

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Hubungan Kadar IL-17 Serum dengan Derajat Fibrosis Hati Tikus

Berdasarkan gambar 5.2, hasil rerata kadar IL-17 serum pada kelompok K-Negatif ($168,12 \pm 15,39$ pg/ml) dan K-Positif ($238,75 \pm 60,18$ pg/ml) mengalami perbedaan yang dimana rerata kadar IL-17 serum K-Positif lebih tinggi. Pada kelompok K-Negatif 3 tikus mengalami fibrosis hati F0 dan 1 tikus mengalami fibrosis hati F1. Sedangkan pada kelompok K-Positif 3 tikus mengalami fibrosis hati F3 dan 1 tikus mengalami fibrosis hati F2. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya dimana tikus yang diberi paparan CCl_4 selama 2 minggu untuk memperoleh kondisi fibrosis derajat 1 (F-1), 5 minggu untuk memperoleh kondisi fibrosis derajat 2 (F-2), dan 9 minggu untuk memperoleh kondisi fibrosis derajat 3 (F-3).

Pada kelompok K-Negatif yang diberikan injeksi NaCl 1cc 2x/minggu, terlihat kadar IL-17 serum yang rendah dengan modus derajat fibrosis hati yang rendah pula. Berbeda dengan kelompok K-Positif yang diberikan injeksi CCl_4 1cc 2x/minggu memiliki kadar IL-17 serum tinggi disertai juga dengan derajat fibrosis hati yang tinggi. Hal ini sesuai dengan pernyataan bahwa CCl_4 merupakan agen hepatotoksin poten pada hewan (ATSDR, 2005).

Melalui injuri akibat CCl_4 yang terjadi pada sel-sel hati tersebut, sistem imun dalam hati akan mengaktifasi berbagai sel adaptif imunitas tubuh, salah satunya sel limfosit T CD4^+ . Sel T CD4^+ naif ini akan berdiferensiasi akibat induksi dari IL-6, TGF-B, IL-21, dan IL-23 menjadi sel Th 17 (Lafdil *et al*, 2010). Sel Th 17 yang terbentuk akan mensekresikan IL17 yang akan memicu reaksi inflamasi (Mills, 2008). IL-17 sebagai agen pro-inflamator memicu reaksi

fibrogenesis secara langsung dan tidak langsung. Secara langsung melalui induksi sel Kupffer, yang nantinya akan mensekresikan berbagai sitokin proinflamator seperti IL-6, IL-1, TNF- α dan sitokin pro fibrogenik utama yaitu TGF- β 1. Secara tidak langsung IL-17 menstimulasi Hepatic Stellate cell (HSC) untuk mengekspresikan kolagen tipe 1 dan membantu aktivasi dari HSC menjadi fibrogenik myofibroblas melalui *Signal Transducer and Activator of Transcription-3* (STAT-3) dari IL-17 (Meng *et al.*, 2012). Reaksi inflamasi yang terus menerus akan menyebabkan pembentukan jaringan parut yang berujung pada fibrosis hati.

Pada kelompok perlakuan 2 minggu, KK-2 ($122,50 \pm 9,8$ pg/ml) dan KP-2 ($160,87 \pm 43,04$ pg/ml) juga menunjukkan perbedaan kadar IL-17 serum dengan derajat fibrosis yang berbeda. Pada KK-2 rerata kadar IL-17 serum lebih rendah dengan modus derajat fibrosis hati F2, sedangkan pada KP-2 rerata kadar IL-17 serum lebih tinggi dengan modus derajat fibrosis rata antara F2 dan F1. Penurunan drastis kadar IL-17 serum kedua kelompok pada perlakuan 2 minggu ini dapat disebabkan dampak dari proses negatif feedback.

Respon fase akut adalah reaksi sistemik pada organisme akibat gangguan lokal atau sistemik dalam proses homeostasis yang disebabkan oleh infeksi, cedera jaringan, trauma, pertumbuhan neoplastik atau gangguan imunologis. Dalam respon fase akut sitokin-sitokin pro-inflamasi disekresikan, dan sistem pembuluh darah serta sel-sel inflamasi akan diaktifkan. Respon ini kemudian akan meningkatkan produksi lebih sitokin dan mediator inflamasi lainnya yang menyebar ke kompartemen cairan ekstraseluler dan beredar dalam darah. Sitokin-sitokin pro-inflamasi berperan berperan dalam induksi seperti demam,

katabolisme otot, perkembangan jaringan fibroblas dan aktivasi makrofag (Gruys *et al*, 2005). Salah satu mediator pro inflamasi tersebut adalah IL-17.

Saat pemberian CCl₄ dihentikan pasca pemberian 9 minggu, reaksi respon fase akut juga turut berhenti sehingga kadar IL-17 juga turun. Turunnya kadar IL-17 sendiri berfungsi untuk melindungi organ, karena kadar IL-17 yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan jaringan. Dalam penelitian Silverpil *et al*, diteliti hubungan antara regulasi sekresi IL-23 dari IL-17 terhadap reaksi inflamasi paru. Hasil penelitian mereka menunjukkan, bahwa mekanisme umpan balik negatif dalam makrofag alveolar bertujuan untuk melindungi dari aktivitas IL-17 yang berlebihan, termasuk sel-sel Th17. Tujuan utama mekanisme ini diperkirakan untuk membatasi dampak yang berpotensi merusak jaringan dari aktivitas sistem imun yang berlebih (Silverpil *et al*, 2013).

Derajat fibrosis hati pada KP-2 lebih baik dari K-Positif, dibuktikan dengan penurunan derajat fibrosis hati dari 3 tikus fibrosis hati F3 dan 1 tikus fibrosis hati F2, menjadi 2 tikus fibrosis hati F2 dan 2 tikus F1. Menurut penelitian Bruck, kurkumin menghambat fibrosis hati pada model tikus dengan mengurangi stres oksidatif dan menghambat aktivasi HSC serta ekspresi gen kolagen a1 (Bruck *et al*, 2007). Selain menghambat ekspresi kolagen a1, kurkumin juga mencegah pembentukan dan pengembangan matriks ekstraselular dengan menghambat sintesis fibronektin dan ekspresi gen otot halus aktin- α , melalui peningkatan ekspresi matriks metalloproteinase-2 dan -9 dan menekan ekspresi *Connective Tissue Growth Factor* (CTGF), CTGF sendiri adalah faktor kunci pertumbuhan fibrogenik yang disekresi oleh HSC (Connell dan Rushworth, 2008).

KK-2 juga mengalami penurunan derajat fibrosis hati jika dibandingkan dengan K-Positif, dari awalnya 3 tikus mengalami fibrosis hati F3 dan 1 tikus mengalami fibrosis hati F2, menjadi 1 tikus mengalami fibrosis hati F3 dan 3 tikus mengalami fibrosis hati F2. Walau mengalami penurunan derajat fibrosis hati, perbaikan fibrosis hati ini tidak terlalu signifikan jika dibandingkan dengan KP-2. Dalam penelitian Iredale mengenai resolusi spontan tikus fibrosis hati, hasil data penelitian menunjukkan bahwa fibrosis pada hati tikus, yang bahkan relatif parah dapat mengalami pemulihan dan renovasi arsitektur hati hingga normal kembali. Studi Iredale menunjukkan bahwa faktor kunci dalam resolusi ini adalah hilangnya sel HSC teraktivasi yang dimediasi oleh proses apoptosis. Proses degradasi matriks dipengaruhi oleh penurunan sel HSC teraktivasi yang telah ditunjukkan untuk mengekspresikan prokolagen-I, TIMP-1, dan TIMP-2. Kehilangan sel HSC teraktivasi saja tidak dapat menjelaskan proses resolusi fibrosis secara sepenuhnya dan, khususnya, durasi seberapa cepat resolusi spontan tersebut dapat terjadi. Meski dalam penelitian Iredale degradasi matriks fibril kolagen terjadi 7 hari pasca penghentian injeksi CCl_4 0,2 ml/100g selama 4 minggu (Iredale et al, 1998).

Pada kelompok perlakuan 5 minggu, KK-5 ($191,37 \pm 17,99$ pg/ml) dan KP-5 ($139,25 \pm 16,59$ pg/ml) juga menunjukkan perbedaan kadar IL-17 serum dengan derajat fibrosis yang berbeda. Rerata kadar IL-17 serum KP-5 lebih rendah daripada KK-5, walau pada perlakuan 2 minggu rerata kadar IL-17 serum KP-2 lebih tinggi dari KK-5.

Pada kelompok perlakuan 9 minggu, KK-9 ($327,62 \pm 69,05$ pg/ml) dan KP-9 ($240,75 \pm 7,12$ pg/ml), hasil kadar IL-17 serum kedua kelompok menunjukkan peningkatan dimana kadar IL-17 serum KK-9 lebih tinggi dari KP-9.

Peningkatan kadar IL-17 serum ini dapat disebabkan oleh sekresi IL-17 dari organ lain serta bioavailabilitas kurkumin yang buruk.

Organ lain yang dapat mengalami inflamasi akibat induksi CCl₄ selain hati adalah sistem pencernaan, sistem pernafasan, sistem urinari dan sistem saraf pusat (ATSDR, 2005). Hati dan ginjal adalah organ utama toksisitas CCl₄ oleh karena jalur inhalasi atau konsumsi (ATSDR, 2005). Penurunan fungsi ginjal akibat paparan CCl₄ umumnya muncul setelah dua hingga tiga minggu, namun dalam kasus-kasus parah dapat timbul lebih cepat dalam satu sampai enam hari bersamaan dengan kerusakan hati, terutama pada pemberian dosis CCl₄ yang tinggi (ATSDR, 2005). Apabila organ-organ tersebut mengalami kerusakan, maka akan terjadi reaksi injuri seperti yang terjadi pada hati, yang berujung pada sekresi IL-17 sebagai agen pro-inflamator yang memicu inflamasi. Selain itu IL-17 tidak hanya disekresikan oleh sel Th 17 saja, melainkan juga oleh Sel T CD8⁺, sel *Natural Killer*, sel *Natural Killer T*, dan sel neutrofil (Akdis *et al*, 2011). Sekresi IL-17 jaringan ini akan masuk ke sirkulasi sistemik dan akan meningkatkan kadar IL-17 serum sehingga kadar IL-17 serum akan naik.

Berbagai penelitian membuktikan bahwa kurkumin memiliki absorpsi, biodistribusi, metabolisme dan bioavailabilitas yang buruk. (Prasad *et al*, 2014). Salah satu pengamatan utama yang berhubungan dengan penelitian kurkumin adalah pengamatan pada tingkat konsentrasi serum yang sangat rendah. Studi yang pertama dilaporkan untuk memeriksa penyerapan, distribusi, dan ekskresi kurkumin adalah penelitian oleh Wahlstrom dan Blennow pada tahun 1978 menggunakan tikus Sprague-Dawley, hasil penelitian mereka adalah kadar kurkumin dalam plasma darah tikus setelah

pemberian oral 1 g / kg menunjukkan bahwa kurkumin diserap buruk oleh usus. Tahum 1980, Ravindranath et al, menunjukkan setelah administrasi oral kurkumin 400 mg pada tikus, tidak ditemukan konsentrasi kurkumin dalam darah jantung, namun ditemukan kadar kurang dari 5 µg/mL dalam darah porta setelah 15 menit sampai 24 jam pasca administrasi (Anand et al, 2007).

Pan et al., misalnya, menyelidiki sifat farmakokinetik kurkumin diberikan baik secara oral atau intraperitoneal pada tikus. Dengan pemberian kurkumin oral 1,0 g / kg, hasil kadar plasma rendah sebesar 0,13 ug / mL muncul dalam plasma setelah 15 menit, sementara tingkat plasma maksimum 0,22 ug / mL diperoleh pada 1 jam setelah pemberian; konsentrasi plasma kemudian menurun di bawah batas deteksi dalam 6 jam. Hasil tingkat kurkumin plasma yang berbeda ditemukan setelah pemberian intraperitoneal 0,1 g / kg. Tingkat kurkumin plasma memuncak (2,25 mg / mL) dalam waktu 15 menit dari administrasi dan menurun dengan cepat dalam 1 jam (Anand et al, 2008).

Penelitian Prasad menunjukkan distribusi kurkumin berurutan dalam usus, limpa, hati dan ginjal sebesar 177.04, 26.06, 26.90, and 7.51 µg/g setelah 1 jam injeksi intraperitoneal dengan dosis (0.1 g/kg). Jauh dari konsentrasi saat dosis diberikan. (Prasad et al, 2014). Akibat kadar plasma kurkumin yang rendah, organ-organ selain hati yang mengalami kerusakan tidak dapat sembuh, inflamasi terus terjadi sehingga IL-17 terus disekresikan yang nantinya akan masuk sirkulasi sistemik menyebabkan peningkatan kadar IL-17 serum.

Berdasarkan uraian di atas, maka hipotesis bahwa terdapat hubungan antara kadar IL-17 serum dengan perbaikan derajat fibrosis hati terbukti. Pemeriksaan kadar IL-17 serum terhadap pemberian kurkumin pada tikus

model fibrosis yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4) dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya lamanya perlakuan fibrosis, lama pemberian kurkumin, dan respon fisiologis tubuh tikus terhadap perlakuan. Dengan demikian, peneliti merasa bahwa pemberian kurkumin selama 2 minggu atau efektif untuk menurunkan kadar IL-17 serum dan baik untuk memperbaiki derajat fibrosis hati pada tikus model fibrosis. Tetapi pemeriksaan kadar IL-17 serum sebagai marker untuk mengetahui derajat fibrosis hati kurang bisa diterapkan, karena spesifitasnya yang kurang melihat banyaknya faktor yang dapat mempengaruhi perubahan kadar IL-17 serum.

