

**EFEK PAPARAN PROFILIN *Toxoplasma gondii* TERHADAP KADAR
MALONDIALDEHID PADA KULTUR ADIPOSIT
(STUDI HUBUNGAN DISFUNGSI ADIPOSIT DENGAN INFEKSI *Toxoplasma gondii*)**

Angelin Vania Ekaputri

Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

ABSTRAK

Penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa profilin *Toxoplasma gondii* merupakan ligan spesifik dari TLR-11 dalam sel host dan dapat meningkatkan sitokin inflamasi IL-6 di sel adiposit. Proses inflamasi sel adiposit yang diinduksi IL-6 akan menyebabkan hipertrofi dan hiperproliferasi jaringan adiposit (disfungsi adiposit). Hipertrofi dan hiperproliferasi jaringan adiposit yang terjadi terus menerus akan menimbulkan terjadinya stress oksidatif. Malondialdehid adalah komposisi reaktif aldehyd yang merupakan salah satu biomarker untuk mengukur level stress oksidatif pada makhluk hidup. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui efek paparan profilin *Toxoplasma gondii* terhadap kadar malondialdehid. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan Post Test Only Control Group Design. Sampel dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif dan tiga kelompok yang diberikan profilin dosis 5, 20, dan 40 μ g. Hasil penelitian ini menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna pada 4 kelompok (One-way ANOVA, $p=0.306$). Hubungan kedua variabel bersifat tidak signifikan dengan kekuatan korelasi yang cukup kuat (Pearson, $p=0.061$, koefisien korelasi=0.707). kadar malondialdehid dapat menjelaskan efek paparan profilin sebesar 17,4%. Sebesar 82,6% sisanya dijelaskan oleh variabel lain yang tidak diteliti. Kesimpulan penelitian ini adalah tidak didapatkan hubungan antara paparan profilin *Toxoplasma gondii* dengan kadar malondialdehid dan semakin tinggi dosis profilin yang diberikan, semakin rendah kadar malondialdehid. Saran untuk penelitian lebih lanjut adalah penelitian pada hewan coba untuk mengetahui patomekanisme obesitas akibat infeksi *Toxoplasma gondii*.

Kata Kunci : profilin, *Toxoplasma gondii*, disfungsi adiposit, malondialdehid.

ABSTRACT

Previous research has proven that *Toxoplasma gondii*'s profilin is a specific ligand of TLR-11 in the host cells and can increase the inflammatory cytokine, IL-6, in the adipocyte cells. Adipocyte cell inflammatory process that is induced by IL-6 will cause hypertrophy and hyperproliferation of adipocyte tissue (adipocyte dysfunction). Hypertrophy and hyperproliferation of adipocyte tissue that occurs continuously will cause oxidative stress. Malondialdehyde is a reactive aldehyde composition which is one of many biomarkers to measure the level of oxidative stress in living beings. The purpose of this study was to determine the effects of *Toxoplasma gondii*'s exposure on malondialdehyde levels. This study is an experimental research with Post Test Only Control Group Design. The samples were divided into 4 groups, namely the negative control group and three groups given profilin doses of 5, 20 and 40 μ g. The results of this study showed no significant difference in 4 groups (One-way ANOVA, $p = 0.306$). Relations between the two variables are not significant enough to force a strong correlation (Pearson, $p = 0.061$, the correlation coefficient = 0.707). Malondialdehyde level may explain the effects of profilin exposure for 17.4%. Up to 82.6% is explained by other variables that was not examined. The conclusion of this research is there is no association between *Toxoplasma gondii*'s profilin exposure on malondialdehyde levels and the higher profilin dose given, the lower the levels of malondialdehyde. Suggestions for further research are animal studies to determine the obese patomechanism due to *Toxoplasma gondii* infection.

Key words : profilin, *Toxoplasma gondii*, adipocyte dysfunction, malondialdehyde

PENDAHULUAN

Sindroma metabolik merupakan sekelompok faktor resiko metabolik seperti hipertensi, dislipidemia, hiperglikemia, dan obesitas abdominal. Ketika seseorang didapati memiliki faktor resiko metabolik ini, maka peluang untuk terjadinya penyakit kardiovaskular di masa yang akan datang menjadi lebih besar daripada individu lainnya¹. Di Amerika Serikat, 70% orang dewasa dan 16,9% anak-anak mengalami *overweight*². Dari tahun ke tahun, angka obesitas terus meningkat. Laporan BBC tahun 2014, jumlah orang di dunia yang dikategorikan kelebihan berat badan telah melampaui 2,1 miliar, atau naik 875 juta dari 1980³.

Obesitas dapat memicu penyakit-penyakit metabolik, seperti Penyakit Jantung Koroner, Diabetes Mellitus tipe 2, Arthritis dan lain-lain, yang beberapa diantaranya termasuk dalam penyebab kematian tertinggi di dunia⁴. Ada berbagai macam penyebab obesitas, salah satunya adalah akibat infeksi⁵. Reeves *et al* menemukan adanya asosiasi antara pasien dengan serum *Toxoplasma gondii* positif dengan obesitas. Namun penemuan Reeves ini tidak menjelaskan secara signifikan hubungan kausatif antara infeksi *Toxoplasma gondii* dengan obesitas⁶.

Toxoplasma gondii adalah protozoa *apicomplexan* yang dapat menginfeksi segala jenis hewan berdarah panas di seluruh dunia. Famili kucing (Felidae) adalah satu-satunya *definitive inang*, dimana parasit mengalami siklus gametogenesis dan reproduksi secara sempurna, menghasilkan stadium ookista yang berisi sporozoit pada feses kucing⁷. Infeksi pada *intermediate inang* (tikus, burung, hewan domestik, atau manusia) dapat terjadi jika tidak sengaja menelan ookista (melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi) atau kista pada jaringan (melalui daging terinfeksi yang mentah atau kurang matang). Transmisi kongenital juga memiliki potensi penularan. Dalam beberapa kondisi tertentu, *Toxoplasma gondii* dapat berpindah melalui kontak seksual⁸.

Belum banyak diketahui peranan infeksi *Toxoplasma gondii* pada obesitas.

Menurut Iskandar *et al* terdapat perbedaan kadar profilin yang bermakna antara individu obesitas dengan individu yang sehat. Dalam penelitian tersebut juga disebutkan bahwa peningkatan kadar profilin pada individu obesitas berhubungan dengan peningkatan IL-6 dan IL-12 sebagai *inflammatory cytokine*, walaupun dengan korelasi yang lemah. Hal ini menunjukkan bahwa pada individu obesitas terdapat peningkatan kadar profilin. Profilin *Toxoplasma gondii* akan dikenali oleh TLR-11 sistem imun alami sel inang dan memicu peningkatan *inflammatory cytokine* seperti IL-6 dan IL-12 yang merupakan petanda awal terjadinya disfungsi adiposit pada individu obesitas⁹.

Malondialdehid (MDA) merupakan komposisi reaktif dari aldehid. MDA merupakan salah satu dari *reactive electrophile species* yang menyebabkan stres oksidatif pada sel¹⁰. Mayoritas pasien dengan obesitas memiliki fungsi jaringan adiposa yang terganggu akibat interaksi genetik dan faktor lingkungan lainnya yang berujung pada sel adiposit yang hipertrofi, hipoksia, berbagai macam stress dan proses inflamasi pada jaringan adiposa¹¹. Hipertrofi adiposit yang terjadi secara berlebihan akan berakhir pada disfungsi adiposit¹². Disfungsi adiposit akan menginduksi terjadinya stress oksidatif¹³. Akumulasi lemak jenuh akan memicu kompensasi tubuh kita untuk mendegradasi lemak jenuh tersebut. Degradasi dari asam lemak jenuh dilakukan oleh enzim peroksidase akan memproduksi malondialdehid sebagai hasil akhirnya¹⁴. MDA merupakan salah satu indikator terjadinya stress oksidatif¹⁵.

METODE

Penelitian ini dirancang menggunakan metode *true eksperimental Post Test Only, Control Group Design*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian profilin dari *Toxoplasma gondii* dalam meningkatkan kadar MDA pada kultur adiposit. Sampel penelitian adalah kultur adiposit lemak putih tikus wistar yang berumur 1 bulan. Kultur dikembangkan selama 5 minggu dalam media Dulbecco's Modified Eagle

Medium (DMEM) dan telah diberi profilin *Toxoplasma gondii* yang diekstrak dari *E.coli* dengan berbagai dosis. Sampel dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan yaitu Kelompok Kontrol Negatif, Kelompok I (diberi Profilin 5 μ g), Kelompok II (diberi Profilin 20 μ g), dan Kelompok III (diberi Profilin 40 μ g). Variabel yang diukur adalah kadar Malondialdehid (MDA) dengan menggunakan TBARS Assay.

HASIL

Hasil Pengukuran Kadar Malondialdehid dengan Menggunakan TBARS Assay

Kelompok	1	2	3	4	Rata-rata $\pm$ SD
Kontrol Negatif	784	671.5	656.5	716.5	707.125 $\pm$ 57.241
I (5 μ g)	759	599	691.5	736.5	696.5 $\pm$ 70.799
II (20 μ g)	726.5	681.5	649	659	679 $\pm$ 34.460
III (40 μ g)	639	669	576.5	664	637.125 $\pm$ 42.494

Keterangan : Data kadar MDA setiap kelompok dengan pemberian kadar profilin dalam satuan μ g/mL ($p=0.306$).

Hasil penelitian efek paparan profilin *Toxoplasma gondii* terhadap kadar MDA kultur adiposit yang diukur menggunakan TBARS Assay menunjukkan kelompok Kontrol Negatif memiliki rata-rata kadar MDA sebesar 707.125 $\pm$ 57.241 μ g/mL, kelompok I yang diberi dosis profilin *Toxoplasma gondii* 5 μ g/mL memiliki rata-rata kadar MDA sebesar 696.5 $\pm$ 70.799 μ g/mL, kelompok II yang diberi dosis profilin *Toxoplasma gondii* 20 μ g/mL memiliki rata-rata kadar MDA sebesar 679 $\pm$ 34.460 μ g/mL, dan kelompok III yang diberi dosis profilin *Toxoplasma gondii* 40 μ g/mL memiliki rata-rata kadar MDA sebesar 637.125 $\pm$ 42.949 μ g/mL.

Pada uji normalitas data menggunakan uji Shapiro-Wilk, didapatkan distribusi data kadar MDA normal ($p=0.934$, $\alpha=0.05$). Pada uji homogenitas data menggunakan uji Levene, didapatkan data kadar MDA memiliki varian yang homogen ($p=0.567$, $\alpha=0.05$). Dari uji hipotesis komparatif One-way ANOVA, didapatkan bahwa tidak didapatkan perbedaan yang bermakna antara 4 kelompok tersebut ($p = 0.306$).

Berdasarkan uji korelasi Pearson yang telah dilakukan, didapatkan signifikansi sebesar 0,061 yang berarti hubungan antara dosis profilin dengan kadar MDA tidak bermakna. Hasil r^2 didapatkan sebesar 0,174 yang berarti kadar MDA dapat menjelaskan efek perlakuan dosis profilin hanya sebesar 17,4%. Sebesar 82,6% sisanya dijelaskan oleh variabel lain yang tidak diteliti.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, kadar MDA tidak memiliki perbedaan yang bermakna pada semua kelompok, artinya paparan profilin *Toxoplasma gondii* tidak meningkatkan kadar MDA. Hal ini diduga disebabkan oleh beberapa alasan. MDA adalah hasil peroksidasi lipid dari asam lemak jenuh¹⁶. Akan tetapi, hanya beberapa reaksi peroksidasi lipid tertentu yang dapat menghasilkan MDA. MDA bukan satu-satunya produk akhir dari peroksidase dan dekomposisi formasi lipid¹⁷. Sangat memungkinkan bahwa reaksi peroksidasi lipid yang terjadi pada kultur adiposit tidak termasuk dalam reaksi peroksidasi lipid yang menghasilkan MDA.

MDA merupakan salah satu biomarker untuk mengukur aktivitas radikal bebas. Selain MDA, parameter yang lebih sensitif untuk menggambarkan aktivitas radikal bebas adalah ROS. Selama 24 jam awal kerusakan sel, produksi ROS belum mengalami kenaikan yang signifikan¹⁸. Hal ini memunculkan dugaan bahwa dalam waktu 24 jam pertama kerusakan sel belum terjadi aktivitas radikal bebas yang bermakna, sehingga pada penelitian ini didapatkan tidak terjadi kenaikan MDA pada medium kultur adiposit setelah 24 jam diinduksi profilin *Toxoplasma gondii*.

Karaman *et al.* yang melakukan penelitian pada 37 pasien seropositif *Toxoplasma gondii* dan 40 partisipan sebagai grup kontrol menyimpulkan bahwa pada pasien dengan seropositif *Toxoplasma gondii* mengalami kenaikan MDA dan NO yang signifikan yang diduga berhubungan dengan mekanisme kerusakan jaringan pada kasus toksoplasmosis kronis¹⁹. Hal ini diduga merupakan penyebab lain yang

menyebabkan tidak terjadinya kenaikan MDA pada medium kultur adiposit setelah 24 jam (akut) diinduksi profilin *Toxoplasma gondii*.

GSH adalah antioksidan yang diproduksi sebagai pertahanan lini pertama terhadap kerusakan sel untuk menjaga keadaan redoks yang seimbang sehingga dapat menghindari atau memperbaiki modifikasi oksidatif yang mengarah pada disfungsi atau kematian sel²⁰. Penelitian yang dilakukan oleh Lecumberri *et al* pada 32 tikus wistar jantan berusia 8 minggu menemukan bahwa kadar GSH meningkat secara signifikan dan kadar MDA menurun secara signifikan pada tikus yang diberi diet kokoa²¹. Hal ini memunculkan dugaan adanya hubungan antara aktivitas GSH dengan kadar MDA yang menyebabkan kadar MDA pada kultur adiposit tidak meningkat.

Kondisi medium kultur yang diujikan juga dapat mempengaruhi kadar MDA yang diukur menggunakan teknik TBARS assay. Medium yang bersifat terlalu basa menyebabkan MDA kurang bereaksi dengan zat TBA sehingga kadar MDA yang terukur menjadi tidak representatif²².

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang diduga menjadi penyebab tidak terjadi peningkatan kadar MDA, antara lain metode pengukuran kadar MDA yang menggunakan TBARS assay yang merupakan teknik pengukuran kadar MDA secara manual. Teknik ini kurang direkomendasikan karena dapat memunculkan bias pada pengukuran kadar MDA.

Keterbatasan lainnya adalah waktu pemaparan profilin *Toxoplasma gondii* terhadap kultur adiposit. Perlunya dilakukan *washing* terhadap kultur setiap dua hari sekali menyebabkan sulitnya dilakukan pemaparan profilin secara kronis.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis dan pembahasan yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

- Tidak didapatkan hubungan antara paparan profilin *Toxoplasma gondii* dengan kadar MDA kultur adiposit.
- Semakin tinggi dosis profilin *Toxoplasma gondii*, semakin rendah kadar MDA pada kultur adiposit.

SARAN

Saran-saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya adalah :

- MDA diukur dengan *kit* yang memiliki protokol standar.
- Penelitian lebih lanjut dilakukan menggunakan variabel yang lebih sensitif mengukur stress oksidatif seperti ROS, SOD, GSH, dan lain-lain.
- Penelitian lebih lanjut dilakukan pada hewan coba yang diinokulasikan parasit *Toxoplasma gondii*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mottillo, S., Filion, K. B., Genest, J., Joseph, L., Poirier, P., *et.al*. 2010. The metabolic syndrome and cardiovascular risk: a systematic review and meta-analysis. *Journal of the American College of Cardiology*, 56(14), 1113-1132.
2. American Heart Association, 2014. *Obesity Information*, (Online), (http://www.heart.org/HEARTORG/GettingHealthy/WeightManagement/Obesity/Obesity-Information_UCM_307908_Article.jsp#.VlxJ5vkrK00), diakses 23 Oktober 2015)
3. Gold, A., 2015. *US obesity rates 'rising for first time since 2004'*. British Broadcasting Company. (<http://www.bbc.com/news/world-us-canada-34802263>), diakses 25 Oktober 2015)
4. Pittas, A. G., Joseph, N. A., & Greenberg, A. S. 2004. HOT TOPIC. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(2), 447-452.
5. Pasarica, M., & Dhurandhar, N. V. 2007. Infectobesity: obesity of

- infectious origin. *Advances in food and nutrition research*, 52, 61-102.
6. Reeves, G. M., Sara M., Soren S., Patricia L., Ina G., Annette M. H., et al. 2013. A positive association between T. gondii seropositivity and obesity. *Frontiers in public health* 1.
7. Robert-Gangneux, F. and Dardé, M.L., 2012. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clinical microbiology reviews*, 25(2), pp.264-296.
8. Vyas, A. 2013. Parasite-augmented mate choice and reduction in innate fear in rats infected by *Toxoplasma gondii*. *J. Exp. Biol.* 216, 120-126.
9. Iskandar, A., M. Rasyad I., Satuman. 2011. PROFILIN SEBAGAI BIOMARKER DISFUNGSI ADIPOSIT (Studi hubungan disfungsi adiposit dengan infeksi toxoplasma gondii pada individu obese). *LPPM UB*.
10. Farmer, E. E., & Davoine, C. 2007. Reactive electrophile species. *Current opinion in plant biology*, 10(4), 380-386.
11. Blüher, M. 2009. Adipose tissue dysfunction in obesity. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes: official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*, 117(6), 241-250.
12. Bays, Blonde L dan Rosenson R. 2006. Adiposopathy: how do diet, exercise and weight loss drug therapies improve metabolic disease in overweight patients?. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 4(6): 871-95.
13. Furukawa, S., Takuya F., Michio S., Masanori I., Yukio Y., Yoshimitsu N., et al. 2004. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *Journal of Clinical Investigation*. 114, no. 12 : 1752-1761.
14. Pryor, W. ed., 2012. *Free radicals in biology* (Vol. 6). Elsevier.
15. Koltas IS, Yucebilgic G, Bilgin R, Parsak CK, Sakman G. 2006. Serum malondialdehyde level in patients with cystic echinococcosis. *Saudi Med J* ; 27: 1703-1705.
16. Davey, M. W., Stals, E., Panis, B., Keulemans, J., Swennen, R.L. 2005. High-throughput determination of malondialdehyde in plant tissues. *Analytical Biochemistry* 347 (2): 201-207
17. Lushchak, V.I., 2011. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic Toxicology*, 101(1), pp.13-30.
18. Armstrong, J.S., Steinauer, K.K., Hornung, B., Irish, J.M., Lecane, P., Birrell, G.W., et al., 2002. Role of glutathione depletion and reactive oxygen species generation in apoptotic signaling in a human B lymphoma cell line. *Cell death and differentiation*, 9(3), pp.252-263.
19. Karaman, U., Celik, T., Kiran, T.R., Colak, C. and Daldal, N.U., 2008. Malondialdehyde, glutathione, and nitric oxide levels in *Toxoplasma gondii* seropositive patients. *The Korean journal of parasitology*, 46(4), pp.293-295.
20. Marí, M., Morales, A., Colell, A., García-Ruiz, C. and Fernández-Checa, J.C., 2009. Mitochondrial glutathione, a key survival antioxidant. *Antioxidants & redox signaling*, 11(11), pp.2685-2700.
21. Lecumberri, E., Goya, L., Mateos, R., Alía, M., Ramos, S., Izquierdo-Pulido, M. and Bravo, L., 2007. A diet rich in dietary fiber from cocoa improves lipid profile and reduces malondialdehyde in hypercholesterolemic rats. *Nutrition*, 23(4), pp.332-341.
22. Kehrer, J.P., 2008. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Critical reviews in toxicology*.