

repository.ub.ac.id

## Pengaruh Pemberian Kurkumin terhadap Kadar *Matrix Metalloproteinase-2 (MMP-2)* Serum pada Tikus Model Fibrosis Hati Akibat Induksi Karbon Tetraklorida (CCl<sub>4</sub>)

Ayu Novita Kartikaningtyas<sup>1</sup>, Supriono<sup>2</sup>, Titik Cinthia Dewi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

<sup>2</sup>SMF Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

<sup>3</sup>Laborium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

### ABSTRAK

Fibrosis hati merupakan akumulasi berlebih protein matriks ekstraseluler. Mediator fibrosis hati adalah *Hepatic Stellate Cell* (HSC). Aktivasi HSC mengambil peran dalam proses inflamasi melalui interaksi dengan beragam jenis sel imun yang dapat mensintesis protein matriks dan menghasilkan beberapa *matrix metalloproteinase* (MMP) yang dapat menurunkan matriks ekstraseluler. *Matrix Metalloproteinase 2* (MMP-2) terlibat dalam pembentukan dan perbaikan fibrosis hati. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kurkumin terhadap kadar matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) serum pada tikus model fibrosis hati akibat induksi karbon tetraklorida (CCl<sub>4</sub>). Penelitian ini menggunakan studi eksperimental secara *in vivo* terhadap tikus *Rattus norvegicus* galur *Wistar* berusia 2-3 bulan. Total sampel sebanyak 32 ekor tikus yang dibagi menjadi 8 kelompok, yaitu kontrol negatif diberikan NaCl 9%, kontrol positif diinduksi dengan CCl<sub>4</sub>, kelompok perlakuan 2 (KP-2), KP-5, KP-9 diinduksi CCl<sub>4</sub> dan diberikan kurkumin selama 2, 5, dan 9 minggu. Kelompok Kontrol 2 (KK-2), KK-5, KK-9 diinduksi CCl<sub>4</sub> dan diberikan CMC 1% selama 2, 5, 9 minggu. Pada uji *One-way Anova* menunjukkan bahwa pengaruh pemberian kurkumin memiliki perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap kadar *matriks metalloproteinase 2* (MMP-2) serum ( $p = 0,001$ ) dan pada uji *Post Hoc*, terdapat perbedaan signifikan antara kontrol positif dengan KP-2, KP-5 dan KP-9. Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian kurkumin memiliki pengaruh terhadap kadar *matriks metalloproteinase-2* (MMP-2) pada tikus model fibrosis hati.

Kata Kunci : Fibrosis hati, *Matrix metalloproteinase 2*, Karbon Tetraklorida.

### ABSTRACT

Liver fibrosis is the excessive accumulation of extracellular matrix proteins. Liver fibrosis mediator is *Hepatic Stellate Cell* (HSC). HSC activation play a role in inflammatory processes throught interaction with various types of immune cell that can synthesize proteins and produce some *Matrix Metalloproteinase* (MMP) which can degrade extracellular matrix. *Matrix Metalloproteinase 2* (MMP-2) involve formation and repair of liver fibrosis. The purpose of this study was to determine effects of curcumin on matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) serum level in rat liver fibrosis model induced by carbon tetrachlorida (CCl<sub>4</sub>). This research used experimental studies *in vivo* with *Ratus neovergicus* Wistar rats aged 2-3 months. Total sample of 32 rats are divided into 8 groups: namely the negative control given NaCl 9%, the positive controlled induced with CCl<sub>4</sub>, treatment group 2 (KP-2), KP-5, KP-9 induced CCl<sub>4</sub> and given curcumin for 2, 5, and 9 weeks, the control group 2 (KK-2), KK-5, KK-9 induced CCl<sub>4</sub> and given CMC 1% for 2, 5, 9 weeks. *One-way ANOVA* test showed that the effect of curcumin had a significant difference ( $p < 0.05$ ) of matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) serum levels ( $p = 0.001$ ) and *Post Hoc* test, there is a significant difference between the positive control with KP-2, KP-5 and KP-9 . The conclusion of this research was the curcumin has an influence on the levels of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) in the rat model of liver fibrosis.

Keywords: Liver fibrosis, *Matrix Metalloproteinase 2*, Carbon Tetrachloride.

## PENDAHULUAN

Penyakit hati merupakan salah satu penyakit yang masih menjadi masalah kesehatan yang penting dengan angka morbiditas dan mortalitas yang tinggi (1). Penyakit hati diawali dengan kerusakan hati yang menyebabkan respon inflamasi, aktivasi, dan proliferasi sel mesenkim hati yang akan meremodelling matriks ekstraseluler sebagai bagian respon penyembuhan luka. Kerusakan hati kronis dapat menyebabkan akumulasi protein menjadi jaringan parut (fibrosis) secara progresif (2-5).

Prevalensi fibrosis hati selalu meningkat, karena adanya peningkatan prevalensi obesitas dan sindrom metabolik, terutama di negara-negara maju (6). Fibrosis hati menyebabkan satu juta kematian pertahun diseluruh dunia (7). Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) pada tahun 2013, prevalensi penyakit hati Indonesia 2 kali lebih tinggi dibandingkan pada tahun 2007. Berdasarkan data rekam Medis RSUD dr. Saiful Anwar Malang dalam 5 tahun terakhir (2010-2014) terdapat sekitar 250-300 kasus per tahun, pasien sirosis hepatis yang dirawat inap.

Fibrosis hati merupakan akumulasi berlebih protein matriks ekstraseluler termasuk kolagen yang terjadi pada kebanyakan penyakit hati kronis dan merupakan respon penyembuhan luka yang reversibel, ditandai dengan adanya jaringan parut yang terjadi setelah penyakit hati kronis yang tidak bersifat *self-limited* (2, 3, 4, 5). Salah satu mediator fibrosis hati adalah *Hepatic Stellate Cell* (HSC). Aktivasi HSC merupakan sumber utama dari matriks ekstraseluler (6). HSC mengambil peran secara aktif dalam proses inflamasi melalui interaksi dengan beragam jenis sel imun yang berperan dalam sintesis protein matriks dan menghasilkan beberapa matriks metalloproteinase yang dapat menurunkan matriks ekstraseluler (7). Tahap akhir proses

fibrosis adalah degradasi matriks, yang diatur oleh keseimbangan antara *matrix metalloproteinase* (MMP) dan antagonisnya yaitu *tissue inhibitor of metalloproteinase* (TIMP) (8).

*Matriks Metalloproteinase* (MMP) adalah enzim proteolitik yang berperan penting dalam semua tahapan luka hati yang progresif dari inisiasi fibrogenesis melalui resolusi spontan (9). MMP memiliki peran utama dalam peningkatan matriks ekstraseluler (MES) dan terlibat dalam mengatur berbagai aktivitas molekul immunoregulator. Penurunan aktivitas *matrix metalloproteinase* (MMP) dengan mendegradasi matriks ekstraseluler (MES) terutama akibat kelebihan ekspresi TIMP. Salah satu jenis MMP adalah MMP-2 yang terlibat dalam pembentukan dan perbaikan fibrosis hati (10-12). MMP-2 dapat bertindak sebagai sinyal proliferasi autokrin, sehingga berkontribusi untuk respon fibrosis oleh peningkatan jumlah HSC yang aktif pada keadaan fibrosis hati. Sehingga MMP-2 berperan dalam proses terjadinya fibrosis hati dan degradasi matriks ekstraseluler (MES) yang terdiri dari degradasi restoratif dengan merusak kelebihan jaringan parut, dan menyebabkan degradasi patologik (12).

Kurkumin berasal dari rimpang dari ramuan *Curcuma longa*, telah digunakan selama berabad-abad di Asia baik sebagai bumbu makanan dan pengobatan untuk radang, luka dan pencernaan, paru dan gangguan hati. Kurkumin adalah fitokimia alami yang diekstrak dari kunyit. Data-data penelitian baik secara *in vitro* dan *in vivo* telah membuka jalan bagi kurkumin untuk dijadikan sebagai subyek uji klinis. Kurkumin memodulasi jalur sinyal kunci penting dalam proses seluler. Berbagai mekanisme kerja kurkumin antara lain: mencegah angiogenesis, proliferasi, dan metastasis; sebagai pro-apoptosis, menghambat siklus sel, sebagai imuno-modulator, efek pro-inflamasi, antioksidan antiinflamasi, dan

antifibrogenik (13, 14). Satu studi menunjukkan kemampuan kurkumin dalam mencegah perkembangan dan progresifitas fibrosis hati (15). Dari penelitian sebelumnya pemberian kurkumin mampu menginduksi apoptosis HSC. Aktivasi dan proliferasi HSC terkait erat dengan fibrosis hati (16).

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian kurkumin terhadap penurunan kadar *matrix metalloproteinase 2* (MMP-2) serum pada tikus model fibrosis akibat induksi CCl<sub>4</sub>. Diharapkan dengan pemberian kurkumin dapat mengapoptosis HSC pada keadaan fibrosis hati sehingga dapat menurunkan kadar MMP-2 serum.

## METODE

### Kurkumin

Kurkumin diperoleh dari Sigma. Kurkumin diberikan secara oral melalui sonde dengan dosis 200 mg/kgBB setiap hari (20, 21), setelah diinjeksi CCl<sub>4</sub> sebanyak 1ml/kgBB 2x seminggu selama 9 minggu.

### Study Grup

Total keseluruhan sampel yang digunakan dalam penelitian sebanyak 32 ekor tikus *Rattus norvegicus strain wistar* berjenis kelamin jantan dengan usia 2-3 bulan, berat badan 280-300 gram, diperoleh dari laboratorium farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Masing-masing dibagi menjadi 8 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (K-Negatif) adalah tikus yang diinjeksi dengan NaCl 0,9%, kelompok kontrol positif (K-Positif) tikus diinjeksi dengan karbon tetraklorida (CCl<sub>4</sub>), kelompok perlakuan 2 (KP-2) yaitu tikus diberikan injeksi CCl<sub>4</sub> dan diberi kurkumin 200 mg/kg BB selama 2 minggu secara oral, kelompok kontrol 2 (KK-2) yaitu tikus diberikan injeksi CCl<sub>4</sub> dan diberikan CMC 1% selama 2 minggu, kelompok perlakuan 5 (KP-5) yaitu tikus diberikan injeksi CCl<sub>4</sub> dan diberikan kurkumin 200 mg/kg BB selama 5

minggu secara oral, kelompok kontrol 5 (KK-5) yaitu tikus diberikan injeksi CCl<sub>4</sub> dan diberikan CMC 1% selama 5 minggu, Kelompok perlakuan 9 (KP-9) yaitu tikus diberikan injeksi CCl<sub>4</sub> dan diberikan kurkumin selama 9 minggu, kelompok kontrol 9 (KK-9) yaitu tikus diberikan injeksi CCl<sub>4</sub> dan diberikan CMC 1% selama 9 minggu. Induksi CCl<sub>4</sub> sebanyak 2 kali seminggu selama 9 minggu secara intraperitoneal untuk menghasilkan fibrosis hati derajat 3 (F3).

### Pengukuran Kadar MMP-2 Serum

Pengukuran kadar MMP-2 serum dilakukan dengan menggunakan Rat MMP-2 Platinum ELISA BMS635/BMS635TEN kit dengan prosedur sesuai dengan ketentuan *reagent* dan penggunaan dari eBioscience dengan hasil akhir menggunakan satuan pg/ml. Pembacaan hasil menggunakan ELISA *reader*.

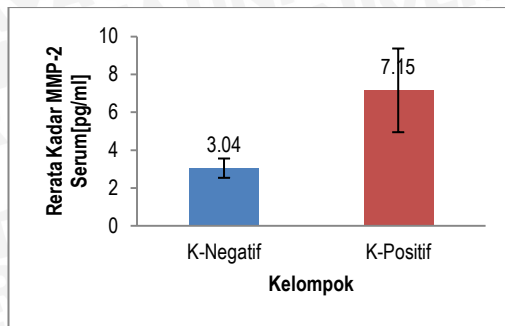
### Analisis Statistik

Uji hipotesis komparatif digunakan untuk mengetahui pengaruh dari pemberian kurkumin terhadap kadar MMP-2 serum pada tikus model fibrosis akibat induksi CCl<sub>4</sub> pada kelompok kontrol negatif dan kontrol positif. Uji One-way (ANOVA) digunakan untuk mengetahui pengaruh dari pemberian kurkumin terhadap kadar MMP-2 serum pada tikus model fibrosis akibat induksi CCl<sub>4</sub> pada beberapa kelompok data. Analisis dilanjutkan dengan menggunakan Uji Post Hoc Tukey HSD untuk mendeteksi perbedaan parameter pada setiap kelompok. Analisis statistik menggunakan software SPSS 15 untuk Windows 7.

### HASIL

Hasil uji statistik, data berdistribusi normal pada kelompok K-Negatif dan K-Positif dan varians data homogen ( $p=0,150$ ). Uji T tidak berpasangan menunjukkan adanya perbedaan kadar MMP-2 serum yang

bermakna ( $p=0,02$ ). Analisis rerata kadar MMP-2 serum disajikan pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Grafik rerata kadar MMP-2 serum kelompok K-Negatif dan K-Positif

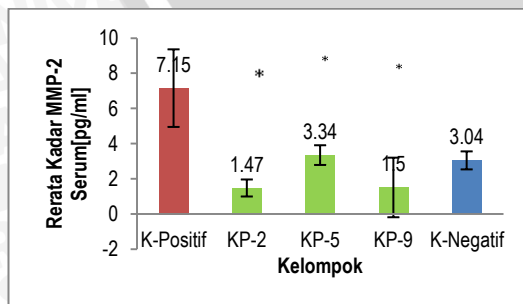
Keterangan:

K-Neg : kelompok negatif, tikus hanya diberi injeksi NaCl 1 cc 2x/minggu selama 9 minggu.

K-Pos : kelompok positif, tikus diberi injeksi CCl<sub>4</sub> 1 cc 2x/minggu selama 9 minggu.

Berdasarkan gambar 1 menunjukkan adanya peningkatan rerata kadar MMP-2 serum pada kelompok kontrol positif (7.15 pg/ml) karena paparan CCl<sub>4</sub> lebih besar dibandingkan dengan kontrol negatif (3.04 pg/ml). Nilai K-Negatif ini dianggap sebagai nilai normal kadar MMP-2 serum pada hewan coba terhadap kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Hasil uji statistik, data berdistribusi normal pada kelompok K-Negatif, K-Positif, KP-2, KP-5, dan KP-9 dan varians data homogen ( $p=0,115$ ). Uji One way (ANOVA) menunjukkan adanya perbedaan kadar MMP-2 serum yang bermakna ( $p=0,000$ ). Analisis rerata kadar MMP-2 serum disajikan pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Grafik rerata kadar MMP-2 serum kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan dan kontrol positif.

(\*) nilai signifikansi  $p<0,05$

Keterangan:

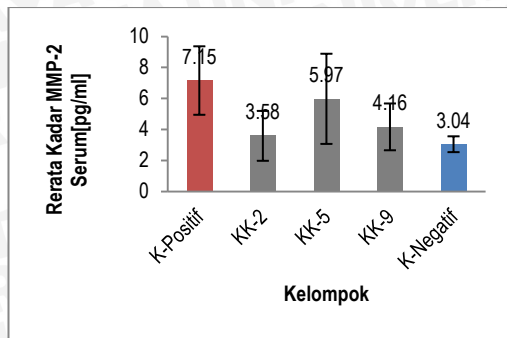
- K-Neg : kelompok negatif, tikus hanya diberi injeksi NaCl 1 cc 2x/minggu selama 9 minggu.
- K-Pos : kelompok positif, tikus diberi injeksi CCl<sub>4</sub> 1 cc 2x/minggu selama 9 minggu.
- KP-2 : kelompok perlakuan 2 minggu, tikus diberi injeksi CCl<sub>4</sub> seperti pada kelompok K-Pos dan diberi paparan kurkumin 200 mg/kg BB selama 2 minggu.
- KP-5 : kelompok perlakuan 5 minggu, tikus diberi injeksi CCl<sub>4</sub> seperti pada kelompok K-Pos dan diberi paparan kurkumin 200 mg/kg BB selama 5 minggu.
- KP-9 : kelompok perlakuan 9 minggu, tikus diberi injeksi CCl<sub>4</sub> seperti pada kelompok K-Pos dan diberi paparan kurkumin 200 mg/kg BB selama 9 minggu.

Berdasarkan gambar 2 terlihat bahwa terdapat penurunan kadar MMP-2 serum antara K-Positif dengan kelompok perlakuan yang mendapatkan paparan kurkumin 1 cc secara oral. Dapat terlihat bahwa terdapat penurunan rerata kadar MMP-2 serum terlihat pada kelompok KP-2 (1.47 pg/ml), KP-5 (3.34 pg/mL), KP-9 (1.5 pg/mL) mendekati nilai normal pada K-Negatif.

Hasil uji HSD kadar MMP-2 serum, menunjukkan ada perbedaan kadar MMP-2 serum yang bermakna antara kelompok kontrol positif dengan kontrol negatif, nilai  $p=0,008$ . Perbedaan yang bermakna, juga terlihat antara kelompok kontrol positif dengan kelompok KP-2 nilai  $p=0,000$ ; KP-5 nilai  $p=0,013$ ; dan KP-9 nilai  $p=0,000$ . Sebaliknya antara kelompok kontrol negatif dengan KP-2 ( $p=0,544$ ), KP-5 ( $p=0,998$ ), KP-9 ( $p=0,562$ ) tidak ada perbedaan bermakna ( $p>0,05$ ).

Hasil uji statistik, data berdistribusi normal pada kelompok K-Negatif, K-Positif, KP-2, KP-5, KP-9 dan varians data homogen ( $p=0,286$ ). Uji One way (ANOVA) menunjukkan tidak adanya perbedaan kadar MMP-2 serum yang bermakna ( $p=0,056$ ).

Analisis rerata kadar MMP-2 serum disajikan pada Gambar 3.



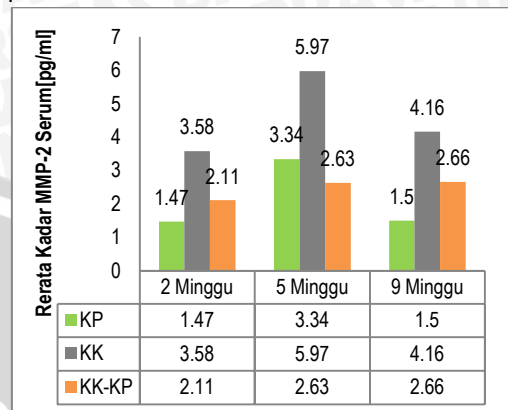
**Gambar 3.** Grafik rerata kadar MMP-2 serum antara kontrol positif, kelompok kontrol, dan kontrol negative  
Keterangan:

- K-Neg : kelompok negatif, tikus hanya diberi injeksi NaCl 1 cc 2x/minggu selama 9 minggu.
- K-Pos : kelompok positif, tikus diberi injeksi CCl<sub>4</sub> 1 cc 2x/minggu selama 9 minggu.
- KK-2 : kelompok kontrol 2 minggu, tikus diberi injeksi CCl<sub>4</sub> seperti pada K-Pos dan diberi pelarut kurkumin selama 2 minggu.
- KK-5 : kelompok kontrol 5 minggu, tikus diberi injeksi CCl<sub>4</sub> seperti pada K-Pos dan diberi pelarut kurkumin selama 5 minggu.
- KK-9 : kelompok kontrol 2 minggu, tikus diberi injeksi CCl<sub>4</sub> seperti pada K-Pos dan diberi pelarut kurkumin selama 9 minggu.

Berdasarkan gambar 3 didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kadar MMP-2 serum pada kelompok kontrol (KK-2, KK-5, dan KK-9) yang diberikan pelarut kurkumin yaitu CMC secara oral 1 cc dengan kontrol positif yang diinduksi dengan CCl<sub>4</sub> dan kontrol negatif yang diinduksi dengan NaCl 0.9%. Grafik rerata kadar MMP-2 serum pada kelompok berada pada *range* yang tidak terlalu jauh. Kontrol positif dengan kadar 7.15 pg/ml, KK-2 kadar 3.58 pg/ml, KK-5 kadar 5.97 pg/ml, KK-9 kadar 4.16 pg/ml dan K-negatif kadar 3.04 pg/ml.

Hasil uji statistik, data berdistribusi normal pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol, varians data homogen ( $p=0,100$ ). Uji One way (ANOVA) menunjukkan adanya perbedaan kadar MMP-2 serum yang bermakna ( $p=0,011$ ).

Analisis rerata kadar MMP-2 serum disajikan pada Gambar 4.



**Gambar 4.** Grafik selisih kadar MMP-2 serum pada kelompok kontrol (KK) dengan kelompok perlakuan (KP)

Berdasarkan gambar 5.5 dijelaskan tentang selisih rerata kadar MMP-2 serum antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada 2, 5, dan 9 minggu. Dapat dilihat bahwa terdapat selisih kadar MMP-2 serum pada kelompok yang diberikan kurkumin dan pada kelompok yang tidak diberikan kurkumin.

## DISKUSI

Pengukuran terhadap kadar MMP-2 serum menunjukkan bahwa rerata kadar MMP-2 serum pada kelompok kontrol positif berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif, dimana rerata kadar MMP-2 serum pada kelompok kontrol positif lebih tinggi. Hal ini didukung oleh teori bahwa karbon tetraklorida (CCl<sub>4</sub>) merupakan salah satu zat yang hepatotoksik yang dapat tertimbun dalam lemak tubuh, hepar dan sumsum tulang belakang. CCl<sub>4</sub> dapat menyebabkan kerusakan hepar melalui mekanisme reaksi stress oksidatif dan mekanisme biokimia (17) yang artinya akan terus terjadi kerusakan di hepatosit sehingga menimbulkan inflamasi kronis yang akan mengarah pada fibrogenesis hati. Pada keadaan ini sel hepar akan mengeluarkan mediator-mediator inflamasi yang akan mengaktifasi *Hepatic Stellate Cell* (HSC) menjadi fenotip

miofibroblast, yang akan mengekspresikan matriks ekstraseluler seperti kolagen (Tipe I, III, dan IV), proteoglikan dan glikoprotein sehingga terjadi penimbunan matriks ekstraseluler di ruang Disse (18). Sel HSC yang telah teraktivasi akan mengalami peningkatan secara terus-menerus, peningkatan aktivasi sel HSC ini mengekspresi MMP-2 secara berlebih (19). Terjadinya fibrosis hati dipengaruhi oleh peningkatan aktivasi HSC dan matriks ekstraseluler (20). Selain itu MMP-2 terlibat selama proliferasi HSC. Peningkatan kadar MMP-2 ini akan masuk kedalam sirkulasi vena porta sehingga menyebabkan kadar MMP-2 serum meningkat (21). MMP-2 serum tidak hanya disekresikan oleh HSC tetapi dalam sirkulasi sistemik juga disekresikan oleh sel makrofag, sel monosit, sel dendritik, sel limfosit, neutrofil, sel *epithelial*, sel *endothelial* dari mesensimal, dan sel-sel otot polos dalam keadaan *injury* (22) yang kemudian akan masuk dalam sirkulasi darah. Peningkatan kadar MMP-2 didukung pada penelitian *in vitro* yang telah menunjukkan karena aktivasi HSC yang telah diinduksi oleh  $CCl_4$  dan penurunan MMP-2 karena ada hambatan dalam aktivasi HSC (23). Hal tersebut berarti bahwa ketika ada paparan  $CCl_4$  dapat mengaktivasi HSC dan MMP-2 akan dilepaskan secara berlebih sehingga jumlahnya akan berlebih. Pada penelitian ini, kadar MMP-2 serum dideteksi melalui pemeriksaan ELISA untuk menggambarkan kadar MMP-2 serum dari setiap perlakuan, serta membandingkan dengan berbagai derajat fibrosis hati yang terjadi pada setiap perlakuannya.

Hasil penelitian pada kelompok yang dilakukan pemberian kurkumin dengan dosis 200 mg/kgBB yang dilarutkan dengan CMC diberikan secara oral 1 cc pada tikus kelompok perlakuan (KP) pada setiap hari yaitu dengan lama pemberian 2 minggu, 5 minggu, dan 9 minggu pada uji *post hoc test* menunjukkan adanya progresifitas

penurunan kadar MMP-2 serum secara signifikan. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa kurkumin dapat mencegah fibrogenesis hati akibat paparan karbon tetraklorida ( $CCl_4$ ) karena adanya pelemahan stress oksidatif dan menekan inflamasi pada tikus dengan mengekspresikan sitokin-sitokin pro inflamasi yang dapat menghambat aktivasi HSC secara *in vitro* (24). Hasil pengukuran ini sebanding dengan derajat fibrosis pada kelompok perlakuan setelah pemberian kurkumin, KP-2 yaitu 2 sampel dengan derajat fibrosis F2 dan 2 sampel dengan derajat fibrosis F1, pada KP-5 yaitu 3 sampel dengan derajat fibrosis F2 dan 1 sampel dengan derajat fibrosis F3, sedangkan pada KP-9 yaitu 2 sampel dengan derajat fibrosis F0 dan 2 sampel F1. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin rendah kadar MMP-2 serum, semakin rendah derajat kerusakan hati. Hasil penelitian ini sesuai dengan dengan teori bahwa selama fibrogenesis hati ketika diinduksi dengan  $CCl_4$  akan menstimulasi *quite* HSC menjadi *activated* HSC, transformasi ini berhubungan dengan proliferasi dan produksi matriks ekstraseluler yang berlebihan. Penghambatan proliferasi sel dan induksi apoptosis merupakan strategi potensial untuk memblokir aktivasi HSC yang berlebih untuk mencegah fibrosis hati dan pengobatan fibrosis hati (25). Teori lain menyebutkan bahwa MMP merupakan mediator kunci dari regenerasi hati. Karena MMP mempunyai efek langsung pada perbaikan matriks ekstraseluler yang merupakan bagian integral regenerasi jaringan. MMP mempromosikan angiogenesis dengan memfasilitasi migrasi endotel melalui matriks ekstraseluler terdegradasi. Selain itu MMP melepaskan faktor pertumbuhan pro-endotel dari matriks ekstraseluler (26).

Pada penelitian Schizhong Zheng 2004 menunjukkan bahwa kurkumin dapat

menghambat aktivasi HSC secara *in vitro*, mengurangi proliferasi sel, menginduksi apoptosis dan menghambat ekspresi matriks ekstraseluler yang berlebihan. Kurkumin merupakan antioksidan kuat, yang mampu menghambat peroksidasi lemak (27). Kurkumin sebagai suplemen diet juga untuk pencegahan kanker (28) dan perlindungan hati (29). Penelitian lebih lanjut menunjukkan bahwa kurkumin menginduksi ekspresi gen PPAR $\gamma$  dan menstimulasi apoptosis HSC *activated* secara *in vitro*. Aktivasi PPAR $\gamma$  memiliki efek pada fisiologis dan patofisiologis yang beragam, termasuk stimulasi diferensiasi adiposit, aktivasi insulin, pengaturan metabolise lemak, penghambatan proliferasi sel dan induksi apoptosis (30-32). Penelitian terbaru telah menunjukkan bahwa PPAR $\gamma$  ada dalam hati yang normal, namun tingkat PPAR $\gamma$  dan aktivasinya berkurang selama aktivasi HSC secara *in vitro* dan *in vivo* (33). Stimulasi aktivasi PPAR $\gamma$  dapat menghambat proliferasi HSC dan ekspresi kolagen  $\alpha$ 1 (34). Aktivasi PPAR $\gamma$  oleh kurkumin adalah langkah yang diperlukan, dan memberikan kontribusi terhadap induksi apoptois HSC dengan aktivasi merangsang caspase 3, meningkatkan pro apoptosis Bax dan mengurangi tingkat anti-apoptosis Bcl-2 di *activated* HSC secara *in vitro*. Selain itu aktivasi PPAR $\gamma$  oleh kurkumin juga mampu untuk menghambat ekspresi matriks ekstraseluler. Aktivasi PPAR $\gamma$  dimediasi oleh blokade TGF- $\beta$  dengan menekan reseptor TGF- $\beta$  (25). Penelitian yang lain menyebutkan bahwa mekanisme apoptosis HSC dapat melalui penghambatan NF-kB, NF-kB merupakan faktor yang dapat menstimulasi *activated* HSC (35). Sehingga dengan apoptosis *activated* HSC dengan berbagai mekanisme mampu menurunkan kadar MMP-2 serum.

Hasil penelitian pada kelompok K-positif (diinduksi dengan CCl<sub>4</sub>) dengan kelompok kontrol KK-2, KK-5, dan KK-9

(kelompok yang diinduksi dengan CCl<sub>4</sub> dan diberikan plasebo yaitu CMC) menunjukkan tidak ada beda secara bermakna. Hal tersebut mengartikan bahwa kadar MMP-2 serum pada kelompok kontrol sama dengan k-positif yang berarti tidak ada efek atau reaksi terhadap penurunan kadar MMP-2 serum. Pada kelompok kontrol yang hanya diberikan plasebo pelarut kurkumin yaitu CMC menunjukkan adanya penurunan kadar MMP-2 serum dibandingkan dengan kontrol positif. Hal ini dikarenakan CMC bersifat stabil terhadap lemak, tidak larut dalam pelarut organik dan bersifat sebagai pengikat. Pada penelitian Eka Pramytha pada tahun 2010 pemberian CMC pada tikus normal selama 30 hari tidak memberikan efek degenerasi dan kongesti pada penampang hati secara histologi. Hal tersebut mengartikan bahwa penurunan kadar MMP-2 serum pada kelompok kontrol dibandingkan dengan kontrol positif dikarenakan oleh resolusi spontan setelah induksi CCl<sub>4</sub> dihentikan sehingga masih diperlukan peneitian lebih lanjut. Perbaikan derajat fibrosis pada KK-9 terkait dengan resolusi spontan fibrosis hati dimana setelah induksi CCl<sub>4</sub> dihentikan tidak ada transformasi *quiete* HSC ke *activated* HSC dan akan terjadi peningkatan aktivitas kolagenolitik yang merupakan mekanisme utama dari resolusi fibrosis. Kolagen fibrilar (I dan III) diturunkan oleh MMP. Selama resolusi spontan fibrosis, aktivas MMP meningkat sehingga pada hasil penelitian ini kadar MMP-2 serum pada KK-9 meningkat, hal tersebut sehubungan dengan penurunan cepat ekspresi TIMP-1. Terjadi degradasi parsial kolagen fibrilar, sementara itu, perubahan interaksi antara HSC aktif dan matriks ekstraseluler akan menimbulkan apoptosis. Pembuangan HSC aktif dengan cara apoptosis mendahului resolusi fibrosis (36-38).

Dengan demikian, paparan kurkumin pada kelompok perlakuan KP-2, KP-5 dan

KP-9 dapat menurunkan kadar MMP-2 serum secara signifikan melalui apoptosis HSC aktif dan sebanding dengan penurunan derajat fibrosis hati. Tetapi kelompok perlakuan yang paling efektif adalah KP-9 sebanding dengan rendahnya derajat fibrosis yang mendekati nilai normal.

### KESIMPULAN

Penelitian pemberian kurkumin 200 mg/kgBB pada tikus model fibrosis hati akibat induksi CCl<sub>4</sub> menunjukkan bahwa kurkumin dapat menurunkan kadar MMP-2 serum pada kelompok perlakuan KP-2, KP-5, dan KP-9.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Valle V. Sanchez, Tapia N. C. Chavez, Uribe M., dan Sanchez N. Mendez. Role of oxidative stress and molecular changes in liver fibrosis : a review. *Current Medicinal Chemistry*, 2012, 19 (28): 4850–4860.
2. Wallace K, Burt AD, Wirght M C. Liver fibrosis. *Biochemical Journal*, 2008, 411: 1-8.
3. Ramon B, Daud AB. Liver fibrosis. *The Journal of Clinical Investigation*, 2005, 115: 209-18.
4. Friedman SL, Rockey DC, Bissell DM. Hepatic fibrosis 2006: report of the third AASLD single topic conference. *Hepatology*, 2007, 45: 242-9.
5. Frank Grunhage, Frank Iammert. Assessment of hepatic fibrosis in chronic viral hepatitis. In: Mauss, Berg, Rockstroh, Sarrazin, Wedemeyer, editors. *Hepatology: a clinical textbook. Philadelpia: Churcill Livingstone*, 2009, 307-18.
6. Lim Young-Suk dan Kim W. R.. The Global Impact of Hepatic Fibrosis and End Stage Liver Disease. *Clin Liver Dis*, 2008, 12(4): 733-746.
7. Enomoto, M. *et al.* Noninvasive assessment of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B. *World Journal of Gastroenterology*, 2014, 34: 12031-12038.
8. Yi H.-S. dan Jeong W.-I.. Interaction of hepatic stellate cells with diverse types of immune cells: foe or friend?. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2013, 28(1): 99–104.
9. Arthur MJ, Stanley A, Iredale JP, Rafferty JA, Hembry RM, Friedman SL. Secretion of 72 kDa type IV collagenase/gelatinase by cultured human lipocytes. Analysis of gene expression, protein synthesis and proteinase activity. *Biochem J*, 1992, 287:701-707.
10. Hu YB, Li DG dan Lu HM. Modified synthetic siRNA targeting tissue inhibitor of metalloproteinase-2 inhibits hepatic fibrogenesis in rats. *J Gene Med*, 2007, 9: 217–229.
11. Mormone E, George J dan Nieto N. Molecular pathogenesis of hepatic fibrosis and current therapeutic approaches. *Chem Biol Interact*, 2011, 193: 225–231.
12. Radbill BD, Gupta R, Ramirez MC, *et al.* Loss of matrix metalloproteinase-2 amplifies murine toxin-induced liver fibrosis by upregulating collagen I expression. *Dig Dis Sci*, 2011, 56: 406–416.
13. Alrawaiq, N. S. & Abdullah, A. A Review of Antioxidant Polyphenol Curcumin and its Role in Detoxification. *International Journal of PharmTech Research*, 2014, 6 (1): 280-89.
14. Irving, G. R. B., Karmokar, A., Berry, D. P., Brown, K. & Steward,



- W. P. Curcumin: The potential for efficacy in gastrointestinal diseases. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 25, 2011, 519-34.
15. Gupta S, Kesarla R, Omri A. Formulation strategies to improve the bioavailability of poorly absorbed drugs with special emphasis on self-emulsifying systems. *ISRN Pharmaceuticals*, 2013.
  16. Friedman SL. Mechanisms of disease: mechanisms of hepatic fibrosis and therapeutic implications. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatology*, 2004, 1: 98-105.
  17. Monika, B. Propolis prevents hepatorenal injury induced by chronic exposure to carbontetrachloride. *Hindawi publishing corporation. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 12.
  18. Meng F., Wang K., Aoyama T., Grivennikov S. I., Paik Y., Scholten D., et al.. Interleukin-17 signaling in inflammatory, Kupffer cells, and hepatic stellate cells exacerbates liver fibrosis in mice. *Gastroenterology*, 2012, 143: 765-776.
  19. Friedman SL, Rockey DC, Bissell DM. Hepatic fibrosis 2006: report of the third AASLD single topic conference. *Hepatology*, 2007, 45: 242-9.
  20. Rockey DC. The cell and molecular biology of hepatic fibrogenesis. Clinical and therapeutic implication. *Clin Liver Dis*, 2000, 4: 319-355.
  21. Vaillant Brian, Chiaramonte G. Monica, Cheever W.Allen, Soloway D Paul, Wynn A Thomas. *Regulation of Hepatic Fibrosis and Extracellular Matrix Genes by the Th Response : New Insight into the Role of THE Tissue Inhibitors of Matrix Metalloproteinases. J Immunol*, 2001.
  22. Liabakk NB, Talbot I, Smith RA, Wilkinson K, Balkwill F. Matrix metalloprotease 2 (MMP-2) and matrix metalloprotease 9 (MMP-9) type IV collagenases in colorectal cancer. *Cancer Res*, 1996, 56: 190-196.
  23. Benyon RC, Hovell CJ, Da Gaça M, Jones EH, Iredale JP, Arthur MJ. Progelatinase A is produced and activated by rat hepatic stellate cells and promotes their proliferation. *Hepatology*. 1999; 30: 977-986.
  24. Zhang Feng, Zhang Zili, Chen Li, Kong Desong, Zhang Xiaoping, et al., Curcumin attenuates angiogenesis in liver fibrosis and inhibits angiogenic properties of hepatic stellate cells. *J Cell Mol Med*, 2014, 18(7): 1392-1406.
  25. Zheng Shizhong, Chen Anping,. Activation of PPAR $\gamma$  is required for curcumin to induce apoptosis and to inhibit the expression of extracellular matrix genes in hepatic stellate cells *in vitro*. *Biochemical Journal*, 2004, 384 (1): 149-157.
  26. Rundhaug JE. Matrix metalloproteinases, angiogenesis, and cancer: commentary re: AC Lockhart et al., Reduction of wound angiogenesis in patients treated with BMS-275291, a broad spectrum matrix metalloproteinase inhibitor. *Clin. Cancer Res*, 2003, 9: 551-554.
  27. Sreejayan R. M. N. Curcuminoids as potent inhibitors of lipid peroxidation. *J. Pharm. Pharmacol*, 1994, 46: 1013-1016.

28. Ruby A. J., Kuttan G., Babu K. D., Rajasekharan K. N., Kuttan R. Anti-tumour and antioxidant activity of natural curcuminoids. *Cancer Lett*, 1995, 94: 79–83.
29. Chuang S. E., Cheng A. L., Lin J. K., Kuo M. L. Inhibition by curcumin of diethylnitrosamine-induced hepatic hyperplasia, inflammation, cellular gene products and cell-cycle-related proteins in rats. *Food Chem. Toxicol*, 2000, 38: 991–995.
30. Houseknecht K. L., Cole B. M., Steele P. J. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) and its ligands: a review. *Domest. Anim. Endocrinol*, 2002, 22: 1–23.
31. Takashima T., Fujiwara Y., Higuchi K., Arakawa T., Yano Y., Hasuma T., Otani S. PPAR-gamma ligands inhibit growth of human esophageal adenocarcinoma cells through induction of apoptosis, cell cycle arrest and reduction of ornithine decarboxylase activity. *Int. J. Oncol*, 2001, 19: 465–471.
32. Tontonoz P., Singer S., Forman B. M., Sarraf P., Fletcher J. A., Fletcher C. D., Brun R. P., Mueller E., Altiock S., Oppenheim H., *et al.* Terminal differentiation of human liposarcoma cells induced by ligands for peroxisome proliferator-activated receptor gamma and the retinoid X receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1997, 94: 237–241
33. Galli A., Crabb D., Price D., Ceni E., Salzano R., Surrenti C., Casini A. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma transcriptional regulation is involved in platelet-derived growth factor-induced proliferation of human hepatic stellate cells. *Hepatology*, 2000, 31: 101–108
34. Miyahara T, Schrum L, Rippe R, Xiong S, Yee HF Jr, Motomura K, *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptors and hepatic stellate cell activation. *J Biol Chem*, 2000, 275: 35715–22.
35. F. Oakley, M. Meso, J. P. Iredale *et al.*, Inhibition of inhibitor of kb kinases stimulates hepatic stellate cell apoptosis and accelerated recovery from rat liver fibrosis. *Gastroenterology*, 2005, 128 (1): 108–120.
36. Bataller R, Brenner DA. Pathogenesis of hepatic fibrosis. In: Yamada T, editor. *Textbook of Gastroenterology. Singapore: Blackwell Publishing*, 2009.
37. Leija A, Reyes J, Rodriquez L. Hepatic stellate cells are a major component of liver fibrosis and a target for the treatment of chronic liver disease. *Biotechnologia Aplicada*, 2007, 24: 19-25.
38. Iredale JP. Models of liver fibrosis: exploring the dynamic nature of inflammation and repair in a solid organ. *J Clin Invest*, 2007, 117: 539-548.