

BAB VI

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek paparan profilin *T.gondii* terhadap kadar adiponektin pada tikus. Metode yang dipilih adalah bersifat eksperimental dengan cara menyuntikkan profilin *T.gondii* dengan dosis yang berbeda pada setiap kelompok perlakuan. Tikus dikelompokkan menjadi tujuh kelompok perlakuan yang dibagi berdasarkan pemberian diet standar atau hiperkalori dan paparan dosis profilin. Kadar adiponektin diukur secara kuantitatif dengan metode ELISA sehingga dapat diketahui pengaruh paparan profilin *T. gondii* terhadap kadar adiponektin

Tikus *Rattus norvegicus* strain Wistar sebanyak 35 ekor dipelihara di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya selama 14 minggu. Sebelum diberikan perlakuan, tikus diadaptasikan selama 2 minggu. Masa adaptasi pada tikus berguna untuk memilih tikus yang masuk pada kriteria inklusi dan mengeksklusi tikus yang tidak masuk dalam kriteria inklusi. Kemudian profilin *T.gondii* pertama kali disuntikkan pada tanggal 30 Maret 2017. Lalu penyuntikkan profilin untuk kedua kali dilakukan pada tanggal 20 juni 2017. Kemudian setelah 14 minggu, dilakukan pembedahan pada tikus. Dipilih dosis profiling 15 µg, 30 µg, dan 45 µg berdasar penelitian sebelumnya yang dilakukan pada kultur sel lemak.

Profilin *T.gondii* yang digunakan merupakan ekstrak dari takizoid *T.gondii* dengan strain tertentu yang RNA profilinnya dipecah dan diligasi kedalam vector Pet30a(+) serta diubah menjadi *E.coli* DH5alpha yang diambil plasmidnya

diperbanyak. Proses diatas dilakukan di Amerika dan hasil profilin rekombinannya diimpor ke Indonesia. Molekul profilin merupakan komponen membran dari *T. gondii* yang berhubungan dengan infeksi pada sel hospes melalui aktivasi TLR 11. Protozoa apocomplexan seperti *T.gondii* menginvasi sel host dengan menggunakan gerakan *gliding* yang bergantung pada aktin. TLR 11 menghasilkan respon imun *inate* dengan berikatan pada TgPRF. (Kucera *et al.*, 2010).

Struktur TgPRF terdiri atas *acidic loop* dan *long β -hairpin*. Pengenalan TLR 11 oleh *acidic loop* bertanggung jawab terhadap sekresi dari IL-12 untuk merespon terhadap TgPRF di makrofag peritoneal. Memasukkan *acidic loop* dan *β -hairpin* dari *T. gondii* pada profilin yeast ternyata menghasilkan sinyal TLR 11 yang lemah. Substitusi *acidic loop* di TgPRF dengan lup homogen dari parasit *Cryptosporidium parvum* tidak mempengaruhi sekresi IL-12 yang tergantung TLR 11. Disimpulkan bahwa parasit dengan motif spesifik di TgPRF adalah kunci molekular dari pengenalan terhadap TLR-11. (Kucera *et al.*, 2010) .

Massa jaringan adipose meningkat ketika terjadi hipertrofi adiposit. Pemberian diet hiperkalori bisa menyebabkan hipertrofi adiposit dan berhubungan dengan penurunan kadar adiponektin dan kenaikan produksi IL-6 dan TNF α . Penelitian yang dilakukan pada populasi di Asia Selatan terjadi pembesaran adiposit yang menyebabkan ketidakseimbangan antara adipokin pro inflamasi dan anti inflamasi. Sekresi dari sitokin proinflamasi IL6, IL8, MCP 1, DAN GM-CSF telah mempunyai korelasi berbanding lurus dengan ukuran adiposit. IL-6 adalah sitokin inflamasi mayor yang disekresi dari leukosit, adiposit, otot skeletal, dan sel endotel. Studi *in vitro* menunjukkan bahwa pengobatan IL-6 menurunkan mRNA adiponektin

Comment [i-1]: Kalau bukan di asia selatan bagaimana?

yang diduga mempunyai peran negatif IL-6 terhadap regulasi adiponektin. (Upadhyaya *et al.*, 2014).

Adiponektin adalah protein yang diproduksi oleh *white adipose tissue* (WAT). Adiponektin adalah salah satu member dari grup adipositokin. Penurunan kadar adiponektin telah dilakukan pada sebelumnya pada tikus model obese. Adiponektin sebagai salah satu adipositokin yang menghambat inflamasi dengan kata lain adiponektin sebagai penanda anti inflamasi. (John *et al.*, 2013).

Dari gambar 5.2 dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan berat badan pada tikus baik pada kelompok yang dipaparkan profilin dan diberi diet normal maupun pada kelompok yang dipaparkan profilin dan diberi diet hiperkalori.dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada uji ANOVA untuk melihat perbedaan berat badan antara kelompok yang dipaparkan profilin dan diberi diet normal maupun pada kelompok yang dipaparkan profilin dan diberi diet hiperkalori menunjukkan hasil yang tidak signifikan dengan nilai signifikansi sebesar.($p= 0,279$)

Adanya bukti-bukti yang memperkuat bahwa saat terjadi infeksi oleh *T.gondii* maka akan membuat hospes menjadi kelebihan berat badan. Menurut Reeves *et al* tahun 2013, hal ini dipengaruhi oleh kenaikan perilaku makan melalui jalur yaitu kista *T. gondii* di otak mempunyai distribusi yang besar di amigdala dan nukleus akumbens dan meningkatkan dopamin sehingga dapat terjadi obesitas. Selain itu, parasit juga menginterfensi metabolisme lipid hospes dengan meningkatkan kolesterol melalui endositosis sel host dan jalur LDL.

Selanjutnya, toksoplasmosis berhubungan dengan obesitas dengan mempengaruhi distribusi lemak yang inflamasi di jaringan lemak. Selanjutnya

Comment [i-[2]: Konsisten, kalau bhs Indonesia, tulis toksoplasmosis ya dengan tnya huruf kecil.. cek lagi di naskah ini keseluruhan

lipoprotein lipase diketahui meregulasi *clearance* dan distribusi dari trigliserida plasma. Dengan memodulasi adipose dan aktivitas lipoprotein lipase otot pada toksoplasmosis, infeksi menginduksi hipertrigliserida. (Oz, 2014).

Pada uji ANOVA untuk melihat perbedaan berat badan antara kelompok yang dipaparkan profilin dan diberi diet normal maupun pada kelompok yang dipaparkan profilin dan diberi diet hiperkalori menunjukkan hasil yang tidak signifikan dengan nilai signifikansi sebesar 0,094 ($p= 0,094$).

R square pada uji regresi linier untuk melihat besarnya pengaruh paparan profilin dan pemberian diet normal pada tikus terhadap kadar adiponektin menunjukkan pengaruh sebesar 15,4%. Bisa dikatakan pemberian dosis profilin tidak memiliki pengaruh yang signifikan pada kadar adiponektin. *R square* pada uji regresi linier untuk melihat besarnya pengaruh paparan profilin dan pemberian diet hiperkalori pada kadar adiponektin menunjukkan nilai sebesar 44,1%. Hal ini berarti pemberian diet hiperkalori mempunyai pengaruh yang kuat dalam menaikkan kadar adiponektin. Dibandingkan dengan paparan dosis profilin, pemberian diet hiperkalori lebih berpengaruh terhadap kadar adiponektin.

Dari tabel 5.1 dapat dilihat bahwa kelompok tikus yang diberi diet hiperkalori dan dosis profilin 15 μg memiliki kadar adiponektin sebesar 8,25 mg/ml yang menurun bila dibanding kelompok kontrol dengan kadar adiponektin sebesar 8,86. Hal ini berbeda dengan kelompok yang diberi diet hiperkalori dan dosis profilin 30 μg dan 45 μg memiliki kadar adiponektin yang meningkat dibanding dengan kontrol. Hal ini diduga terjadi karena perbedaan dosis profilin yang disuntikkan. Dosis profilin 15 μg bisa jadi merupakan dosis yang optimal dalam menurunkan kadar adiponektin.

Dari tabel 5.1 dapat dilihat bahwa kelompok tikus yang diberi diet hiperkalori dan dosis profilin 15 µg, 30 µg, dan 45 µg memiliki kadar adiponektin yang meningkat dibanding dengan kontrol. Hal ini bertentangan dengan teori yang telah dipaparkan diatas. Seharusnya apabila tikus yang diberi diet hiperkalori mempunyai kadar adiponektin yang menurun. Hal ini bertentangan dengan penelitian menurut Sargowo *et al* bahwa seharusnya adiponektin sebagai salah satu adipositokin anti inflamasi menurun saat terjadi infeksi oleh parasit. Hal ini diduga ada kaitannya dengan PPAR gamma.

Comment [i-3]: Saya kirim jurnalnya ya

Telah ditunjukkan bahwa PPAR mampu mengembalikan infiltrasi makrofag dan menu b`runkan ekspresi gen inflamatori. Marker inflamatori dari ekspresi adiposit yaitu A disintegrin and metallopeptidase domain-8 (ADAM8), *macrophage inflammatory protein-1α* (MIP-1α), macrophage antigen-1 (MAC-1), F4/80+, and CD68 mengalami *down regulation* oleh aktivasi PPARγ . Mekanisme lainnya adalah dengan mengintervensi jalur signal NF-κB, PPARγ menurunkan inflamasi dalam makrofag yang teraktivasi. PPAR juga bisa mempengaruhi ekspresi gen inflamasi melalui morfologi adiposit (Stienstra *et al.*, 2007).

Peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPARγ) adalah faktor transkripsi yang bergantung pada ligan dan anggota superfamili reseptor nukleus. Bertindak sebagai sensor hormon, vitamin, metabolit endogen dan senyawa xenobiotik, reseptor nukleus mengendalikan ekspresi sejumlah besar gen. PPARγ telah dikenal untuk beberapa waktu untuk mengatur diferensiasi adiposit, penyimpanan asam lemak dan metabolisme glukosa, dan merupakan target obat anti-diabetes. (Martin, 2010).

(PPAR)- γ diduga menjadi regulator utama diferensiasi pada adiposit dan gen adiposity multiple. Salah satu ligan sintesis aktivator dari PPAR adalah Troglitazone. Studi pada model hewan menunjukkan terjadi peningkatan kadar adiponektin. Terjadi aktivitas gen yang meningkat dengan pemberian TZD. Adiponektin mungkin bisa menjadi biomarker dari aktivasi PPAR γ in vivo. Kemudian ada pula studi pada tikus yang menunjukkan kenaikan adiponektin setelah pengobatan dengan TZD. Hasil ini bertentangan dengan bukti bahwa kadar adiponektin plasma dan berat badan memiliki hubungan yang negatif. Aktivasi dari PPAR gamma oleh TZD bisa menaikkan berat badan dengan meningkatkan diferensiasi adiposit juga memacu transkripsi gen adiponektin di sel adiposit matur kemudian meningkatkan kadar adiponektin. (Chandran *et.al.*, 2003).

Lebih lanjut, dengan memicu ekspresi adiponektin dalam adiposit, PPAR γ secara langsung berkontribusi untuk menekan inflamasi kronis yang dapat memicu obesitas. Di buat hipotesis bahwa aktivasi dari PPAR gamma bisa memicu diferensiasi adiposit sehingga terjadi penurunan status inflamasi pada jaringan adiposit selama obesitas. (Stienstra *et al.*, 2007).

Penelitian ini memiliki beberapa kekurangan antara lain belum bisa menentukan dosis optimal yang dapat menginduksi penurunan kadar adiponektin secara signifikan. Selain itu juga bisa dilakukan penelitian lanjutan untuk dapat membandingkan kadar adiponektin pada durasi pemeliharaan tikus fase akut dan kronis. Penelitian ini juga belum bisa membedakan faktor-faktor yang mempengaruhi kenaikan adiponektin pada tikus yang diberi diet standar dan diet hiperkalori.