinophil-derived neurotoxin* (EDN), *eosinophil peroxidase* dan mediator lipid. Eosinofil menghasilkan protein yang menyebabkan fibrogenesis dan angiogenesis yang dapat mengaktifkan sel mesenkim dan merangsang

sintesis protein matriks ekstraseluler (ECM). Aktivasi fibroblast dilakukan oleh IL-4, IL-6, IL-11, IL-13, IL-17, TGF- β , NGF dan PDGF. Sitokin tersebut akan menyebabkan diferensiasi dan migrasi fibroblast (Kay, *et.al.*, 2004).

Transforming growth factor (TGF)- β dan *fibroblast growth factor* (FGF)-2 mempunyai pengaruh langsung terhadap otot polos saluran nafas. Eosinofil menghasilkan *angiogenic factor* yaitu VEGF dan angiogenin. Sel endotel diaktifkan oleh FGF-2 dan *tumor necrosis factor* (TNF)- α . Sitokin yang dilepaskan eosinofil yakni TGF- β , IL-4, IL-13 dan TGF- α akan mengaktifkan sel epitel, sintesis ECM dan hipersekresi mukus (Al-Muhsen *et al.*, 2011; Holgate, 2012; Wenzel, 2012).



Gambar 3.2. Peranan eosinofil pada remodeling saluran nafas asma. Eosinofil menghasilkan sejumlah protein yang terlibat dalam fibrogenesis dan angiogenesis (Kay, *et.al.*, 2004).

3.2 Particulate matter Debu Batubara

Particulate matter (PM) debu batubara salah satu contoh polutan udara yang banyak terdapat di daerah tambang batubara. Badan Geologi Indonesia (2015) menunjukkan bahwa Kalimantan Selatan termasuk

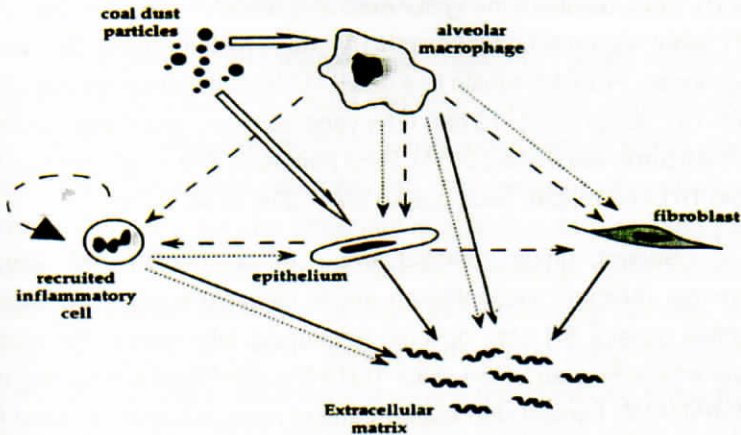
salah satu 3 propinsi penghasil tambang batubara yang terbesar di Indonesia. Tambang batubara meningkatkan devisa negara, namun di sisi lain PM debu batubara merupakan salah satu polusi udara penting di daerah tambang batubara. Inhalasi debu batubara berkontribusi terhadap peningkatan penyakit pernafasan termasuk peningkatan remodeling paru pada hewan (Kania *et al.*, 2011; Saputri *et al.*, 2014).

Particulate matter debu batubara yang terinhalasi memicu terjadinya inflamasi, stres oksidatif dan remodeling paru. Komponen debu batubara yang berbahaya terhadap kesehatan adalah Pb, Cr, Cd, Ni, Cu, Co, dan Zn (Ishtiaq *et al.*, 2018). Komposisi debu batubara Kalimantan Selatan adalah logam transisi yaitu Fe, Si, Mo, Al, Ca, S, Ti dan mineral yang lain berada di bawah <1% (Kania *et al.*, 2011). Studi pada hewan coba yang dipajan debu batubara membuktikan peningkatan jumlah makrofag dan PMN (polimorfonuklear) alveolar dalam BAL (*bronchoalveolar liquid*) tikus (Kania *et al.*, 2012). Makrofag alveolar yang teraktivasi akan melepaskan mediator seperti sitokin, kemokin, dan enzim proteolitik (Kania *et al.*, 2012).

3.3 Respon imunologi pajanan PM debu batubara

Respon imun paru terhadap pajanan akut PM debu batubara yaitu, (1) infiltrasi leukosit dan influks neutrofil, dan (2) adanya dominansi makrofag alveolar. Makrofag alveolar berpotensi utama dalam membersihkan dan memproses PM debu batubara (Pinho *et al.*, 2005). Hal ini dibuktikan pada hewan coba yang dipajan PM₁₀ debu batubara akut menunjukkan terjadinya inflamasi yang dicirikan oleh peningkatan makrofag alveolar yang berkorelasi positif dengan dosis pajanan (Kania *et al.*, 2012).

Particulate matter debu batubara terinhalasi akan masuk ke bronkiolus terminal, menarik makrofag alveolar, leukosit, neutrofil ke bagian yang terdapat PM debu batubara. Makrofag alveolar dan interstitial akan memfagosit partikel tersebut. Makrofag alveolar mempunyai peran poten dalam membersihkan PM debu batubara, transportasi dan memprosesnya melalui mukosiliar atau limfatik interstitial (Gambar 3.3) (Schins & Borms, 1999).



Gambar 3.3 Overview jalur seluler utama yang berhubungan dengan perkembangan CWP (Schins & Borms, 1999)

Partikel kasar (PM ukuran $\leq 10 \mu\text{m}$) menginduksi respon imun innate melalui jalur *endotoxin-toll-like receptor* (TLR)-4 (He *et al.*, 2010). Sementara partikel halus (PM ukuran $\leq 2,5 \mu\text{m}$) dan ultra halus (UFP, $\leq 0,1 \mu\text{m}$) menginduksi melalui ROS oleh logam transisi dan/ atau poliaromatik hidrokarbon (PAH). *Particulate matter* 2,5 dibagian permukaannya banyak logam transisi dan berpotensi meningkatkan stres oksidatif. Partikel ultra halus kaya PAH, juga mempunyai kemampuan untuk menyebabkan stres oksidatif. Respon imun innate ditandai dengan aktivasi faktor transkripsi *nuclear factor- κB* (NF- κB) dan *activator protein-1* (AP-1) dan mengatur produksi sitokin proinflamasi termasuk IL-1 β , IL-6, dan TNF- α (Huang *et al.*, 2002; Ulker *et al.*, 2008).

Partikel debu difagositosis oleh makrofag alveoler dan interstitial melalui jalur opsonin (Ab dan komplemen) dan endositosis tidak tergantung opsonin yaitu melalui scavenger reseptor/SR (SRI/II, dan MARCO/*magrofag receptor collagen structure*). Partikel yang berinteraksi dengan SR-A memberikan efek pengurangan regulasi ekspresi sitokin proinflamasi dan mencegah infiltrasi PMN ke jaringan paru (Beamer *et al.*, 2010). Pada jalur kedua terutama debu yang mengandung komponen anorganik. Partikel terinternalisasi memacu respon adaptif yang melibatkan ekspresi *major histocompatibility complex class II* (MHC II), perekrutan molekul *costimulatory* dan respon

sel Th. Debu batubara mengatur makrofag alveoler mengarahkan profil Th1 tetapi respon skunder ke arah Th1 atau Th2 tergantung dari kondisi lingkungan. Produksi sitokin IL-4 dan IL-10 lebih dominan maka profil ke arah Th2, tetapi jika IL-12 dan IFN γ yang dominan, profil lebih dominan Th1 (Myata & van Eeden, 2011). Hasil penelitian Zho, *et al* menunjukkan rasio Th1/Th2 rendah pada pasien CWP (Zho *et al.*, 2014).

Secara umum partikel debu difagosit oleh AM dengan berbagai reseptor, mengaktifkan sinyal intraseluler serta endositosis partikel melalui SR atau opsonin tergantung jalur fagosit (fagositosis diperantarai Fc atau CR3). Jalur TLR4-MyD88-IRAK4 dirangsang oleh PAMP/DAMP berasal dari materi partikel mengakibatkan aktivasi NF- κ B/AP-1 yang lebih diaktifkan oleh kalsium intraseluler diinduksi ROS. Senyawa oksigen reaktif akibat pajanan materi partikulat merupakan molekul signaling yang mengaktifkan faktor transkripsi yakni NF- κ B dan AP-1 serta mengubah signal mitogenik dan fibrogenik yang melibatkan IL-6. *Activator protein-1* dan *nuclear factor of activated T cells* (NFAT) adalah faktor transkripsi penting yang mengendalikan upregulasi sitokin proinflamasi (Huang *et al.*, 2002). Aktivasi jalur MyD88 mempromosikan pematangan APC termasuk produksi IL-12 (faktor polarisasi Th1). Sementara stres oksidatif yang berlebihan menyebabkan peningkatan sitokin seperti IL-4 dan IL-10 yang mengatur polarisasi ke arah Th2. Aktivasi jalur MyD88 juga dihubungkan dengan produksi monosit dan pelepasan monosit dari sumsum tulang. Monosit yang dilepaskan akan direkrut ke paru untuk berdiferensiasi menjadi monosit jaringan dan makrofag alveoler (Myata & van Eeden, 2011).

Makrofag alveoler yang teraktivasi akan melepaskan mediator seperti sitokin, kemokin, enzim proteolitik. Kemoatraktan yang dilepaskan makrofag memicu perekrutan monosit darah perifer atau netrofil dari darah perifer. Sel epitel, fibroblast, dan sel endotel juga turut teraktivasi dan melepaskan berbagai mediator yang meningkatkan infiltrasi sel-sel inflamasi ke ruang dan dinding alveoler paru. Pada saluran nafas pekerja tambang batubara ditemukan peningkatan kadar IL-1 β , IL-6, dan TNF- α serta *intercellular cell adhesion molecule* (ICAM)-1 dan model hewan dengan fibrosis paru. Mediator-mediator tersebut ikut berperan dan proses remodeling melalui stimulasi proliferasi fibroblast

dan sintesis kolagen (Yucesoy *et al.*, 2008).

Fibroblast akan mensekresi retikulin, suatu senyawa yang berfungsi untuk mengikat makrofag. Sekresi retikulin akan meningkat berkaitan dengan banyaknya makrofag yang lisis (Lyon *et al.*, 2004). Banyaknya makrofag lisis dan mediator yang disekresi seperti ROS dan mediator inflamasi di alveolus dan jaringan paru menyebabkan kerusakan bronkiolus dan alveolus yang akhirnya terjadi perubahan arsitektur normal paru misalnya fibrosis dan emfisema yang merupakan bentuk remodeling pada bronkiolus dan alveolus. Inhalasi debu batubara yang mengandung silika akan mempercepat melisis makrofag dan fibroblast memicu lebih banyak lagi produksi kolagen di percabangan limfatik. Makrofag yang bermigrasi sampai pembuluh limfatik kemudian lisis maka akan semakin banyak disekresikan retikulin dan kolagen oleh fibroblast di pembuluh darah dan menyebabkan nekrosis iskemik (Zhou *et al.*, 2012).

3.4 Inflamasi pada kombinasi asma dan pajanan debu batubara

Ada beberapa faktor mempengaruhi keparahan asma. Faktor-faktor tersebut antara lain alergen, asap rokok, polusi udara, bahan bakar biomassa dan genetik (Leung & Sin, 2017; Hikichi *et al.*, 2018), debu batubara (Fujiati *et al.*, 2019). Asma dengan gejala mirip COPD dikenal dengan Asma-COPD overlap (ACO) ditandai dengan keterbatasan aliran udara persisten dengan beberapa ciri khas yang terkait dengan asma dan COPD (Hikichi *et al.*, 2018). Inflamasi yang terjadi pada ACO dengan peningkatan jumlah eosinofil, rasio neutrofil dan limfosit darah, FeNO yang dihembuskan (li *et al.*, 2020).

Hasil penelitian menunjukkan pajanan PM5 debu batubara pada mencit asma dapat mempengaruhi konsentrasi IL-13 (sitokin dari sel Th2), TGF- β 3 cairan BAL (Tabel 3.1) (Fujiati *et al.*, 2019).

Tabel 3.1 Rerata kadar IL-13 dan TGF- β 3 cairan BAL

	Kontrol	PM5 debu batubara	OVA	OVA + PM5 debu batubara
	(K)	(P1)	(P2)	(P3)
IL-13 (ng/L)	55,02 \pm 4,90	69,07 \pm 6,47*	65,60 \pm 5,05*	59,04 \pm 5,40 [±]
TGF- β 3 pg/ml)	181,37 \pm 28,05	201,86 \pm 15,08*	213,52 \pm 10,49*	223,08 \pm 25,13*

Keterangan: *p<0,05 berbeda bermakna dibandingkan kelompok kontrol;
^op<0,05 berbeda bermakna dibandingkan kelompok dipajan PM5 debu batubara.
[±]p<0,05 berbeda bermakna dibandingkan kelompok disensitisasi OVA.

Kadar IL-13 meningkat ditemukan pada model hewan disensitisasi ovalbumin, atau pada asma (Lee *et al.*, 2017; Nakamura *et al.*, 2017). Hasil penelitian menggambarkan kadar IL-13 pada model kombinasi mencit yang disensitisasi OVA dan PM5 debu batubara lebih rendah bermakna dibandingkan dengan yang hanya disensitisasi OVA. Hasil tersebut mengimplikasikan bahwa PM5 debu batubara kemungkinan mempengaruhi keseimbangan sel Th1/Th2 pada keadaan setelah sensitisasi OVA yang sebelumnya didominasi sel Th2. Kemungkinan sitokin yang dilepaskan sel Th1 yang terlibat pada fenomena tersebut adalah IL-2 dan IFN- γ . Sitokin proinflamasi IL-2 dan IFN- γ berpartisipasi dalam perkembangan peradangan (Hanada T & Yoshimura A, 2002; Zhu J & Paul WE, 2010). Sitokin IFN- γ telah menghambat ekspresi IL-13 *in vivo* dan *ex vivo* pada infeksi Rhinovirus tikus belum dewasa (Han *et al.*, 2017).

Pergeseran keseimbangan Th1/Th2 ke arah profil Th1 mungkin memproteksi dari asma dan alergi. Setelah pajanan PM5 debu batubara kemungkinan sitokin seperti IFN- γ yang disekresi sel Th1 ikut terlibat dalam penghambatan sekresi IL-13. IFN- γ efektor utama sel Th1, mempunyai peran penting dalam diferensiasi sel Th1, menginduksi produksi IL-12 oleh sel dendritik dan makrofag. IFN- γ juga memberikan efek penghambatan langsung pada produksi sitokin sel Th2, mengurangi kadar IL-4 dan IL-5. Jalur signal IFN- γ dengan mengaktifkan protein T-bet, protein transkripsi spesifik Th1, dan faktor penekan Th2. Sitokin

tersebut juga menekan hiperresponsifitas dan inflamasi saluran nafas dari hewan coba yang diinduksi RSV/*Respiratory syncytial virus* (menginduksi eksaserbasi asma) (Nguyen *et al.*, 2018).

Hasil penelitian yang diperoleh menggambarkan kadar TGF- β_3 BAL kelompok perlakuan lebih tinggi bermakna dibandingkan dengan kontrol negatif. Hal ini disebabkan bahwa OVA maupun PM5 debu batubara dapat menstimulasi produksi TGF- β_3 . Individu yang terpajan debu batubara menunjukkan adanya peningkatan TGF- β serum (Lee, *et al.*, 2014). Studi Kariyawasam *et al* menunjukkan ada peningkatan mRNA TGF- β_3 dalam saluran nafas tikus alergi, tetapi tidak ada perubahan pada mRNA TGF- β_1 dan TGF- β_2 (Kariyawasam *et al.*, 2009). Peningkatan pengaturan produksi TGF- β_3 pada saluran nafas hewan alergi salah satunya disebabkan defisiensi faktor aktivasi reseptor Lyn, tirosin kinase nonreseptor. Lyn mengatur penurunan produksi TGF- β_3 (Li *et al.*, 2013). Paparan PM5 debu batubara mempunyai kecenderungan meningkatkan produksi TGF- β_3 pada mencit yang disensitisasi OVA, walaupun tidak bermakna.

Tabel 3.2 Rerata jumlah eosinofil, kadar IL-13, TGF- β_3 , paru

	Kontrol (K)	PM5 debu batubara (P1)	OVA (P2)	OVA + PM5 debu batubara (P3)
Eosinofil (%)	2,17±0,41	4,67±0,52*	5,17±0,75*	6,33±0,52**†
IL-13 (ng/L)	21,80±4,88	15,30±3,09*	12,87±1,41*	18,285±2,89 [‡]
TGF- β_3 (pg/ml)	53,09±11,65	43,842±7,88	33,895±2,30*	41,324±2,01 [‡]

Keterangan: *p<0,05 berbeda bermakna dibandingkan kelompok kontrol;

°p<0,05 berbeda bermakna dibandingkan kelompok dipajan PM5 debu batubara.

‡p<0,05 berbeda bermakna dibandingkan kelompok disensitisasi OVA.

Peningkatan respon inflamasi melalui peningkatan sel inflamasi dan produksi sitokin inflamasi sebagai pemicu dalam peningkatan eksaserbasi asma. Hasil penelitian menunjukkan peningkatan infiltrasi sel inflamasi eosinofil, TGF- β_3 , dan IL-13 jaringan paru (Tabel 3.2). Hasil ini menunjukkan bahwa debu batubara sebagai agen potensial dalam meningkatkan inflamasi dalam penyakit paru.

Kadar IL-13 homogenat paru semua perlakuan kecenderungan lebih rendah dari kontrol. Hal ini dimungkinkan adanya komunikasi seluler sel-sel inflamasi di ruang udara alveolar dengan jaringan struktural memungkinkan mediator yang dilepaskan sel inflamatori dan respon sel epitel memberikan sinyal untuk pergerakan sel-sel inflamasi jaringan menuju tempat alergen atau partikel polutan. Pemberian alergen berulang memungkinkan adanya mekanisme adaptasi pembersihan alergen yang ditunjukkan oleh penurunan inflamasi (<kontrol) paru. Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan Bruggemann *et al.*, (2017) yang membuktikan adanya peningkatan produksi IL-13 jaringan paru setelah sensitisasi OVA (Bruggemann *et al.*, 2017). Ban *et al* (2012) dalam studinya mengemukakan pajanan berulang menyebabkan terjadinya penurunan inflamasi. Pengukuran kadar IL-13 di jaringan paru pada pajanan kronik OVA tidak tepat sebagai penanda inflamasi kronik. Huang *et al.*, (2018) menyarankan bahwa evaluasi sitokin proinflamasi lebih baik di cairan BAL.

Akumulasi populasi berbeda makrofag yang diturunkan dari monosit dan aktivasi residen makrofag jaringan menyebabkan perubahan fenotipe sesuai perkembangan respon inflamatori pada organ. Beberapa penelitian menjelaskan bahwa ada perbedaan mendasar untuk awal dan sinyal homeostasis pada residen makrofag jaringan dan makrofag yang diturunkan dari monosit, dan monosit mampu berkembang menjadi bermacam-macam fenotipe dan fungsi setelah masuk ke jaringan. Pada penelitian ini didapatkan bahwa untuk ketiga kelompok perlakuan ada kecenderungan kadar IL-13 lebih rendah dibandingkan dengan kontrol negatif. Hal ini dimungkinkan setelah sensitisasi ovalbumin maupun pajanan debu batubara, makrofag di alveoler lebih banyak dibandingkan dengan di parenkima paru. Makrofag jaringan paru deplesi mempengaruhi imunitas yang diperantrai sel Th2. Makrofag berperan penting dalam rekrutmen dan aktifasi sel CD4+ Th2 jaringan paru, seperti yang dijelaskan oleh Borthwick *et al.* bahwa makrofag jaringan yang deplesi tidak mampu menarik sel T ke jaringan dan secara aktif memelihara respon imun yang berlokasi di jaringan sehingga dengan cepat menyelesaikan inflamasi dan fibrosis oleh IL-13 yang diturunkan dari sel Th2 sehingga kadar IL-13 serta IL-5 berkurang di jaringan paru

(Borthwick *et al.*, 2016). Polarisasi fenotipe makrofag yang aktif setelah injuri paru mempengaruhi aktivasi sel T untuk mengekspresikan IL-4 dan IL-13 (Chung *et al.*, 2016).

Mekanisme inflamasi saluran nafas kronis pada asma dipertimbangkan tergantung pada infiltrasi dan aktivasi berkelanjutan sel inflamasi. Sel-sel inflamasi yang terlibat antara lain limfosit, eosinofil, neutrofil, basofil, dan makrofag yang diikuti dengan sintesis dan pelepasan berbagai mediator inflamasi, sitokin, dan ROS. Sitokin yang dilepaskan berbagai sel tersebut memberikan karakteristik khas dari respon imun sel Th2, termasuk sintesis IgE, eosinofil, aktivasi sel mast, hiperplasia sel goblet, dan polarisasi makrofag. Sitokin seperti IL-4 dan IL-13 memberikan efek pada sel endotel vaskular, sel epitel saluran nafas untuk mengekspresikan molekul adhesi, kemokin dan produksi TGF- β . Molekul-molekul tersebut mengarahkan masuknya sel eosinofil, basofil, limfosit dan lain-lain dari sirkulasi ke jaringan paru (Bezerre-diaz *et al.*, 2017)


Limfosit Th2 adalah kunci dari inflamasi yang diinduksi OVA dan asma early-onset (Faturrahman *et al.*, 2012; Kasaian *et al.*, 2013; Munayakorn *et al.*, 2013), memulai dan mengembangkan inflamasi melalui pelepasan sitokin IL-4, IL-5, IL-13, dan TGF- β yang berperan merekrut dan mengaktifkan eosinofil, sel-sel efektor pada asma. Infiltrasi eosinofil ke saluran nafas berkaitan dengan produksi IL-5, sitokin penting untuk proliferasi, aktivasi dan migrasi eosinofil (Munayakorn *et al.*, 2013).

Pajanan alergen pada saluran nafas menyebabkan terjadi prosesing alergen dan presentasi antigen (Ag) oleh sel dendritik menginduksi diferensiasi sel T CD4+ naive menjadi sel efektor Th2 (Barlianto *et al.*, 2009). Sel ini mensekresi sitokin IL-4, IL-5, IL-9 dan IL-13. Sitokin IL-4 berperan penting dalam tahapan diferensiasi TH2. Sitokin IL-13 bersama dengan IL-4 dapat mendorong sel B untuk menghasilkan IgE. Interleukin-13 bersama dengan IL-4 dan IL-9, menarik dan mendorong diferensiasi sel mast. Sitokin IL-5 akan menuju sumsum tulang dan menyebabkan diferensiasi eosinofil. Eosinofil sirkulasi masuk ke daerah inflamasi alergi dan mengalami migrasi ke

paru, mengalami aktivasi, adhesi, ekstrasvasasi dan kemotaksis.

Eosinofil teraktivasi melepaskan mediator inflamasi antara lain TGF- β , dan IL-13 akan mengaktivasi sel epitel, sintesis ECM dan hipersekresi mukus untuk mencederai saluran nafas (Kozlik *et al.*, 2021; Kandikattu *et al.*, 2021). Pada penelitian ini didapatkan peningkatan jumlah eosinofil dan kadar IL-13 jaringan paru secara signifikan setelah sensitisasi OVA. Infiltrasi eosinofil dan IL-13 mencerminkan gambaran inflamasi alergi, dan dapat digunakan sebagai standar adanya sensitisasi oleh OVA. Hasil penelitian ini sama dan konsisten dengan studi lain, bahwa sensitisasi OVA dapat meningkatkan eosinofil (Ma *et al.*, 2021; Shin *et al.*, 2018).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pajanan debu batubara mempengaruhi secara bermakna kadar TGF- β 3 paru mencit yang disensitisasi OVA. *Transforming growth factor*- β 3 diekspresikan lebih tinggi dalam makrofag alveoler dan sel epitel bronkiolus setelah pemberian alergen HDM (Li *et al.*, 2017). Efek pajanan PM5 debu batubara terhadap kadar TGF- β 3 di paru merupakan penelitian yang baru. Beberapa penelitian lebih banyak menjelaskan efek debu batubara terhadap TGF- β 1 pada pekerja tambang batubara yang memiliki fibrosis. Studi sebelumnya menjelaskan partikulat debu batubara meningkatkan aktivasi makrofag alveoler (Kania *et al.*, 2012). Sel inflamasi ini merupakan salah satu sumber yang mengekspresikan TGF- β 3 (Okumura *et al.*, 2015). Hal ini memungkinkan peningkatan kadar TGF- β 3 paru pada kelompok yang disensitisasi OVA dan dipajan PM5 debu batubara dipengaruhi oleh aktivasi makrofag alveoler.



BAB 4

ANTI-INFLAMASI DAUN KARAMUNTING PADA KOMBINASI ASMA DENGAN BATUBARA

4.1 Docking dari senyawa ekstrak etanol daun karamunting (*R.tomentosa*) pada NF- κ B

Jalur sinyal *nuclear factor- κ B* merupakan salah satu jalur pengaturan respon inflamasi dengan menginduksi produksi sitokin proinflamasi seperti IL-1 β , IL-6, IL-8, dan TNF- α . Aktivasi yang kuat dari jalur pensinyalan NF- κ B dalam sel epitel saluran napas diamati pada pasien asma (Suzuki *et al.*, 2011; Xu *et al.*, 2020). Jalur ini dapat dihambat dengan inhibitor yang berasal dari tanaman sehingga dapat meredam inflamasi yang berkepanjangan. Studi yang dilakukan Herath *et al* (2020) dengan menggunakan senyawa polifenol ekstrak *Sargassum horneri* sebagai anti-inflamasi melalui inhibisi aktivasi NF- κ B. Hasilnya (1) mengurangi infiltrasi granulosit ke dalam saluran napas, (2) menekan ekspresi mRNA dari TLR (TLR2/4/7) yang bergantung pada MyD88, (3) menurunkan ekspresi sitokin pro-inflamasi (IL-1 β , TNF- α , TGF- β , IL-6), sitokin pro-alergi (TSLP, IL-25, IL-33), dan kemokin (IL-8) di paru tikus asma yang diperburuk oleh PM. Contoh lain adalah penggunaan minyak atsiri dari daun *Abies holophylla* (EOA) yang memiliki sifat anti-inflamasi terkait dengan jalur pensinyalan terkait IL-17. EOA menghambat hiperplasia epitel pernapasan, deposisi kolagen dan aktivasi sel goblet di paru dan jaringan trakea. Selain itu, EOA mengurangi jumlah eosinofil, limfosit dan makrofag di BALF, menghambat sitokin terkait IL-17, meningkatkan sitokin terkait Treg dan menurunkan TRAF6 dan MAPK dan, menekan aktivitas transkripsi nuklir NF- κ B, dalam model tikus asma (Herath *et al.*, 2020; Park *et al.*, 2021).

Daun karamunting (*R.tomentosa*) mengandung komponen yang bersifat aktivitas anti-inflamasi (Na-Phatthalung *et al.*, 2018). Komponen tersebut antara lain flavonoid, fenol, triterpenoid dan meroterpenoid (Kuntorini *et al.*, 2019; Na-Phatthalung *et al.*, 2018; Sutomo dkk., 2016).

Berdasarkan hasil GC-MS diperoleh senyawa organik dalam ekstrak etanol daun karamunting antara lain: Trans- β -ionon-5,6-epoxide, Trans-caryophyllene, dan nerol (Brian *et al.*, 2021). Trans- β -ionon-5,6-epoxide merupakan salah satu golongan karbonil dengan rumus kimia $C_{13}H_{20}O_2$ atau 4-(2,2,6-Trimethyl-7-oxabicyclo [4.1.0] hept-1-yl)-3-buten-2-one. Kerangka karbon tersusun dari isoprena unit C (CH=C(CH)-CH=CH), yang terdiri dari 5 atom karbon yang melekat pada 8 atom hidrogen (C₅H₈) (UNEP, 2014).

Trans (β)-caryophyllene termasuk sesquiterpenoid dengan rumus molekul trans-4,11,11-trimethyl-8-methylene bicyclo [7,2,0] undec-4-ene (C₁₅H₂₄), berat molekul 204 (Chang *et al.*, 2007). Nerol (C₁₀H₁₈O) (cis-2,6-dimethyl-2,6-octadien-8-ol), suatu monoterpen asiklik, secara alami terdapat dalam minyak atsiri tumbuhan (Marques *et al.*, 2013; Mo *et al.*, 2021).

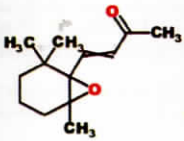

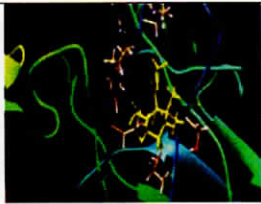
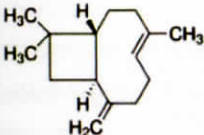
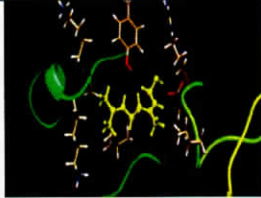
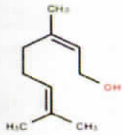
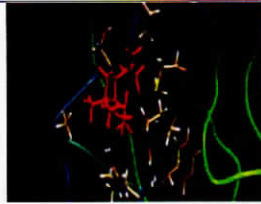
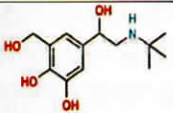
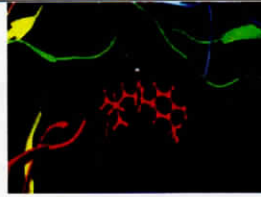
Nerol. Berat molekul nerol 154,25 g/mol, titik didih 225°C dan kelarutan dalam air sebesar sekitar 255,8 mg/L pada 25°C. Nerol ditemukan di beberapa tanaman obat, seperti *Lippia* spp dan *Melissa officinalis* L. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan keterkaitan nerol dengan sifat ansiolitik, antioksidan dan antivirus. Sementara itu, nerol memiliki aktivitas antijamur terhadap *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* dan dapat digunakan sebagai agen antijamur yang potensial untuk pengawetan makanan (Marques *et al.*, 2013; Mo *et al.*, 2021).

Interaksi antara komponen bioaktif ekstrak etanol daun *R.tomentosa* (dari GC-MS) melalui metode *moleculer docking*. Dasar utama yakni prediksi konformasi yang dibentuk ligan serta posisinya dan arah orientasi yang terbentuk di dalam sisi ikatan dan derajat afinitas ikatan tersebut terhadap protein NF- κ B sebagai ligan penghambat signaling pengatur ekspresi protein pro inflamasi.

Pola ikatan trans- β -ionon-5,6-epoxide-NF- κ B, Trans-caryophyllene-NF- κ B, dan nerol-NF- κ B diilustrasikan pada tabel 4.1.

Interaksi trans- β -ionon-5,6-epoxide-NF- κ B terutama pada 8 residu asam amino Arg23, Gly31, Met32, Phe34, Arg35, Gly44, Ser45, Pro47. Jenis ikatan adalah ikatan hidrofob. Perbedaan residu asam amino ditemukan pada interaksi trans (β)-caryophyllene-NF- κ B, ada 3 residu asam amino Met32, Arg33, Phe34, Arg35, Ala43, Gly44, Ser45, Pro47, Gly117. Ketiga residu tersebut adalah Arg33, Ala43, Gly117.

Tabel 4.1 Interaksi ligan dari komponen bioaktif ekstrak etanol daun *R.tomentosa*-protein

Ligan	Protein	Interaksi ligan-protein
 <p>trans-β-ionon-5,6-epoxide</p>	 <p>NF-κB</p>	
 <p>Trans (β)-caryophyllene</p>		
<p>Nerol</p> 		
<p>Salbutamol (sebagai standar)</p> 		

Begitu juga interaksi nerol-NF- κ B terdapat 9 ikatan hidrofob pada residu asam amino Tyr36, Val121, Lys122, Lys123, Leu154, Arg187, Ala188, Pro189 dan 1 ikatan hidrogen pada residu Asp185. Interaksi salbutamol-NF- κ B terjadi pada residu asam amino Lys28, Gln29, Glu193, Glu 279, Leu280, Ser281 dengan jenis ikatan hidrofob dan 2 ikatan hidrogen pada residu asam amino Arg30 yang berbeda dengan residu asam amino ketiga ligan dari ekstrak etanol daun *R.tomentosa*.

Tabel 4.2 Energi ikatan antara ligan dengan NF- κ B

Ligan TRANS-.BETA.-IONON-5,6-EPOXIDE			
Protein	Delta G (kcal/mol)	Ikatan H	Residu AA dengan Ikatan hidrofob
NF- κ B	-6,485	--	Arg23, Gly31, Met32, Phe34, Arg35, Gly44, Ser45, Pro47
Ligan Trans (β)-Caryophyllene			
NF- κ B	-6,089	--	Met32, Arg33, Phe34, Arg35, Ala43, Gly44, Ser45, Pro47, Gly117
Ligan Nerol			
NF- κ B	-6.440	Asp185	Tyr36, Val121, Lys122, Lys123, Leu154, Arg187, Ala 188, Pro189,
Ligan Salbutamol			
NF- κ B	7.529	Arg30 (2 ikatan)	Lys28, Gln29, Glu193, Glu 279, Leu280, Ser281

Energi ikatan trans- β -ionon-5,6-epoxide-NF- κ B (-6,485 kcal/mol) lebih tinggi dari nerol-NF- κ B (-6.440 kcal/mol) dan trans-(β)-caryophyllene-NF- κ B (-6,089 kcal/mol). Sedangkan energi ikatan salbutamol-NF- κ B (7,529 kcal/mol). Energi bebas ikatan/afinitas ikatan merupakan aspek penting dalam menilai interaksi ligan dan protein. Semakin kecil nilai energi bebas ikatan menunjukkan bahwa semakin sedikit energi yang dibutuhkan untuk melakukan pengikatan atau interaksi suatu ligan dengan protein. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi afinitas ikatan antara ligan dan protein. Interaksi elektrostatik, van der Waals, interaksi hidrofobik adalah faktor penting disamping faktor-faktor lainnya seperti entropi, desolvasi, fleksibilitas struktur protein, dan struktur molekul air pada situs ikatan (Suparman dkk., 2021).

Formasi docking dengan afinitas terbaik antara nerol-NF- κ B membentuk satu ikatan hidrogen dengan asam amino Asp185 dengan jarak maksimum 3Å. Meskipun berbeda dengan posisi ikatan hidrogen dengan obat standar salbutamol yang berada pada Arg30, keberadaan ikatan hidrogen ini memiliki peran penting terhadap afinitas antara ligan dan protein target karena membentuk interaksi elektrostatis (donor dan akseptor hidrogen).

Docking ligan trans-(β)-caryophyllene pada NF- κ B memperlihatkan afinitas yang lebih rendah dibandingkan interaksi nerol dan NF- κ B. Ikatan ligan ini diperkuat dengan ikatan hidrofobik. Ikatan hidrofobik yang dominan pada interaksi ligan dan protein ini melibatkan kontak antara bagian non polar molekul. Posisi ikatan hidrofobik pada sisi non polar ini menguntungkan karena menghasilkan entropi sehingga ikatan ini juga penting dalam interaksi ligan dan protein. Pengamatan secara umum dari interaksi 2 ligan (trans- β -ionon-5,6-epoxide dan trans-(β)-caryophyllene) dan protein NF- κ B memperlihatkan bahwa asam amino yang sering terlibat dalam interaksi adalah Met32, Phe34, Arg35, Gly44, Ser45, Pro47.

Docking ketiga ligan dari ekstrak etanol daun *R. tomentosa* pada protein NF- κ B diperkuat dari hasil penelitian lain. Gou *et al.* (2014) menunjukkan trans-caryophyllene (TC) menekan respon neuroinflamasi yang diinduksi hipoksia melalui penghambatan aktivasi NF- κ B di mikroglia. Senyawa tersebut menghambat (1) sitotoksitas yang diinduksi hipoksia serta pelepasan sitokin proinflamasi, termasuk IL-1 β , TNF- α , dan IL-6, melalui aktivasi mikroglia BV2 setelah paparan hipoksia (1% O₂, 24 jam), (2) produksi spesies oksigen reaktif (ROS) yang diinduksi hipoksia di mitokondria serta aktivasi faktor nuklir kappa B (NF- κ B) di mikroglia, dengan mematikan CB2R menggunakan interferensi RNA kecil (Guo *et al.*, 2014).

Selain itu BCP efektif dalam mengurangi oedema kaki tikus yang diinduksi faktor pengaktif trombosit, bradikinin dan ovalbumin, mengurangi pelepasan TNF α , mengurangi produksi prostaglandin E2 (PGE2), serta ekspresi nitric oxide synthase (iNOS) dan siklooksigenase (COX-2) yang diinduksi oleh injeksi karagenan intraplantar pada tikus (Fernandes *et al.*, 2007).

Trans (β)-caryophyllene secara aktif mempromosikan penghambatan akumulasi lipid, oksidasi asam lemak, penurunan indeks lemak visceral, pengurangan total kolesterol, trigliserida, dan kadar kolesterol lipoprotein densitas rendah (LDL), penurunan 3-hidroksi-3-metilglutayl koenzim A (HMG-CoA) aktivitas reduktase, pengurangan berat badan di model hewan dan sebagai agen insulinotropik (Kumawat *et al.*, 2020; Youssef *et al.*, 2019). Khususnya, efektivitas BCP sebagai anti-inflamasi setidaknya sebagian karena kemampuannya untuk menghambat mediator inflamasi utama, misalnya, *inducible nitric oxide synthase* (iNOS), IL-1 β , IL-6, TNF- α , NF- $\kappa\beta$, siklooksigenase 1 (COX-1) dan siklooksigenase 2 (COX-2) (Ames-Sibin *et al.*, 2018; Kumawat *et al.*, 2020; Youssef *et al.*, 2019).

Studi *in vitro* dan *in vivo* membuktikan efek potensial BCP pada metabolisme glukosa. Analisis *in vitro* dalam sel C2C12 menunjukkan konsentrasi BCP 1, 10 dan 100 nM efisiennya sama dengan insulin dalam merangsang pengambilan glukosa seluler (Geddo *et al.*, 2019). Selain itu, BCP menginduksi translokasi vesikel penyimpanan GLUT4 ke membran plasma sel C2C12, terutama di otot rangka dan jaringan adiposa, secara langsung berkorelasi dengan kemampuan untuk menurunkan peningkatan kadar glukosa darah. Studi lain menunjukkan bahwa BCP menginduksi sekresi insulin pada insulinoma tikus (sel RIN-5F) (Kumawat *et al.*, 2020) dan pada sel line (MIN) pankreas tikus, melalui aktivasi CB2 dan protein G kecil ADP *ribosylation factor* (Arf)6, Ras - terkait substrat toksin botulinum C3 (Rac)1 dan protein kontrol pembelahan sel (Cdc) 42 (Suijun *et al.*, 2014).

Senyawa nerol dapat melindungi hepar dari efek toksik parasetamol pada model hewan. Pemberian nerol 100mg/Kg secara signifikan membalikkan situasi perubahan yang diinduksi parasetamol, termasuk enzim hati, protein plasma, enzim antioksidan dan bilirubin serum, peroksidasi lipid (LPO) dan kolesterol [misalnya, kolesterol total (TC), trigliserida (TG), kolesterol lipoprotein densitas tinggi (HDL-c), kadar kolesterol lipoprotein densitas rendah (LDL-c)] pada hewan. Nerol bertindak sebagai agen hepatoprotektif yang penting karena sifat antioksidannya yang sangat baik yang ditunjukkan oleh aktivitas penangkal radikal bebas dan daya pereduksi (Islam *et al.*, 2021). Aktivitas penangkal radikal bebas DPPH (26,08mg/mL) dan daya pereduksi (79,15µg/mL) ditemukan bahkan lebih besar dibandingkan antioksidan penting lainnya seperti geraniol, linalool, dan myrcene (Wang *et al.*, 2019).

Nerol memiliki efek perlindungan terhadap toksisitas hati melalui modulasi enzim SOD, CAT, GSH, dan hal yang sama telah dibuktikan menggunakan parameter penanda kerusakan hati di serum. Jalur Nrf2/HO1, faktor inflamasi, interleukin (IL)-1 β , IL-6, faktor nekrosis tumor (TNF)- α , dan NF- κ B bersama dengan apoptosis (caspase-3,-9, Bcl2 dan Bax) dan faktor autophagi kemungkinan jalur yang mengatur untuk penghambatan toksisitas hepar setelah perlakuan dengan nerol (Islam, *et al.*, 2021)

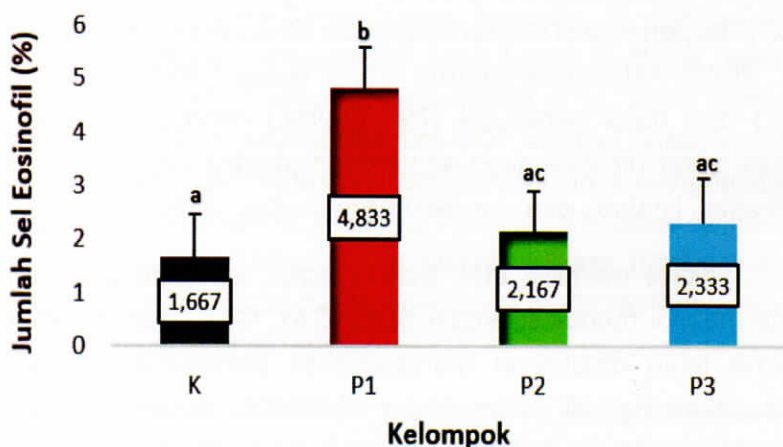
4.2 Pengaruh ekstrak etanol daun karamunting terhadap sel inflamasi pada kombinasi asma dan pajanan PM5 debu batubara

4.2.1 Ekstrak etanol daun karamunting dan eosinofil

Data jumlah sel eosinofil cairan BAL disajikan dalam gambar 1. Jumlah sel eosinofil pada kelompok yang

disensitisasi OVA dan dipajan debu batubara lebih banyak dibandingkan kelompok kontrol (K). Jumlah sel eosinofil kelompok yang diberi nebulizer salbutamol atau ekstrak etanol daun *R. Tomentosa* lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok yang disensitisasi OVA dan dipajan debu batubara.

Hasil uji LSD 5% menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol ($1,667 \pm 0,816$) dan kelompok P1 ($4,833 \pm 0,753$) ($p=0,000$), P1 dan P2 ($2,167 \pm 0,753$) ($p=0,000$), P1 dan P3 ($2,333 \pm 0,816$) ($p=0,000$).

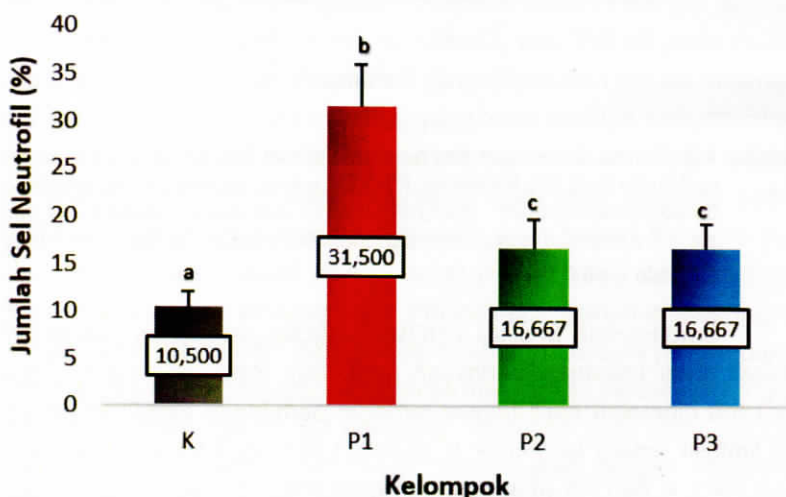


Gambar 4.1. Rerata dan simpangan baku jumlah sel eosinofil semua kelompok perlakuan. K=kontrol; P1=OVA+ debu batubara; P2=OVA+debu batubara+salbutamol; P3=OVA+ debu batubara+ ekstrak. Notasi a,b,c,d menunjukkan perbedaan signifikan secara statistik jika hurup berbeda ($p<0,05$)

4.2.2 Ekstrak etanol daun karamunting dan neutrofil

Jumlah sel neutrofil kelompok P2 dan P3 dan kelompok lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok P1. Jumlah sel neutrofil kelompok kontrol tidak berbeda dengan kelompok P2 dan P3.

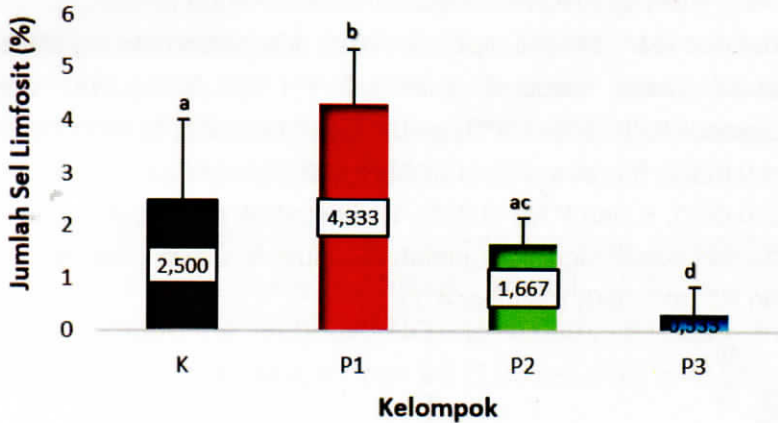
Hasil uji ANOVA didapatkan nilai $p=0,000$ ($\alpha<0,005$), dan *post hoc test* LSD 5% diperoleh hasil ada perbedaan signifikan antara jumlah neutrofil kelompok P1 ($31,500\pm4,416$) dan kelompok K ($10,500\pm1,472$) ($p=0,000$), P1 dan P2 ($16,667\pm3,011$) ($p=0,000$), P1 dan P3 ($16,667\pm2,503$) ($p=0,000$), K dan P2 ($p=0,002$), K dan P3 ($p=0,002$). Hasil statistik menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan jumlah sel neutrofil antara kelompok P2 dan P3 ($p=1,000$) (Gambar 4.2).



Gambar 4.2. Rerata dan simpangan baku jumlah sel neutrofil semua kelompok perlakuan ($p<0,05$). K=kontrol; P1= OVA+ debu batubara; P2=OVA+debu batubara+salbutamol; P3=OVA+debu batubara+ekstrak. Huruf a,b,c,d menunjuk kan perbedaan signifikan secara statistik jika huruf berbeda ($p<0,05$)

4.2.3 Ekstrak etanol daun karamunting dan limfosit

Jumlah sel limfosit kelompok yang diberi nebulizer ekstrak etanol daun *R. Tomentosa* lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol atau kelompok yang diberi nebulizer salbutamol. Jumlah sel limfosit kelompok perlakuan tanpa diberi nebulizer salbutamol atau ekstrak lebih banyak dibandingkan kelompok kontrol atau yang diberi salbutamol atau diberi ekstrak.



Gambar 4.3. Rerata dan simpangan baku jumlah sel limfosit semua kelompok perlakuan ($p < 0,05$). K=kontrol; P1=OVA+debu batubara; P2=OVA+debu batubara+salbutamol; P3=OVA+ debu batubara+ ekstrak. Huruf a,b,c,d menunjuk kan perbedaan signifikan secara statistik jika huruf berbeda ($p < 0,05$)

Berdasarkan analisis ANOVA terdapat perbedaan jumlah sel limfosit antar kelompok perlakuan ($p = 0,000$). Hasil uji *post hoc test* LSD 5% diperoleh hasil bahwa terdapat perbedaan signifikan jumlah sel limfosit antara kelompok K ($2,500 \pm 1,517$) dan P1 ($4,333 \pm 1,033$) ($p = 0,004$), K dan P3 ($0,333 \pm 0,516$) ($p = 0,001$), P1 dan P3 ($p = 0,000$), P1 dan P2 ($p = 0,000$), P2 dan P3 ($p = 0,03$). Tidak terdapat perbedaan signifikan jumlah sel limfosit antara kelompok K dan P2 ($p = 0,159$).

Jumlah sel eosinofil, neutrofil dan limfosit pada kelompok mencit yang disensitisasi OVA dan pajanan debu batubara dan tidak diberi nebulizer ekstrak etanol daun *R. Tomentosa* lebih banyak jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada model mencit yang disensitisasi OVA akan terjadi peningkatan sel eosinofil dan limfosit. Kedua sel ini sebagai pertahanan host terhadap alergen yang masuk dan akan mengaktifasi sel Th2 untuk memproduksi sitokin proinflamasi IL-5, IL-9, IL-10 dan IL-13 yang dapat memperkuat inflamasi (Peebles & Aronica, 2019). Sitokin yang dilepaskan berbagai sel tersebut mengarahkan masuknya sel eosinofil, basofil, limfosit dan lain-lain dari sirkulasi ke jaringan paru (Bezerre-diaz *et al.*, 2017). Fenotipe sel Th2

yang dominan inflamasi eosinofil dapat bergeser ke sel Th1 dengan keterlibatan sel neutrofil terutama menggambarkan keparahan asma. Keparahan asma ditandai dengan tingginya jumlah sel eosinofil dan neutrofil pada darah maupun cairan BAL (Esmaeilzadeh *et al.*, 2021). Hal ini terjadi karena inflamasi yang diinduksi debu batubara.

Debu batubara dapat menstimulasi suatu respons sistem imun host yang kemudian dapat menginduksi pelepasan mediator proinflamasi dan sitokin seperti TNF- α , IL-1 β (Gasparotto *et al.*, 2018). Debu batubara juga meningkatkan ekspresi sitokin inflamasi saluran nafas dalam cairan BAL (IL-1 β , IL-6, IL-17, dan TNF- α) pada model asma yang diinduksi debu batubara yang dilepaskan sel-sel inflamasi (Saba *et al.*, 2020). Proses inflamasi yang terus berjalan menyebabkan terjadinya infiltrasi sel eosinofil, neutrofil dan limfosit sebagai sistem pertahanan dari tubuh dalam melawan agen-agen perusak. León-Mejía *et al.* (2018), menjelaskan bahwa pajanan partikel batubara dan abu debu batubara pada hewan dapat menstimulasi rekrutmen sel polimorfonuklear ke jaringan paru. Peningkatan frekuensi atas gejala alergi saluran pernafasan. Para pekerja tambang batu bara yang terpajan untuk jangka waktu yang lebih lama tanpa masker dan pakaian pelindung memiliki frekuensi gejala dan gangguan tes fungsi paru alergi saluran pernapasan atas yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol (Khan *et al.*, 2021). Protein yang terikat PM dan logam transisi yang larut asam dalam PM kemungkinan menyebabkan patogenesis inflamasi saluran nafas alergi (Ogino *et al.*, 2019). Penelitian Huang, *et al.* (2002) menjelaskan bahwa debu batubara mengaktifasi faktor transkripsi NF- κ B dan AP-1 secara *in vitro*. Aktivasi faktor transkripsi NF- κ B dan AP-1 memicu respon inflamasi dengan merangsang ekspresi gen proinflamasi. Makrofag teraktifasi menghasilkan produk berupa faktor-faktor proinflamasi (LTB4, IL-8, IL-6, TNF- α) yang ditemukan meningkat dalam serum pekerja tambang batu bara.

Jumlah sel eosinofil dan neutrofil kelompok mencit yang diberi nebulizer ekstrak etanol daun *R. Tomentosa* sama dengan kelompok kontrol. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa *R. Tomentosa* mampu menurunkan infiltrasi neutrofil dengan penghambatan sintesis sitokin proinflamasi. Senyawa aktif dalam daun

R. Tomentosa acylphloroglucinol rhodomyrtonone mempunyai kemampuan untuk menurunkan ekspresi gen terkait proses inflamasi seperti IL-1 β , IL-8, TNF- α , iNOS, SAA, dan Hcpicidin dan pengurangan kadar spesies oksigen reaktif (ROS) dalam makrofag ginjal (Na-Phatthalung *et al.*, 2018). Inhibitor IL-8 seperti polifenol dapat menurunkan inflamasi neutrofil saluran nafas (Herath *et al.*, 2020)

Sitokin proinflamasi tersebut dapat meningkatkan aktivasi dari sel-sel inflamasi sehingga apabila terjadi penghambatan dari sekresi mediator-mediator proinflamasi tersebut dapat menyebabkan penurunan aktivasi sel-sel inflamasi seperti sel eosinofil, neutrofil, dan limfosit. Sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya menunjukkan IL-1 β dan TNF- α dapat dihambat oleh *R. Tomentosa* sehingga menurunkan rekrutmen eosinofil dan neutrofil (Vo *et al.*, 2019). Senyawa aktif utama yang terdapat dalam *R. Tomentosa* antara lain flavonoid, saponin, terpenoid (Zhao *et al.*, 2020). Senyawa flavonoid terbukti mampu menghambat eosinofil, dengan menurunkan produksi IL-4 dan IL-5 melalui jalur NF- κ B (Balkrishnaa *et al.*, 2020).

Jumlah sel limfosit pada mencit yang diberi nebulizer ekstrak etanol daun *R. Tomentosa* lebih sedikit dibandingkan mencit yang tidak diberi ekstrak. Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat pengaruh dari senyawa aktif yang ada pada daun *R. Tomentosa* dalam mengurangi jumlah sel limfosit pada saat terjadi inflamasi. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian lain yang menunjukkan bahwa kandungan senyawa flavonoid dari tanaman dapat menekan proses inflamasi yang ditandai adanya penurunan dari jumlah limfosit (Hwang, *et al.*, 2016). Senyawa aktif seperti saponin dapat menurunkan inflamasi saluran nafas, dan juga menurunkan kadar IL-13, IL-4, IL-5 dan IL-8 dalam cairan BAL model hewan asma. Senyawa tersebut menghambat jalur TNF- α /NF- κ B pada tikus asma dan sel epitel bronkus manusia (Xue *et al.*, 2020). Sehingga nebulizer ekstrak etanol daun karamunting (*R. Tomentosa*) dapat menurunkan jumlah sel eosinofil, neutrofil dan limfosit cairan BAL pada model mencit kombinasi asma dan pajanan debu batubara.

BAB 5 PENUTUP

Secara biokimia asma alergi diperantarai oleh sel mast, sel CD4+Th2 dan sekresi IL-4, IL-5, dan IL-13. Pertama pajanan alergen yang ditangkap oleh Antigen Presenting Cell (APC) pada mukosa bronkial. Sel dendritik di saluran nafas berperan sebagai APC pada asma. Hasil olahan alergen oleh APC selanjutnya akan dipresentasikan ke sel Cluster of Differentiation (CD)4+ T-Helper (Th)2 melalui ekspresi Major Histocompatibility Complex (MHC) II. Sel CD4+ Th2 akan menghasilkan interleukin (IL) 4 dan IL-13 yang memacu sel B (sel-sel plasma) untuk menghasilkan imunoglobulin (Ig)E. Interleukin 5 juga dihasilkan oleh sel CD4+ Th2 yang akan menarik eosinofil ke tempat inflamasi. Imunoglobulin E yang terbentuk akan berikatan dengan sel mast dan menyebabkan granulasi sel mast. Mediator seperti histamin, leukotrien, prostaglandin, dan sitokin dapat menyebabkan spasme bronkus, edema, peningkatan sekresi mukus, dan kontriksi otot polos bronkus. Faktor kemotaksis juga dilepaskan sel mast. Faktor-faktor kemotaksis ini akan mendorong masuknya sel-sel radang seperti eosinofil, limfosit, makrofag, neutrofil, dan basofil ke dalam jaringan bronkus hingga bronkiolus. Sel-sel radang menunjukkan terjadinya inflamasi pada bronkus dan bronkiolus. Eosinofil yang teraktifasi mengalami proses granulasi dan pelepasan protein, enzim proteolitik, faktor pertumbuhan (Transforming growth factor/TGF- β , Platelet-derived growth factor/ PDGF, Fibroblast growth factor/FGF), dan produk oksidatif. Sitotoksin tersebut akan mempercepat kerusakan sel epitel pada saluran nafas. Sel epitel akan melepaskan kemoatraktan yang berperan untuk rekrutmen sel-sel radang ke bagian cedera. Makrofag juga melepaskan faktor pertumbuhan seperti TGF- β , FGF, dan PDGF (Albrecht & Dittrich, 2018; Kusumoto & Mathis, 2021).

Inflamasi pada asma alergi yang didominasi sel eosinofil dapat berubah ke arah neutrofil dengan stimulasi tambahan dari polutan udara selain alergen itu sendiri. Fenotipe sel Th2 yang dominan inflamasi eosinofil dapat bergeser ke sel Th1 dengan keterlibatan sel neutrofil terutama menggambarkan keparahan asma. Keparahannya ditandai dengan tingginya jumlah sel eosinofil dan neutrofil pada

darah maupun cairan BAL (Esmaeilzadeh et al., 2021). Hal ini dapat terjadi karena diinduksi PM polutan udara.

Derajat inflamasi dalam paru yang diinduksi PM telah dikaitkan dengan reaktivitas kimia dari konstituen tertentu seperti logam transisi (Fe, Cu, Zn, Ni, dan V) dan senyawa organik, terutama senyawa aromatik polisiklik. IL-6, IL-8 dan GM-SCF merupakan sitokin inflamasi bawaan dan kemoatraktan yang berperan penting dalam persistensi inflamasi melalui perekrutan neutrofil, eosinofil, basofil dan monosit. Senyawa PM menginduksi transkripsi gen IL-6 dan IL-8 melalui aktivasi p38 dalam sel epitel bronkial (Hackett, et al., 2011). Hal yang sama dengan pajanan PM debu batubara. Penduduk yang tinggal di daerah tambang batubara memiliki resiko lebih tinggi terpajan komponen (Pb, Cr, Cd, Ni, Cu, Co, dan Zn) berbahaya debu batubara. (Ishtiaq et al. 2018).

Debu batubara dapat menstimulasi suatu respons sistem imun host yang kemudian dapat menginduksi pelepasan mediator proinflamasi dan sitokin seperti TNF- α , IL-1 β (Gasparotto et al., 2018). Debu batubara juga meningkatkan ekspresi sitokin inflamasi saluran nafas dalam cairan BAL (IL-1 β , IL-6, IL-17, dan TNF- α) pada model asma yang diinduksi debu batubara yang dilepaskan sel-sel inflamasi (Saba et al., 2020). Proses inflamasi yang terus berjalan menyebabkan terjadinya infiltrasi sel eosinofil, neutrofil dan limfosit sebagai sistem pertahanan dari tubuh dalam melawan agen-agen perusak. León-Mejía et al (2018), menjelaskan bahwa pajanan partikel batubara dan abu debu batubara pada hewan dapat menstimulasi rekrutmen sel polimorfonuklear ke jaringan paru. Peningkatan frekuensi atas gejala alergi saluran pernafasan. Para pekerja tambang batu bara yang terpajan untuk jangka waktu yang lebih lama tanpa masker dan pakaian pelindung memiliki frekuensi gejala dan gangguan tes fungsi paru alergi saluran pernafasan atas yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol (Khan et al., 2021).

Secara umum partikel debu difagosit oleh AM dengan berbagai reseptor, mengaktifkan sinyal intraseluler serta endositosis partikel melalui SR atau opsonin tergantung jalur fagosit (fagositosis diperantarai Fc atau CR3). Jalur TLR4-MyD88-IRAK4 dirangsang oleh PAMP/DAMP berasal dari materi partikel mengakibatkan aktivasi NF- κ B/AP-1 dan lebih diaktifkan oleh kalsium intraseluler diinduksi ROS. Senyawa oksigen reaktif akibat pajanan materi partikulat merupakan molekul signaling yang mengaktifkan faktor transkripsi yakni NF- κ B dan AP-1 serta

mengubah signal mitogenik dan fibrogenik yang melibatkan IL-6. Activator protein-1 dan NFAT adalah faktor transkripsi penting yang mengendalikan upregulasi sitokin proinflamasi (Huang et al., 2002). Aktivasi jalur MyD88 mempromosikan pematangan APC termasuk produksi IL-12 (faktor polarisasi Th1). Sementara stres oksidatif yang berlebihan menyebabkan peningkatan sitokin seperti IL-4 dan IL-10 yang mengatur polarisasi ke arah Th2. Aktivasi jalur MyD88 juga dihubungkan dengan produksi monosit dan pelepasan monosit dari sumsum tulang. Monosit yang dilepaskan akan direkrut ke paru untuk berdiferensiasi menjadi monosit jaringan dan makrofag alveoler (Myata & van Eeden, 2011).

Sitokin proinflamasi tersebut dapat meningkatkan aktivasi dari sel-sel inflamasi sehingga apabila terjadi penghambatan dari sekresi mediator-mediator proinflamasi tersebut dapat menyebabkan penurunan aktivasi sel-sel inflamasi seperti sel eosinofil, neutrofil, makrofag dan limfosit. Studi sebelumnya menunjukkan IL-1 β dan TNF- α dapat dihambat oleh *R.Tomentosa* sehingga menurunkan rekrutmen eosinofil dan neutrofil (Vo et al., 2019). Senyawa aktif utama yang terdapat dalam *R.Tomentosa* antara lain flavonoid, saponin, terpenoid (Zhao et al., 2020). Senyawa flavonoid terbukti mampu menghambat eosinofil, dengan menurunkan produksi IL-4 dan IL-5 melalui jalur NF- κ B (Balkrishnaa et al., 2020). Pemberian nebulizer ekstrak etanol daun *R.Tomentosa* pada model kombinasi asma dan pajanan debu batubara menurunkan infiltrasi eosinofil, neutrofil dan limfosit ke paru (Fujiati & Haryati, 2022).

Senyawa dalam daun *R.tomentosa* dapat bersifat anti-inflamasi seperti flavonoid, fenolik, saponin, dan terpenoid. Senyawa flavonoid dari tanaman dapat menekan proses inflamasi yang ditandai adanya penurunan dari jumlah limfosit (Hwang, et al., 2016). Senyawa aktif seperti saponin dapat menurunkan inflamasi saluran nafas, dan juga menurunkan kadar IL-13, IL-4, IL-5 dan IL-8 dalam cairan BAL model hewan asma. Senyawa tersebut menghambat jalur TNF- α /NF- κ B pada tikus asma dan sel epitel bronkus manusia (Xue et al., 2020). Acylphloroglucinol rhodomyrtone mempunyai kemampuan untuk menurunkan ekspresi gen terkait proses inflamasi seperti IL-1 β , IL-8, TNF- α , iNOS, SAA, dan Hcpidin dan pengurangan kadar spesies oksigen reaktif (ROS) dalam makrofag ginjal (Naphthalung et al., 2018). Inhibitor IL-8 seperti polifenol dapat menurunkan inflamasi neutrofil saluran nafas (Herath et al., 2020). Hasil GC-MS ekstrak etanol daun

R.tomentosa mengandung senyawa terpenoid yaitu trans- β -ionon-5,6-epoxide, trans-caryophyllene, dan nerol. Senyawa tersebut dapat berikatan ke beberapa asam amino pada protein NF- κ B melalui molekuler docking. Hasil ini sebagai peridiksi awal jenis senyawa yang terdapat dalam tanaman mempunyai aktivitas anti-inflamasi. Residu asam amino, jenis ikatan dan besarnya energi ikatan antara ligan dan protein target kemudian dibandingkan dengan obat standar sebagai dasar untuk dilakukan penelitian lebih lanjut. Semakin mirip dengan obat standar semakin besar kemungkinan senyawa terpenoid dari daun R.tomentosa berpotensi untuk dijadikan sebagai kandidat anti-inflamasi dalam menggantikan obat standar anti-inflamasi melalui mekanisme penghambatan NF- κ B.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd Hamid, H., Mutazah, R., Yusoff, M. M., Abd Karim, N. A., & Abdull Razis, A.F. (2017). Comparative analysis of anti-oxidant and antiproliferative activities of *Rhodomyrtus tomentosa* extracts prepared with various solvents. *Food and Chemical Toxicology*, 108(Pt B), 451-457.
- Akar-Ghibril, N., Casale, T., Custovic, A., & Phipatanakul, W. (2020). Allergic endotypes and phenotypes of asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*, 8(2), 429-440.
- Al-Muhsen, S., Johnson, J. R., and Hamid, Q. 2011. Remodeling in asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 128(3): 451-462.
- Albrecht, M., & Dittrich, A. M. (2018). Cytokines in sensitization to aeroallergens. *Allergologie select*, 2(1), 94.
- Ames-Sibin, A.P., Barizão, C.L., Castro-Ghizoni, C.V., Silva, F.M.S., Sá-Nakanishi, A.B., Bracht, L.,... & Comar, J.F. (2018). β -Caryophyllene, the major constituent of copaiba oil, reduces systemic inflammation and oxidative stress in arthritic rats. *J. Cell. Biochem.* 119, 10262-10277
- Bach, Q. N., Hongthong, S., Quach, L. T., Pham, L. V., Pham, T. V., Kuhakarn, C., ... & Nguyen, P. T. (2020). Antimicrobial activity of rhodomyltone isolated from *R. tomentosa*(Aiton) Hassk. *Natural product research*, 34(17), 2518-2523.
- Badan Geologi Indonesia. (2015). Sumberdaya batubara Indonesia sampai dengan tahun 2012.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. (2018). Riset kesehatan dasar. www.litbang.depkes.co.id
- Balkrishna, A., Solleti, S. K., Singh, H., Tomer, M., Sharma, N., & Varshney, A. (2020). Calcio-herbal formulation, Divya-Swasari-Ras, alleviates chronic inflammation and suppresses airway remodelling in mouse model of allergic asthma by modulating pro-inflammatory cytokine response. *Biomedicine & pharmacotherapy* = *Biomedecine & pharmacotherapie*, 126, 110063. <https://doi.org/>

- Beamer, C.A., Migliaccio, C.T., Jessop, F., Trapkus, M., Yuan, D., and Holian, A. (2010). Innate immune processes are sufficient for driving silicosis in mice. *J Leukoc Biol.* 88(3),547-557.
- Brandt, E. B., Bolcas, P. E., Ruff, B. P., & Khurana Hershey, G. K. (2020). IL33 contributes to diesel pollution-mediated increase in experimental asthma severity. *Allergy*, 75(9), 2254–2266. <https://doi.org/10.1111/all.14181>
- Brian,P.S., Abrari, F., William,L., Marcellino, F., Haryati & Fujiati. (2021). Potency of nerol, trans-caryophyllena and propionic acid from ethanolic extract of *Rhodomyrtus tomentosa* leaves as inhibitor of IL-13 insilico. Disampaikan pada Seminar Internasional 2nd Lummens, 23-24 Nopember 2021. Dep. Biochemistry & Biomolecular FK ULM. Banjarbaru.
- Cao, J. Q., Wu, Y., Zhong, Y. L., Li, N. P., Chen, M., Li, M. M., Ye, W. C., & Wang, L. (2018). Antiviral triketone-phloroglucinol-monoterpene adducts from *Callistemon rigidus*. *Chemistry & Biodiversity*, 15(7), e1800172-e1800192.
- Caramori, G., Nucera, F., Mumby, S., Bello, F. L., & Adcock, I. M. (2021). Corticosteroid resistance in asthma: Cellular and molecular mechanisms. *Molecular aspects of medicine*, 100969.
- Chai, H., Liu, B., Zhan, H., Li, X., He, Z., Ye, J., Guo, Q., Chen, J., Zhang, J., & Li, S. (2019). Antidepressant effects of rhodomyrtone in mice with chronic unpredictable mild stress-induced depression. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 22(2), 157-164.
- Chang, H. J., Kim, H. J., & Chun, H. S. (2007). Quantitative structure–activity relationship (QSAR) for neuro protective activity of terpenoids. *Life sciences*, 80(9), 835-841
- Chen, T., Yu, C. G., & Yang, B. L. (2011). Structure elucidation and NMR assignments for two new quinones from fructus *rhodomyrti* of *Rhodomyrtus tomentosa*. *Chemistry of Natural Compounds*, 47(4), 524-526.
- Chorachoo, J., Saeloh, D., Srichana, T., Amnuakit, T., Musthafa, K. S.,

- Sretrirutchai, S., & Voravuthikunchai, S. P. (2016). Rhodomyltone as a potential anti-proliferative and apoptosis inducing agent in HaCaT keratinocyte cells. *European Journal of Pharmacology*, 772, 144-151.
- Chuakul, W. (2005). Medicinal plants in the Khok Pho District, Pattani Province (Thailand) (Vol. 12).
- Cooper, R., Portelli, M. A., Londei, M., Brightling, C. E., Shaw, D., Johnson, S. R., ... & Sayers, I. (2020). Investigating the effects of interleukin-33 on rhinovirus A induced changes in asthmatic bronchial epithelial cells.
- Cui, C., Zhang, S. M., You, L. J., Ren, J. Y., Luo, W., Chen, W. F., & Zhao, M. M. (2013). Antioxidant capacity of anthocyanins from *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) and identification of the major anthocyanins. *Food Chemistry*, 139(1-4), 1-8.
- Das, B., De, B., Chetree, R., & Mandal, S. C. (2020). Medicinal aspect of mushrooms: A view point. In *Herbal Medicine in India* (pp. 509-532). Springer, Singapore.
- Esmaeilzadeh, A., & Elahi, R., (2021) Immunobiology and immunotherapy of COVID-19: A clinically updated overview. *J Cell Physiol.*, 236(4), 2519-2543
- Faturrachman, D., Barlianto, W., and Mintaroem, K. (2012). Pengaruh sel limfosit T Regulator CD4+CD25+ Foxp3+ dan Transforming Growth Factor (TGF) β terhadap airway remodelling bronkiolus paru pada model mencit asma. *Jurnal Kedokteran Brawijaya* 27(2), 71-76.
- Fernandes, E. S., Passos, G. F., Medeiros, R., da Cunha, F. M., Ferreira, J., Campos, M. M., ... & Calixto, J. B. (2007). Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. *European journal of pharmacology*, 569(3), 228-236.
- Fujiati., K, Mintaroem., W, Barlianto., M.A .Widodo. (2019) Effects of coal dust particulate matter exposure on H₂O₂, MDA, IL-13, TGF- β 3 level and bronchioles sub-epithelial fibrosis in allergic asthma mice model. *JGPT*, 11 (04), 130-139.

- Fujiati & Haryati. (2021). Interaksi molekuler trans- β -ionon-5,6-epoxide dari ekstrak etanol daun karamunting (*R.Tomentosa*)/EELRT dengan faktor transkripsi inflamasi NF- κ β . Banjarbaru. Disampaikan pada lokakarya "Health and Medical Science Conference", 02 Nopember 2021. UP.P2M FK ULM. Banjarbaru.
- Fujiati & Haryati.(2021). The anti-inflammatory potential of nebulizer ethanol extract of *R.tomentosa* leaves on the number of leukocyte types in mice combination asthma and coal dust. Disampaikan pada Seminar Internasional 2nd Hesicon 09-10 Nopember 2021. Riset Center FK ULM. Banjarmasin.
- Fujiati & Haryati, (2022). Anti-Inflammatory and Anti-Remodelling Potential of Ethanol Extract *Rhodomyrtus Tomentosa* in Combination of Asthma and Coal Dust Models. *RBMB-net*, 10 (4), 686-696. <http://rbmb.net/article-1-824-en.html>
- Gasparotto, J., Chaves, P. R., da Boit Martinello, K., da Rosa-Siva, H. T., Bortolin, R. C., Silva, L.,... & Moreira, J. (2018). Obese rats are more vulnerable to inflammation, genotoxicity and oxidative stress induced by coal dust inhalation than non-obese rats. *Ecotoxicology and environmental safety*, 165, 44-51. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.097>
- Geddo, F., Scandiffio, R., Antoniotti, S., Cottone, E., Querio, G., Maffei, M. E., ... & Gallo, M. P. (2019). PipeNig®-FL, a fluid extract of black pepper (*Piper Nigrum* L.) with a high standardized content of Trans- β -Caryophyllene, reduces lipid accumulation in 3T3-L1 preadipocytes and improves glucose uptake in C2C12 myotubes. *Nutrients*, 11(11), 2788. <https://doi.org/10.3390/nu11112788>
- Geetha, K. M., Sridhar, C., & Murugan, V. (2015). Antioxidant and healing effect of aqueous alcoholic extract of *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk on chronic gastric ulcers in rats. *Journal of Pharmacy Research*.
- Geris, R., & Simpson, T. J. (2009). Meroterpenoids produced by fungi. *Natural Product Reports*, 26(8), 1063-1094.
- GINA (2011) Global Strategy for Asthma Management and Prevention, Global Initiative for Asthma. Pp. 3

- Guo, K., Mou, X., Huang, J., Xiong, N., & Li, H. (2014). Trans-caryophyllene suppresses hypoxia-induced neuro inflammatory responses by inhibiting NF- κ B activation in microglia. *Journal of molecular neuroscience*, 54(1), 41-48
- Henderson, I., Caiazza, E., McSharry, C., Guzik, T. J., & Maffia, P. (2020). Why do some asthma patients respond poorly to glucocorticoid therapy?. *Pharmacological Research*, 160, 105189.
- Herath, K., Kim, H. J., Mihindukulasooriya, S. P., Kim, A., Kim, H. J., Jeon, Y. J., & Jee, Y. (2020). Sargassum horneri extract containing mojabanchromanol attenuates the particulate matter exacerbated allergic asthma through reduction of Th2 and Th17 response in mice. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 265(Pt B), 114094. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114094>
- Hiranrat, A., & Mahabusarakam, W. (2008). New acylphloroglucinols from the leaves of *Rhodomyrtus tomentosa*. *Tetrahedron*, 64(49), 11193-11197
- Hiranrat, A., Chitbankluoi, W., Mahabusarakam, W., Limsuwan, S., & Voravuthikunchai, S. P. (2012). A new flavellagic acid derivative and phloroglucinol from *Rhodomyrtus tomentosa*. *Natural Product Research*, 26(20), 1904-1909.
- Hiranrat, A., Mahabusarakam, W., Carroll, A. R., Duffy, S., & Avery, V. M. (2012). Tomentosones A and B, Hexacyclic Phloroglucinol derivatives from the Thai shrub *Rhodomyrtus tomentosa*. *Journal of Organic Chemistry*, 77(1), 680-683.
- Hiranrat, W., Hiranrat, A., & Mahabusarakam, W. (2017). Rhodomyrtosones G and H, minor phloroglucinols from the leaves of *Rhodomyrtus tomentosa*. *Phytochemistry Letters*, 21, 25-28.
- Hmoteh, J., Musthafa, K. S., & Voravuthikunchai, S. P. (2018). Effects of *Rhodomyrtus tomentosa* extract on virulence factors of *Candida albicans* and human neutrophil function. *Archives of Oral Biology*, 87, 35-42.
- Holgate, S.T. 2012. Innate and adaptive immune responses in asthma. *Nature Medicine* 18(5):673-683.
- Hou, A., Wu, Y., & Liu, Y. (1999). Flavone glycosides and an

- ellagitannin from Downy Rose myrtle (*Rhodomyrtus tomentosa*). *Zhongcaoyao*, 30(9), 645-648.
- Hough, K. P., Curtiss, M. L., Blain, T. J., Liu, R. M., Trevor, J., Deshane, J. S., & Thannickal, V. J. (2020). Airway remodeling in asthma. *Frontiers in Medicine*, 7, 191.
- Hwang, J. H., Kim, K. J., Ryu, S. J., & Lee, B. Y. (2016). Caffeine prevents LPS-induced inflammatory responses in RAW264.7 cells and zebrafish. *Chemico-biological interactions*, 248, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.01.020>
- Huang, X., Gordon, T., Rom, W.M., and Finkelman, R.B. 2002. Role of bioavailable iron in coal dust-induced activation of Activator Protein-1 and Nuclear Factor of Activated T Cells. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 27(5), 568-574.
- Huang, W. Y., Cai, Y. Z., Corke, H., & Sun, M. (2010). Survey of antioxidant capacity and nutritional quality of selected edible and medicinal fruit plants in Hong Kong. *Journal of Food Composition & Analysis*, 23(6), 510-517.
- Huang, M., Ya, Q., Chen, H., Tan, X., Liu, H., & Dang, M. (2010). Chemical compositions of *Rhodomyrtus tomentosa*. *Zhongcaoyao*, 41(7), 1079-1080.
- Hui, W. H., & Li, M. M. (1976). Two new triterpenoids from *Rhodomyrtus tomentosa*. *Phytochemistry*, 15(11), 1741-1743.
- Hui, W.H., Li,M.M., & Luk,K. (1975). Triterpenoids and steroids from *Rhodomyrtus tomentosa*. *Phyto chemistry*, 14(3), 833-834.
- Ishtiaq, M., Jehan, N., Khan, S. A., Muhammad, S., Saddique, U., Iftikhar, B., & Zahidullah (2018). Potential harmful elements in coal dust and human health risk assessment near the mining areas in Cherat, Pakistan. *Environmental science and pollution research international*, 25(15), 14666-14673. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1655-5>
- Islam, M. T., Quispe, C., Islam, M. A., Ali, E. S., Saha, S., Asha, U. H., ... & Sharifi-Rad, J. (2021). Effects of nerol on paracetamol-induced liver damage in Wistar albino rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 140, 111732.

- Jeong,D., Yang,W.S., Yang,Y., Nam,G., Kim,J.H., Yoon, D.H.,... & Cho,J.Y. (2013). In vitro and in vivo anti-inflammatory effect of *Rhodomyrtus tomentosa* methanol extract. *Journal of ethnopharmacology*, 46(1), 205–213. [https://doi.org/ 10.1016](https://doi.org/10.1016).
- Kandikattu, H. K., Venkateshaiah, S. U., Verma, A. K., & Mishra, A. (2021). Tacrolimus (FK506) treatment protects allergen-, IL-5- and IL-13-induced mucosal eosinophilia. *Immunology*, 163(2), 220-235.
- Kania,N., Setiawan,B., Nurdiana, Widodo,M.A., & Kusuma, H.M.S.C. (2011). Lung histopathology changed in coal dust exposure with model 2010 equipment. *MKB*. 43,127-133.
- Kania, N., Setiawan, B., Nurdiana, Widodo, M.A., Widjayanto, E., & Kusuma, H.M.S.C. (2012). Peroxidative index as novel marker of hydrogen peroxide involvement in lipid peroxidation from coal dust exposure. *Oxid Antioxid Med Sci*. 1(3), 209-215.
- Kasaian, M.T., Marquette, K., Fish, S., DeClercq, C., Agostinelli, R., Brennan, A., Lee, J., Fitz, L., Brooks, J., Vugmeyster, Y., Cook, T.A., Williams,C.M.M., Lofquist, A., and Tchistiakova, L. 2013. An IL-4/IL-13 dual antagonist reduces lung inflammation, airway hyperresponsiveness, and IgE production in mice. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 49: 37-46.
- Kaur, R., & Chupp, G. (2019). Phenotypes and endotypes of adult asthma: moving toward precision medicine. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 144(1), 1-12.
- Kay, A. B., Phipps, S., and Robinson, D. S. 2004. A role for eosinophils in airway remodelling in asthma. *Trends in immunology*. 25(9): 477-482.
- Khan, Z. A., Aslam, M. I., Ahmad, M. H., Ahmad, M. T., Ishaq, H., & Ahmed, Z. (2021). Upper Respiratory Allergic Symptoms And Effects Of Coal Dust On Pulmonary Function Tests Of Individuals Working In Coal Mines, Near Quetta, Baluchistan, Pakistan. *Advances in Basic Medical Sciences*, 5(1), 7-10.
- Kozlik, P., Buregwa-Czuma, S., Zawlik, I., Myszka, A., Zuk, J., Siwiec, A., ... & Bazan-Socha, S. (2021). Integration of Airway Inflammation

and Remodeling Mechanisms Specific to Eosinophilic Asthma Through Differential Co-Expression of Genes in Bronchial Brush Biopsy Samples.

- Kumawat, V.S., Kaur, G. (2020). Insulintropic and antidiabetic effects of β -caryophyllene with L-arginine in type 2 diabetic rats. *J. Food Biochem*, 44, e13156
- Kusuma, I.W., Ainiyati, N., & Suwinarti, W. (2016). Search for biological activities from an invasive shrub species rose myrtle (*Rhodomyrtus tomentosa*). *Nusantara Biosci*, 8, 55-59. <https://smujo.id/nb/article/view/821>
- Kusumoto, M., & Mathis, B. J. (2021). Biologic Treatments for Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disorder. *Allergies*, 1(2), 92-107.
- Lai, T. N. H., Andre, C., Rogez, H., Mignolet, E., Nguyen, T. B. T., & Larondelle, Y. (2015). Nutritional composition and antioxidant properties of the sim fruit (*Rhodomyrtus tomentosa*). *Food Chemistry*, 168, 410-416.
- Lai, T. N. H., Herent, M. F., Quetin-Leclercq, J., Nguyen, T. B. T., Rogez, H., Larondelle, Y., & Andre, C. M. (2013). Piceatannol, a potent bioactive stilbene, as major phenolic component in *Rhodomyrtus tomentosa*. *Food Chemistry*, 138(2-3), 1421-1430.
- Lambrecht, B.N., Hammad, H., & Fahy, J.V. (2019). The Cy tokines of Asthma. *Immunity*, 50(4), 975-991. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.03.018>
- Lavanya, G., Voravuthikunchai, S. P., & Towatana, N. H. (2012). Acetone extract from *Rhodomyrtus tomentosa*: a potent natural antioxidant. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 535479-5354886
- León-Mejía, G., Machado, M. N., Okuro, R. T., Silva, L., Telles, C., Dias, J.,...& Zin, W. A. (2018). Intratracheal instillation of coal and coal fly ash particles in mice induces DNA damage and translocation of metals to extrapulmonary tissues. *The Science of the total environment*, 625, 589-599. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.283>

- Limsuwan, S., Hesselting-Meinders, A., Voravuthikunchai, S. P., van Dijk, J. M., & Kayser, O. (2011). Potential antibiotic and anti-infective effects of rhodomyrtone from *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk. on *Streptococcus pyogenes* as revealed by proteomics. *Phytomedicine*, 18(11), 934-940.
- Limsuwan, S., Kayser, O., & Voravuthikunchai, S. P. (2012). Antibacterial activity of *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk. leaf extract against clinical isolates of *Streptococcus pyogenes*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 697183-697188.
- Limsuwan, S., Homlaead, S., Watcharakul, S., Chusri, S., Moosigapong, K., Saising, J., & Voravuthikunchai, S. P. (2014). Inhibition of microbial adhesion to plastic surface and human buccal epithelial cells by *Rhodomyrtus tomentosa* leaf extract. *Archives of Oral Biology*, 59(12), 1256-1265.
- Liu, L., Poon, R., Chen, L., Frescura, A. M., Montuschi, P., Ciabattini, G., ... & Dales, R. (2009). Acute effects of air pollution on pulmonary function, airway inflammation, and oxidative stress in asthmatic children. *Environmental health perspectives*, 117(4), 668-674.
- Liu, H., Feng, M. Y., Yu, Q., Yan, H., Zeng, Y., Qin, X. J., He, L., & Liu, H. Y. (2018). Formyl phloroglucinol meroterpenoids from *Eucalyptus tereticornis* and their bioactivities. *Tetrahedron*, 74(13), 1540-1545.
- Liu, H. X., Tan, H. B., & Qiu, S. X. (2016a). Antimicrobial acylphloroglucinols from the leaves of *Rhodomyrtus tomentosa*. *J Asian Nat Prod Res*, 18(6), 535-541.
- Liu, H. X., Zhang, W. M., Xu, Z. F., Chen, Y. C., Tan, H. B., & Qiu, S. X. (2016). Isolation, synthesis, and biological activity of tomentosenol A from the leaves of *Rhodomyrtus tomentosa*. *Rsc Advances*, 6(31), 25882-25886.
- Liu, J., Song, J. G., Su, J. C., Huang, X. J., Ye, W. C., & Wang, Y. (2018). Tomentodione E, a new sec-pentyl syncarpic acid-based meroterpenoid from the leaves of *Rhodomyrtus tomentosa*. *J Asian Nat Prod Res*, 20(1), 67-74.

- Liu, Y., Hou, A., Ji, C., & Wu, Y. (1998). Isolation and structure of hydrolysable tannins from *Rhodomyrtus tomentosa*. *Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa*, 10(1), 14-19.
- Liu, Y. Z., Hou, A. J., Ji, C. R., & Wu, Y. J. (1997). A new C-glycosidic hydrolyzable tannin from *Rhodomyrtus tomentosa*. *Chinese Chemical Letters*, 8(1), 39-40.
- Luo, D., Zhang, Y.B., Huang, J., Chen, L.F., He, L.J., Kuang, G. K.,... & Li, Y.L. (2019). One new sesquiterpene from the leaves of *Rhodomyrtus tomentosa*. *Chemistry Letters*, 48(1), 55-57
- Ma, J., Liu, M. X., Chen, L. C., Shen, J. J., & Kuo, M. L. (2021). Ding Chuan Tang Attenuates Airway Inflammation and Eosinophil Infiltration in Ovalbumin-Sensitized Asthmatic Mice. *BioMed research international*, 2021.
- Maes, T., Provoost, S., Lanckacker, E. A., Cataldo, D. D., Vanoirbeek, J. A. J., Nemery, B., Tournoy, K.G. & Joos, G. F. (2010). Mouse models to unravel the role of inhaled pollutants on allergic sensitization and airway inflammation. *Respiratory Research*, 11, 7-24
- Marques, T. H. C., Branco, M. L. B. G. C., dos Santos Lima, D., Siqueira, H. D. Á. S., Castelo, M. D. S. B. G., de Souza, A. A., & de Freitas, R. M. (2013). Evaluation of the neuropharmacological properties of nerol in mice.
- Mitsuwan, W., Jimenez-Munguia, I., Visutthi, M., Sianglum, W., Jover, A., Barcenilla, F.,... & Grp, R. G. S. (2019). Rhodomyrtone decreases *Staphylococcus aureus* SigB activity during exponentially growing phase and inhibits haemolytic activity within membrane vesicles. *Microbial Pathogenesis*, 128, 112-118.
- Miyata, R., and van Eeden, S.F. 2011. The innate and adaptive immune response induced by alveolar macrophages exposed to ambient particulate matter. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 257: 209-226.
- Mo, X., Cai, X., Hui, Q., Sun, H., Yu, R., Bu, R., ... & Jiang, C. (2021). Whole genome sequencing and metabolomics analyses reveal the biosynthesis of nerol in a multi-stress-tolerant *Meyerozyma*

- guilliermondii GXDK6. *Microbial Cell Factories*, 20(1), 1-11.
- Mordmuang, A., & Voravuthikunchai, S. P. (2015). Rhodo myrtus tomentosa (Aiton) Hassk. Leaf extract: an alternative approach for the treatment of staphylo coccal bovine mastitis. *Research in Veterinary Scien ce*, 102, 242-246.
- Mordmuang, A., Shankar, S., Chethanond, U., & Voravuthi kunchai, S. P. (2015). Effects of Rhodomyrtus tomentosa leaf extract on staphylococcal adhesion and invasion in bovine udder epidermal tissue model. *Nutrients*, 7(10), 8503-8517.
- Mordmuang, A., Goodla, . L. & Voravuthikunchai, . S. P. (2021) Safety evaluation of Rhodomyrtus tomentosa leaf extract: Sub-acute toxicity assessment in a murine model. *Journal of Complementary Medicine Research*, 12 (2), 66-75. doi:10.5455/ jcmr.2021.12.02.10
- Munayakorn, W., Howarth,P.H., and Holgate, S.T. 2013. Airway remodelling in asthma and novel therapy. *Asian Pac J Allergy Immunol*. 31: 3-10.
- Na-Phatthalung, P., Teles, M., Voravuthikunchai, S. P., Tort, L., & Fierro-Castro, C. (2018b). Immunomodulatory effects of Rhodomyrtus tomentosa leaf extract and its derivative compound, rhodomyrtone, on head kidney macrophages of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish. Physiology and Biochemistry*, 44(2), 543-555.
- Na-Phatthalung, P., Chusri, S., Suanyuk, N., & Voravuthikunchai, S. P. (2017). In vitro and in vivo assessments of Rhodomyrtus tomentosa leaf extract as an alternative anti-streptococcal agent in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Journal of Medical Microbiology*, 66(4), 430-439.
- Na-Phatthalung, P., Teles, M., Voravuthikunchai, S. P., Tort, L., & Fierro-Castro, C. (2018a). Immune-related gene expression and physiological responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after intraperitoneal administration of Rhodomyrtus tomentosa leaf extract: A potent phytoimmunostimulant. *Fish & Shellfish Immunology*, 77, 429-437.
- Na-Phatthalung, P., Chusri, S., Suanyuk, N., & Voravuthikunchai,

- S. P. (2017). In vitro and in vivo assessments of *Rhodomyrtus tomentosa* leaf extract as an alternative anti-streptococcal agent in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Journal of Medical Microbiology*, 66(4), 430-439.
- Na-Phatthalung, P., Teles, M., Voravuthikunchai, S. P., Tort, L., & Fierro-Castro, C. (2018a). Immune-related gene expression and physiological responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after intraperitoneal administration of *Rhodomyrtus tomentosa* leaf extract: A potent phytoimmunostimulant. *Fish & Shellfish Immunology*, 77, 429-437.
- Nguyen, H. T., Ding, Y., Choi, E. M., Phan, V. K., Chau, V. M., & Kim, Y. H. (2009). New anthracene glycosides from *Rhodomyrtus tomentosa* stimulate osteoblastic differentiation of MC3T3-E1 cells. *Archives of Pharmacal Research*, 32(4), 515-520.
- Nicoletti, R., Salvatore, M. M., Ferranti, P., & Andolfi, A. (2018). Structures and bioactive properties of myrtucommulones and related acylphloroglucinols from Myrtaceae. *Molecules*, 23(12), 3370-3397.
- Odedina, G. F., Vongkamjan, K., & Voravuthikunchai, S. P. (2016). Use of *Rhodomyrtus tomentosa* ethanolic leaf extract for the bio-control of *Listeria monocytogenes* post-cooking contamination in cooked chicken meat. *Journal of Food Science and Technology*, 53(12), 4234-4243.
- Odedina, G. F., Vongkamjan, K., & Voravuthikunchai, S. P. (2015). Potential Bio-Control Agent from *Rhodomyrtus tomentosa* against *Listeria monocytogenes*. *Nutrients*, 7(9), 7451-7468.
- Ogino, K., Nagaoka, K., Ito, T., Takemoto, K., Okuda, T., Nakayama, S. F.,...& Fujikura, Y. (2018). Involvement of PM2.5-bound protein and metals in PM2.5-induced allergic airway inflammation in mice. *Inhalation toxicology*, 30(13-14), 498-508. <https://doi.org/10.1080/08958378.2018.1561769>
- Park, N., Park, S. J., Kim, M. H., & Yang, W. M. (2021). Efficacy and mechanism of essential oil from *Abies holophylla* leaf on airway inflammation in asthma: Network pharmacology and in vivo study. *Phytomedicine*, 153898.

- Peebles, R. S., Jr, & Aronica, M. A. (2019). Proinflammatory Pathways in the Pathogenesis of Asthma. *Clinics in chest medicine*, 40(1), 29-50. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2018.10.014>
- Potaczek, D. P., Miethe, S., Schindler, V., Alhamdan, F., & Garn, H. (2020). Role of airway epithelial cells in the development of different asthma phenotypes. *Cellular signalling*, 69, 109523.
- Prosser, J. A., Woods, R. R., Horswell, J., & Robinson, B. H. (2016). The potential in-situ antimicrobial ability of Myrtaceae plant species on pathogens in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 96, 1-3.
- Qin, X.-J., Rauwolf, T. J., Li, P.-P., Liu, H., McNeely, J., Hua, Y., Liu, H.-Y., & Porco, J. A., Jr. (2019). Isolation and synthesis of novel meroterpenoids from *Rhodomyrtus tomentosa*: investigation of a reactive enetrione intermediate. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 58(13), 4291-4296.
- Reddel, H.K., Bacharier, L. B., Bateman, E. D., Brightling, C. E., Brusselle, G. G., Buhl, R., ... & Boulet, L. P. (2021). Global Initiative for Asthma (GINA) Strategy 2021—Executive summary and rationale for key changes. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*
- Rosli, M.F.A., Asaruddin, M.R., Romli, A.M., Radhakrishnan, S.E., Nyawai, T.N., & Ahmad, M.N. (2017). Phyto chemical studies of *Rhodomyrtus tomentosa* leaves, stem and fruits as antimicrobial and antioxidant agents. *Transactions on Science and Technology*, 4(3-3), 396-401.
- Saba, E., Lee, Y. S., Yang, W. K., Lee, Y. Y., Kim, M., Woo, S. M., ... & Kim, S. H. (2020). Effects of a herbal formulation, KGC3P, and its individual component, nepetin, on coal fly dust-induced airway inflammation. *Scientific reports*, 10(1), 14036. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68965-5>
- Saeloh, D., Tipmanee, V., Jim, K. K., Dekker, M. P., Bitter, W., Voravuthikunchai, S. P., Wenzel, M., & Hamoen, L. W. (2018). The novel antibiotic rhodomyrtone traps membrane proteins in vesicles with increased fluidity. *Plos Pathogens*, 14(2), 1-35.
- Saising, J., Nguyen, M. T., Hartner, T., Ebner, P., Bhuyan, A. A.,

- Berscheid, A.,...& Gotz, F. (2018). Rhodomyrtone (Rom) is a membrane-active compound. *Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes*, 1860(5), 1114-1124.
- Salehi, B., Valussi, M., Jugran, A. K., Martorell, M., Ramírez-Alarcón, K., Stojanović-Radić, Z.Z.,...& Sharifi-Rad, J. (2018). Nepeta species: From farm to food applications and phytotherapy. *Trends in Food Science & Technology*, 80, 104-122.
- Saputri, R. K., Setiawan, B., Nugrahenny, D., Kania, N., Wahyuni, E. S., & Widodo, M. A. 2014. The effects of *eucheuma cottonii* on alveolar macrophages and malondialdehyde levels in bronchoalveolar lavage fluid in chronically particulate matter 10 coal dust-exposed rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 17(7), 541-545.
- Schins, R.P.F., and Borm, P.J.A. 1999. Mechanisms and mediators in coal dust induced toxicity. *Ann. Occup.Hyg.* 43 (1),7-33
- Shin, N. R., Kwon, H. J., Ko, J. W., Kim, J. S., Lee, I. C., Kim, J. C., ... & Shin, I. S. (2019). S-Allyl cysteine reduces eosinophilic airway inflammation and mucus overproduction on ovalbumin-induced allergic asthma model. *International Immunopharmacology*, 68, 124-130.
- Shiratake, S., Nakahara, T., Iwahashi, H., Onodera, T., & Mizushina, Y. (2015). Rose myrtle (*Rhodomyrtus tomentosa*) extract and its component, piceatannol, enhance the activity of DNA polymerase and suppress the inflammatory response elicited by UVB-induced DNA damage in skin cells. *Molecular Medicine Reports*, 12(4), 5857-5864.
- Sözener, Z. C., Cevher, L., Nadeau, K., Akdis, M., & Akdis, C.A. (2020). Environmental factors in epithelial barrier dysfunction. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 145(6), 1517-1528.
- Srisuwan, S., Tongtawe, P., Srimanote, P., & Voravuthikunchai, S. P. (2014). Rhodomyrtone Modulates Innate Immune Responses of THP-1 Monocytes to Assist in Clearing Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Plos One*, 9(10), e110321- e110331.
- Srisuwan, S., & Voravuthikunchai, S. P. (2017). *Rhodomyrtus tomentosa* Leaf Extract Inhibits Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*

Adhesion, Invasion, and Intracellular Survival in Human HaCaT Keratinocytes. *Microbial Drug Resistance*, 23(8), 1002-1012.

- Suijun, W., Zhen, Y., Ying, G., & Yanfang, W. (2014). A role for trans-caryophyllene in the moderation of insulin secretion. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 444(4), 451-454.
- Sukeri, S., Ab Karem, A., Kamarudin, E., & Bahari, M. (2021). Antimicrobial Activity of Methanolic and Aqueous Extract of *Rhodomyrtus tomentosa* Leaves against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 15(1), 186-194.
- Suparman, D. D., Yustisia, I., Arsyad, A., husni Cangara, M., Patellongi, I., & Natsir, R. (2021). Studi in silico potensi anti kanker senyawa turunan kumarin terhadap protein BCL-2. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 25(2), 80-83.
- Sutomo, Arnida, M. Ikhwan Rizki, Liling Triyasmono, Agung Nugroho, Evi Mintowati, & Salamiah. (2016). Skrining fitokimia dan uji kualitatif aktivitas antioksidan tumbuhan asal Daerah Rantau Kabupaten Tapin Kalimantan Selatan. *Jurnal Pharmascience*, 3(1), 66-74.
- Suzuki, J. I., Ogawa, M., Muto, S., Itai, A., Isobe, M., Hirata, Y., & Nagai, R. (2011). Novel I κ B kinase inhibitors for treatment of nuclear factor- κ B-related diseases. *Expert opinion on investigational drugs*, 20(3), 395-405.
- Tan, H., Liu, H., Zhao, L., Yuan, Y., Li, B., Jiang, Y., Gong, L., & Qiu, S. (2017). Structure-activity relationships and optimization of acyclic acylphloroglucinol analogues as novel antimicrobial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 125, 492-499.
- Tayeh, M., Nilwarangoon, S., Mahabusarakum, W., & Watana pokasin, R. (2017). Anti-metastatic effect of rhodomyrtone from *Rhodomyrtus tomentosa* on human skin cancer cells. *International Journal of Oncology*, 50(3), 1035-1043.
- Tétreault, L. F., Doucet, M., Gamache, P., Fournier, M., Brand, A., Kosatsky, T., & Smargiassi, A. 2016. Severe and Moderate Asthma Exacerbations in Asthmatic Children and Exposure to Ambient Air Pollutants. *International journal of environmental*

- research and public health, **13**(8): 771.
- Wang, C. Y., Chen, Y. W., & Hou, C. Y. (2019). Antioxidant and antibacterial activity of seven predominant terpeno- ids. *International Journal of food properties*, *22*(1), 230-238.
- Wenzel, S.E. 2012. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches. *Nature Medicine* **18**(5):716-725.
- Wu, J., Zhong, T., Zhu, Y., Ge, D., Lin, X., & Li, Q. (2019). Effects of particulate matter (PM) on childhood asthma exacerbation and control in Xiamen, China. *BMC pediatrics*, *19*(1), 1-11.
- Wunnoo, S., Saising, J., & Voravuthikunchai, S. P. (2017). Rhodomyrtone inhibits lipase production, biofilm formation, and disorganizes established biofilm in *Propionibacterium acnes*. *Anaerobe*, *43*, 61-68.
- Wu X. L., Beecher, G. R., Holden, J. M., Haytowitz, D. B., Gebhardt, S. E., & Prior, R. L. (2004). Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, *52*(12), 4026-4037
- Ulker, O.C., Yucesoy, B., Demir, O., Tekin, I.O., Karakaya, A. 2008. Serum and BAL cytokine and antioxidant enzyme levels at different stages of pneumoconiosis in coal workers. *Hum Exp Toxicol*, *27*, 871-877.
- Verma, P., Gulati, K., & Ray, A. (2021). Evaluation of Cellular and Molecular Mechanism of Anti-Asthmatic Effects of A Traditional Herbal Drug In Rats. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, *9*(5), 29-34.
- Visutthi, M., Srimanote, P., & Voravuthikunchai, S. P. (2011). Responses in the expression of extracellular proteins in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* treated with rhodomyrtone. *Journal of Microbiology*, *49*(6), 956-964.
- Vo, T. S., & Ngo, D. H. (2019). The health beneficial properties of *Rhodomyrtus tomentosa* as potential functional food. *Biomolecules*, *9*(2), 76-91.
- Xue, K., Ruan, L., Hu, J., Fu, Z., Tian, D., & Zou, W. (2020). Panax notoginseng saponin R1 modulates TNF- α /NF- κ B signaling and

attenuates allergic airway inflammation in asthma. *International immuno pharmacology*, 88, 106860. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106860>

- Yucesoy, B., Johnson, V.J., Kissling, G.E., Fluharty, K., Kashon, M.L., Slaven, J., Germolec, D., Vallyathan, V., & Luster, M.I. (2008). Genetic susceptibility to progressive massive fibrosis in coal miners. *European Respiratory Journal*, 31(6), 1177-1182.
- Youssef, D.A., El-Fayoumi, H.M., Mahmoud, M.F. (2019) Beta-caryophyllene protects against diet-induced dyslipidemia and vascular inflammation in rats: Involvement of CB2 and PPAR- γ receptors. *Chem. Biol. Interact*, 297, 16-24.
- Zhang, Y. B., Li, W., Zhang, Z. M., Chen, N. H., Zhang, X. Q., Jiang, J. W., Wang, G. C., & Li, Y. L. (2016). Two new triterpenoids from the roots of *Rhodomyrtus tomentosa*. *Chemistry Letters*, 45(3), 368-370.
- Zhang, Y. B., Li, W., Jiang, L., Yang, L., Chen, N. H., Wu, Z. N., Li, Y. L., & Wang, G. C. (2018). Cytotoxic and anti-inflammatory active phloroglucinol derivatives from *Rhodomyrtus tomentosa*. *Phytochemistry*, 153, 111-119.
- Zhang, Y. L., Chen, C., Wang, X. B., Wu, L., Yang, M. H., Luo, J., Zhang, C., Sun, H. B., Luo, J. G., & Kong, L. Y. (2016). Rhodomyrtals A and B, Two meroterpenoids with a triketone-sesquiterpene-triketone skeleton from *Rhodomyrtus tomentosa*: structural elucidation and biomimetic synthesis. *Organic Letters*, 18(16), 4068-4071.
- Zhang, Y. L., Zhou, X. W., Wu, L., Wang, X. B., Yang, M. H., Luo, J., Luo, J. G., & Kong, L. Y. (2017). Isolation, structure elucidation, and absolute configuration of syncarpic acid-conjugated terpenoids from *Rhodomyrtus tomentosa*. *Journal of Natural Products*, 80(4), 989-998.
- Zhao, L. Y., Liu, H. X., Wang, L., Xu, Z. F., Tan, H. B., & Qiu, S. X. (2018). Rhodomyrtosone B, a membrane-targeting anti-MRSA natural acylphloroglucinol from *Rhodomyrtus tomentosa*. *Journal of Ethnopharmacology*, 50-57.

- Zhou, Y., Wang, H., Xing, J., Liu, Y., Cui, X., Guo, J., & Chen W. (2014). Expression levels of surfactant-associated proteins and inflammation cytokines in serum and bronchoalveolar lavage fluid among coal miners: a case-control study. *J Occup Environ Med.* 56(5), 484-488.
- Zhu, C. F., Liu, H. X., He, L., Wang, J. G., & Qiu, S. X. (2015). Chemical constituents from leaves of *Rhodomyrtus tomentosa*. *Redai Yaredai Zhiwu Xuebao*, 23(1), 103-108.
- Zhuang, L., Chen, L. F., Zhang, Y. B., Liu, Z., Xiao, X. H., Tang, W., Wang, G. C., Song, W. J., Li, Y. L., & Li, M. M. (2017). Watsonianone A from *Rhodomyrtus tomentosa* Fruit Attenuates Respiratory-Syncytial-Virus-Induced Inflammation In Vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(17), 3481-3489.
- Zuo, B., Liu, C., Chen, R., Kan, H., Sun, J., Zhao, J., ... & Bai, H. (2019). Associations between short-term exposure to fine particulate matter and acute exacerbation of asthma in Yancheng, China. *Chemosphere*, 237, 124497.
- Zou, Z. X., Tan, G. S., Huang, Q., Sun, H. H., Huo, L. Q., Zhong, W. Q., Zhao, L. Y., Liu, H. X., & Tan, H. B. (2018). Brachyanins A-C, pinene-derived meroterpenoids and phloroglucinol derivative from *Leptospermum brachyandrum*. *Fitoterapia*, 130, 184-189