

ANALISIS EFEKTIVITAS PLEIOTROPIK ANTIINFLAMASI SIMVASTATIN PADA TIKUS PUTIH (*RATTUS NORVEGICUS*)

Rizal^{1,*}, Rahmat Ismail², Abulkhair Abdullah³

Teknologi Laboratorium Medik, Poltekkes Kemenkes Maluku, Ambon, Indonesia¹

Farmasi, Universitas Muhammadiyah Manado, Manado, Indonesia²

Farmasi, Universitas Khairun, Ternate, Indonesia³

apt.klin.rizal@gmail.com¹; rahmatismail114@gmail.com²; abulkhairabd03@gmail.com³

ABSTRAK

HMG-CoA *reductase* merupakan enzim yang dapat memetabolisme kolesterol. Tahapan dalam biosintesis kolesterol yaitu sintesis asam mevalonat dari acetyl-CoA, pembentukan isoprenoid, pembentukan skualen dan sintesis kolesterol. Simvastatin dikenal sebagai HMG-CoA *reductase inhibitor* (*3-hydroxy-3-methylglutary co-enzym A*), menyebabkan pengurangan tidak hanya kolesterol tetapi juga berbagai metabolit antara yaitu pembentukan isoprenoid yang merupakan kunci dalam sinyal seluler dan pengendalian fungsi sel. Hambatan isoprenoid ini dapat menurunkan aktivasi Nf-kB melalui jalur Rho/ROCK dari isoprenoid antara jalur biosintesis kolesterol yang merupakan respon seluler pembentuk sitokin pro inflamasi. Hal tersebut yang membuat Simvastatin dapat bekerja pada *non lipid dependent effect* yaitu efek pleiotropik sebagai antiinflamasi. Tujuan dari penelitian ini untuk menganalisa efek pleiotropik Simvastatin sebagai antiinflamasi pada tikus putih. Desain penelitian yaitu penelitian *experimental post test only control desaign* dengan menggunakan lima kelompok uji yaitu kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan kelompok perlakuan yang terbagi menjadi tiga dosis perlakuan pada masing-masing obat. Efektivitas antiinflamasi dilakukan dengan metode induksi karagenan 1% intraplantar yang dilihat efek inhibisi inflamasinya selama 9 jam. Hasil penelitian menunjukkan persen inhibisi inflamasi pada simvastatin dosis 1,8mg/KgBB; dosis 3,6mg/KgBB; dosis 7,2mg/kgBB yaitu 79,92%; 89,05% dan 79,92%. HMG-CoA *reductase inhibitor* simvastatin memiliki efek pleiotropik antiinflamasi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang signifikan ($p=0,019$).

Kata kunci: Statin, antiinflamasi, tikus putih

ABSTRACT

HMG-CoA *reductase* is the enzyme that can metabolize cholesterol. The steps in cholesterol biosynthesis are mevalonic acid synthesis from Acetyl-CoA, isoprenoid formation, squalene formation, and cholesterol synthesis. Simvastatin, known as HMG-CoA *reductase inhibitor* (*3-hydroxy-3-methylglutary co-enzyme A*), causes reduction not only in cholesterol, but also in some of metabolic intermediates. Isoprenoid formation is the key in cellular signal and cell function control. Inhibition of isoprenoid decrease the activation of Nf-kB through the Rho/ROCK pathway of isoprenoids in forming pro inflammatory cytokines. Simvastatin on non-lipid dependent (anti-inflammatory) known as pleiotropic effect. The aim of this research was to analyze the pleiotropic effect of Simvastatin as the anti-inflammatory on white rat. The research design was an experimental post test only control desaign study using five test groups, the negative control group, the positive control group, and the treatment group which were divided into three treatment doses of each drug. The effectiveness of anti-inflammatory was carried out by using the intraplantar 1% carrageenan induction method which observed its inflammatory inhibition effect for 9 hours. The results showed the percentage of inhibition inflammation of simvastatin at a dose 1.8mg/ KgBW; dosage 3.6mg/ KgBW; and dose of 7,2 mg/kgBW was 79,92%; 89.05% and 79.92% respectively. HMG-CoA *reductase inhibitor* simvastatin had a significant anti-inflammatory pleiotropic effect in white rats (*Rattus norvegicus*) ($p = 0.019$).

Keywords: Statins, anti-inflammatory, white rat

PENDAHULUAN

Secara global, penyakit tidak menular seperti stroke menjadi penyebab kematian kedua setelah penyakit jantung iskemik. Penyakit tersebut melibatkan adanya proses inflamasi, ini

ditandai dengan adanya pelepasan biomarker inflamasi. Satu dari enam kematian penyakit jantung disebabkan karena stroke, setiap tahun diperkirakan terjadi penambahan 795.000 orang terdiagnosa stroke (Tsao et al., 2022). Penyakit-penyakit tersebut melibatkan adanya proses inflamasi, ini ditandai dengan adanya pelepasan biomarker inflamasi (Rizal, 2017). Inflamasi dapat dikatakan sebagai suatu respon jaringan yang terjadi akibat stimulus fisik atau kimiawi yang dapat merusak sel. Stimulus ini mengakibatkan sitokin pro inflamasi seperti prostaglandin, histamin, bradikinin dan serotonin bebas dan mengakibatkan reaksi peradangan. Inflamasi yang terkait dengan kerusakan sel ini mempengaruhi selaput membran sehingga menyebabkan enzim – enzim lisosomal dan asam arakidonat dikeluarkan oleh leukosit (Prabowo, 2016).

Statin, dikenal juga sebagai HMG-CoA *reductase inhibitor* (*3-hydroxy -3-methylglutaryl co-enzyme A*), sering digunakan sebagai obat penurun kolesterol. Statin bekerja dengan menghambat HMG-CoA reduktase, menyebabkan pengurangan tidak hanya kolesterol tapi juga dari berbagai metabolit antara yaitu pembentukan isoprenoid yang merupakan kunci dalam sinyal seluler dan pengendalian fungsi sel seperti proliferasi, diferensiasi dan migrasi (Bonaventura et al., 2016; Zhao et al., 2014). Hambatan pada produksi isoprenoid menyebabkan penurunan prenilasi dari protein G seperti *Rho* yang akan menurunkan aktivasi NF-kB. Dengan terjadinya penurunan aktivasi NF-kB maka dapat menurunkan inflamasi (Bonaventura et al., 2016).

Implikasi klinis potensial dari efek pleiotropik statin ini yang menyebabkan perlunya penelitian lebih lanjut tentang efek pleiotropik antiinflamasi statin dengan tujuan untuk meningkatkan efektivitas penggunaan statin tidak hanya pada pasien dengan hiperlipidemia saja namun juga pada pasien dengan kondisi inflamasi seperti pada penyakit stroke. Tujuan penelitian ini yaitu untuk Menganalisis efektivitas pleiotropik antiinflamasi golongan obat *3-hydroxy-3-methyl glutaryl CoA (HMG-CoA) reductase inhibitors* pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

METODE

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *true experimental post test only control design* menggunakan hewan uji tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan intervensi pemberian golongan obat HMG-CoA inhibitor simvastatin (Cholestat®), kontrol negatif dengan NaCMC, dan kontrol positif dengan Natrium diklofenak. Uji antiinflamasi dilakukan dengan metode induksi karagenin 1%, digunakan hewan uji tikus putih jantan dengan berat badan berkisar antara 150 – 250 gram yang berumur 3 – 4 bulan sebanyak 15 ekor.

Prosedur Kerja Alat Dan Bahan

Neraca analitik, spuit injeksi subplantar 1 mL, spuit peroral 5 mL, pletismometer, stopwatch, kandang tikus, masker, sarung tangan, timbangan hewan, sonde, beker gelas, batang pengaduk, spatula, hot plate, lumpang dan alu, dan kertas aluminium. Simvastatin (Cholestat®), Natrium diklofenak, NaCMC, Karagenin, NaCl fisiologis 0,9%, Aquadest.

Pembuatan Na CMC 1%

Na CMC ditimbang sebanyak 1 gram kemudian dicampur dengan menggunakan mortar dengan 50 ml aquadest panas kemudian diamkan selama 15 menit hingga berbentuk gel transparan, kemudian tambahkan aquadest sampai diperoleh volume akhir 100 ml.

Pembuatan karagenin 1%

Karagenin ditimbang sebanyak 1 gram, lalu dilarutkan dalam larutan NaCl 0,9 % sampai didapatkan volume akhir 100 mL. Karagenin ini berfungsi menginduksi inflamasi pada kaki tikus.

Pembuatan Larutan Uji Kontrol Positif (Natrium Diklofenak)

Pembuatan larutan uji kontrol positif dan sampel uji dilakukan dengan cara menimbang sejumlah sediaan obat sesuai perhitungan konversi dosis, kemudian disuspensikan dalam Na CMC 1%.

Penyiapan Sampel Uji (Simvastatin)

Pembuatan larutan sampel uji dilakukan dengan cara menimbang sejumlah sediaan obat sesuai perhitungan dosis, kemudian disuspensikan dalam Na CMC 1%.

Penyiapan Hewan Uji

Hewan uji yang disiapkan berdasarkan dengan minimalnya replikasi antar kelompok. Jumlah hewan uji 15 ekor, dengan 5 kelompok perlakuan, dan setiap kelompok terdiri dari 3 ekor tikus putih. Tikus putih yang digunakan diaklimatisasi terlebih dahulu selama \pm tiga minggu dan dipuaskan selama 18 jam dengan tetap memberi asupan air ad libitum sebelum percobaan.

Uji Efek antiinflamasi

- Tikus yang telah dikelompokkan kemudian ditimbang dan diberi kode tertentu.
- Kaki tikus diukur sebelum diberi perlakuan, dinyatakan sebagai volume awal (V_0).
- Masing - masing kelompok diberi perlakuan seperti pada tabel 1
- Tikus disuntikkan karagenin 1% sebanyak 1 mL intraplantar.
- Volume kaki tikus diukur menggunakan plestimometer setiap 1 jam selama 9 jam dan dinyatakan sebagai volume tiap waktu (V_t).

Cara perhitungan persen inflamasi dan inhibisi inflamasi menggunakan rumus berikut:
% inflamasi = $[(V_t - V_0) / V_0] \times 100\%$

Ket: V_t (volume telapak kaki tikus tiap kelompok pada waktu t); V_0 (volume telapak kaki tikus tiap kelompok sebelum perlakuan)

$$\% \text{ inhibisi inflamasi} = [(a - b) / a] \times 100\%$$

Ket: a (% inflamasi pada kelompok kontrol negatif); b (% inflamasi pada kelompok perlakuan)

Tabel 1. Kelompok perlakuan uji antiinflamasi

No	Kelompok Uji	Perlakuan	Replikasi	Dosis Perlakuan (APhA, 2013)
1	Kontrol Negatif	Na CMC	3	Na CMC 1% 3 mL/ 200gBB
2	Kontrol Positif	Natrium Diklofenak	3	Na. Diklofenak 1,35 mg/200gBB
		Dosis 1	3	Simvastatin 0,36 mg/ 200gBB
3	Simvastatin	Dosis 2	3	Simvastatin 0,72 mg/ 200gBB
		Dosis 3	3	Simvastatin 1,44 mg/ 200gBB

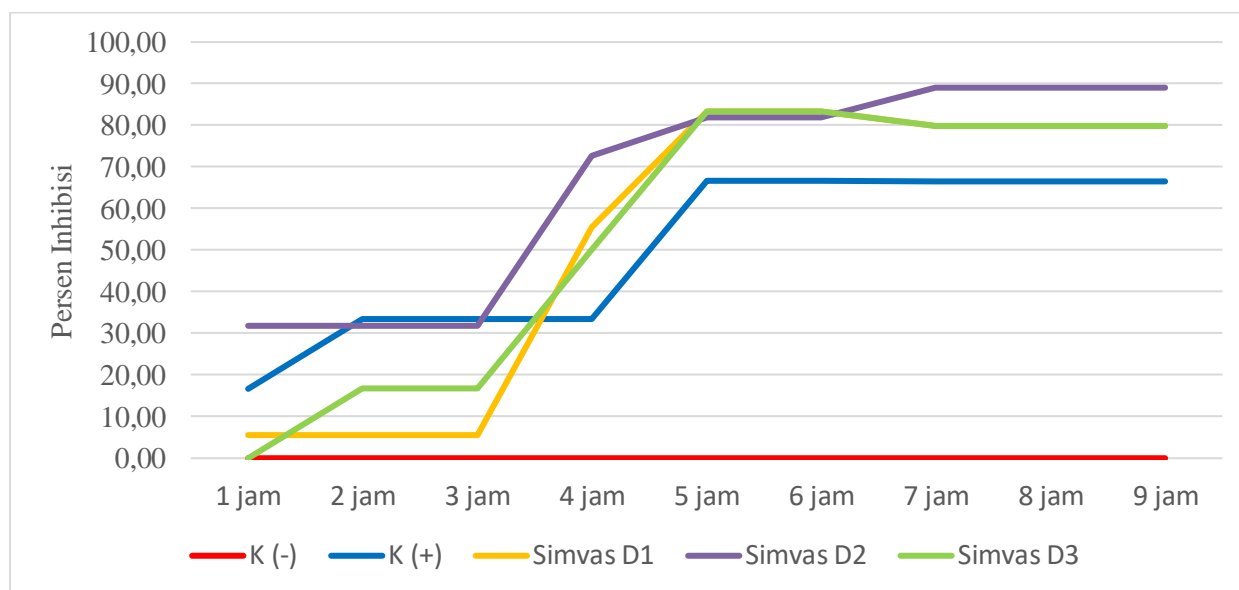
Analisis Data

Data yang ada dianalisis menggunakan uji Saphiro Wilk untuk melihat distribusi data dan dengan uji Levene Statistic untuk homogenitas data. Jika data terdistribusi normal dan homogen dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA menggunakan IBM SPSS 25.

HASIL

Tabel 2. Persen inhibisi inflamasi obat tiap jam sampai jam ke-9

Perlakuan	Klpk	Rerata Persen Inhibisi Inflamasi (%) Jam Ke-								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Kont (-)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Kont. (+)		16,67	33,33	33,33	33,33	66,67	66,67	66,53	66,53	66,53
Simvastatin	D1	5,56	5,56	5,56	55,56	83,33	83,33	79,92	79,92	79,92
	D2	31,82	31,82	31,82	72,73	81,82	81,82	89,05	89,05	89,05
	D3	0,00	16,67	16,67	50,00	83,33	83,33	79,92	79,92	79,92



Gambar 1. Grafik persentasi inhibisi inflamasi simvastatin

PEMBAHASAN

Statin mampu menurunkan aktivasi dari NFkB melalui jalur Rho/ROCK dari isoprenoid antara jalur biosintesis kolesterol sehingga terjadi penurunan sintesis sitokin-sitokin pro inflamasi, disisi lain statin dilaporkan juga mampu meningkatkan kadar sitokin antinflamasi sebagai efek protektif, hal ini diprediksikan karena efek pada regulasi keseimbangan sitokin inflamsi terhadap sitokin antiinflamasi (Steffens & Mach, 2004; Stumpf et al., 2009).

Penelitian dilakukan di laboratorium farmakologi Universitas Muhammadiyah Manado. Obat *HMG-CoA reductase inhibitors* yang digunakan yaitu simvastatin. Berdasarkan data penelitian pada Tabel 2 dan Gambar 1 diatas dapat dilihat bahwa simvastatin terbukti secara signifikan memiliki daya hambat terhadap proses inflamasi dengan nilai $P = 0,019$. Rerata inhibisi inflamasi simvastatin pada jam ke-9 untuk dosis 1 yaitu 79,92%, dosis 2 yaitu 89,05% dan dosis 3 yaitu 79,92%.

Simvastatin memiliki bioavailabilitas < 5% dengan waktu plasma puncak 1,3 – 2,4 jam, ikatan protein 95% serta dieksresikan pada feses (60%) dan urine (13%). Atorvastatin memiliki bioavailabilitas 14% dengan waktu plasma puncak 1 – 2 jam, ikatan protein 98%, dan volume distribusi 381 L. Rosuvastatin memiliki bioavailabilitas 20% dengan waktu plasma puncak 3 – 5 jam, volume distribusi 134 L, ikatan protein 88% dan eksresi pada feses 90% (APhA, 2013). Efek antiinflamasi statin juga ditentukan oleh pemilihan obat golongan statin yang digunakan sebab potensi antiinflamasi statin berkaitan dengan kemampuannya untuk berikatan dengan enzim HMG Co-A Reduktase.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa golongan obat *HMG-CoA reductase inhibitor* simvastatin memiliki efek pleiotropik antiinflamasi yang signifikan terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan nilai p 0,019. Saran yaitu dilakukan penelitian lanjutan uji klinik efek pleiotropik antiinflamasi golongan obat *HMG-CoA reductase inhibitor* untuk mendukung penggunaannya sebagai *evidence based medicine* pada pasien-pasien yang dalam prognosis penyakitnya terjadi proses inflamasi kronik.

UCAPAN TERIMAKASIH

Tim peneliti mengucapkan terimakasih kepada pimpinan Universitas Muhammadiyah Manado yang telah memberikan dukungan serta hibah biaya penelitian. Tim peneliti juga mengucapkan terimakasih kepada para mahasiswa Prodi Farmasi Universitas Muhammadiyah Manado yang telah terlibat dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- APhA. (2013). *Drug Information Handbook* (22nd ed.). Lexi-Comp Inc.
- Bonaventura, A., Liberale, L., Vecchié, A., Casula, M., Carbone, F., Dallegri, F., & Montecucco, F. (2016). Update on Inflammatory Biomarkers and Treatments in Ischemic Stroke. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 17, Issue 12). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms17121967>
- Prabowo, I. (2016). *Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Jarak Merah (Jatropha gossypifolia) Pada Tikus Jantan Yang Diinduksi Karagenin*. University of Muhammadiyah Malang.
- Rizal. (2017). *Analisis Efek Pleiotropik Antiinflamasi Simvastatin terhadap Kadar Serum Transforming Growth Factor- B1 (Tgf-B1) pada Pasien Stroke Iskemik*. Universitas Airlangga.
- Steffens, S., & Mach, F. (2004). *Anti-inflammatory Properties of Statins*.
- Stumpf, C., Petzi, S., Seybold, K., Wasmeier, G., Arnold, M., Raaz, D., Yilmaz, A., Daniel, W. G., & Garlich, C. D. (2009). Atorvastatin Enhances Interleukin-10 Levels and Improves Cardiac Function in Rats After Acute Myocardial Infarction. *Clinical Science*, 116(1), 45–52. <https://doi.org/10.1042/CS20080042>
- Tsao, C. W., Aday, A. W., Almarzooq, Z. I., Alonso, A., Beaton, A. Z., Bittencourt, M. S., Boehme, A. K., Buxton, A. E., Carson, A. P., Commodore-Mensah, Y., Elkind, M. S. V., Evenson, K. R., Eze-Nliam, C., Ferguson, J. F., Generoso, G., Ho, J. E., Kalani, R., Khan, S. S., Kissela, B. M., ... Martin, S. S. (2022). Heart Disease and Stroke Statistics-2022 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*, 145(8), e153–e639. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000001052>
- Zhao, J., Zhang, X., Dong, L., Wen, Y., & Cui, L. (2014). The Many Roles of Statins in Ischemic Stroke. In *Current Neuropharmacology* (Vol. 12)