

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Non Alcoholic Steatosis Liver Disease (NAFLD) adalah penyakit metabolik yang ditandai dengan steatosis, di mana liver menyimpan banyak lemak yang disertai peradangan atau tanpa peradangan (Bertot *et al.*, 2016). Sama seperti *Alcoholic Steatosis Liver Disease* (ALD), keadaan patologi NAFLD meliputi; steatosis hepatik sederhana hingga steatohepatitis, berkembang menjadi sirosis hati, hingga karsinoma hepatoseluler. Walaupun memiliki keadaan patologi sama, akan tetapi secara epidemiologi dan klinis NAFLD dan ALD berbeda. Dimana ALD disebabkan karena terdapat riwayat perilaku konsumsi alkohol pada pasien, sedangkan pada NAFLD sedikit atau tidak (Toshikuni *et al.*, 2014)

Kondisi NAFLD dapat meningkat hingga menjadi steatohepatitis (NASH) yang disertai peradangan dengan atau tanpa fibrosis (Bertot *et al.*, 2016). Prevalensi NAFLD di dunia sebesar 25.24%, dengan prevalensi NAFLD tertinggi terjadi di Timur Tengah dan Amerika, sedangkan prevalensi terendah terjadi di Afrika (Younossi *et al.*, 2016). Prevalensi NAFLD di Indonesia sebesar (30,6%) dibandingkan dengan Cina (24.6%) dan India (20%) (Amarapurkar *et al.*, 2007; Zhou *et al.*, 2007). Menurut suatu studi meta-analisis, beberapa keadaan komorbid dari NAFLD adalah obesitas (51%), diabetes tipe 2 (22.51%), hiperlipidemia (69.16%), hipertensi (39.34%), dan sindrom metabolik (42.54%) (Younossi *et al.*, 2016).

Berkembangnya NAFLD dapat didukung oleh beberapa faktor resiko. Faktor resiko yang diprediksikan dapat meningkatkan progresifitas NAFLD diantaranya jenis kelamin, ras dan etnis, polimorfisme genetik, umur, metabolik, dan faktor histologi/tingkat keparahan steatosis (Bertot *et al.*, 2016). Jenis kelamin laki-laki memiliki prevalensi lebih tinggi mengalami NAFLD dari pada wanita (15.5% vs 13.4%) (Younossi *et al.*, 2016). Selain itu, wanita yang menopause memiliki resiko lebih tinggi bila dibandingkan dengan wanita pra-menopause dan wanita subur. Serta pada wanita yang mengalami menopause lebih awal lebih beresiko dibanding dengan wanita normal (Yang *et al.*, 2014; Klair *et al.*, 2016). Hal tersebut dikaitkan dengan kemampuan regulasi hormon estrogen yang bersifat liver protektif (Giorgio *et al.*, 2014). Selanjutnya,

perbedaan ras dan etnis dapat menjadi salah satu faktor resiko, dimana ras hispanik memiliki prevalensi lebih tinggi dari ras/etnis lain (Younossi *et al.*, 2016).

Menurut Day *et al.*, 1998 NAFLD dapat disebabkan oleh beberapa mekanisme, yang dikenal dengan mekanisme “*two hit*”. Hit pertama digambarkan sebagai proses resistensi insulin perifer terjadi yang menyebabkan akumulasi lemak pada hati. Selain itu obesitas yang disertai dengan resistensi insulin dapat mempercepat terjadinya steatosis karena meningkatkan proses lipolisis sehingga menyebabkan peningkatan penyerapan *Free Fatty Acid* (FFA) yang di dikonversi dalam bentuk trigliserida (TG) dan disimpan di liver. Lalu pada hit kedua terjadi aktivasi kaskade inflamasi yang melepaskan sitokin dan agen pro-inflamasi lainnya hingga terjadinya fibrosis (Giorgio *et al.*, 2014). Sedangkan, menurut Buzzettiet, *al* mekanisme yang mendasari proses terjadinya NAFLD serta perkembangannya kompleks dan memiliki banyak faktor yang dirangkum dalam “*multiple hit*”. *Multiple Hit* mempertimbangan beberapa kemungkinan yang dapat menginduksi terjadinya NAFLD. Beberapa kemungkinan itu antara lain metabolisme lemak, lipotoksisitas dan resistensi insulin; disfungsi jaringan adiposa; genetik; faktor epigenetik; serta faktor diet (Buzzettiet *et al.*, 2015).

Pada keadaan obesitas terjadi proses fisiologis berupa peradangan yang ditandai dengan peningkatan kadar sitokin pro-inflamasi dalam sirkulasi maupun jaringan. Peradangan merupakan suatu proses protektif untuk mengendalikan infeksi dengan tujuan memperbaiki jaringan, remodeling organ, dan penyembuhan luka. Namun bila peradangan berlebihan akan memberikan efek samping berupa kerusakan jaringan hingga disfungsi organ (Ye J, 2011).

Makrofag, salah satu sel imun dalam tubuh kita (Alisi *et al.*, 2017). Diketahui makrofag berperan penting pada berbagai fase perkembangan NAFLD. Pada fase awal akumulasi lemak, sel kupffer akan melepaskan kemokin yang menyebabkan infiltrasi monosit ke liver. Selanjutnya monosit berdiferensiasi menjadi makrofag tipe 1 atau tipe 2 tergantung pada lingkungan disekitar makrofag (Xu *et al.*, 2021). Tingginya kadar lemak dalam liver akan meningkatkan kadar adipokin yang dapat menyebabkan aktivasi atau diferensiasi makrofag menjadi Makrofag lain (M1) yang berperan pada pelepasan sitokin, dan mediator proinflamatori lain (Dey dan Hankey-Giblin, 2015; Xu *et al.*, 2021). Disisi lain, beberapa mediator seperti Interleukin (IL)-4 dan T-Cadherin berperan mengarahkan makrofag untuk berdiferensiasi ke makrofag tipe-2 (M2) yang cenderung mempunyai sifat anti inflamasi (Luo dan Liu, 2016). M2 memiliki peran sebagai perbaikan jaringan melalui mekanisme remodeling matriks ekstraseluler (ECM) dan

perekutan fibroblas. M2 melepaskan sitokin yang mengaktivasi matriks metalloproteinase (MMPs) yang membersihkan sel-sel apoptosis dan sisa badan seluler. Sehingga, selain memiliki efek anti-inflamasi, M2 juga mendorong perbaikan jaringan (Alisi *et al.*, 2017). Namun, ketika lesi berlanjut, M2 memiliki peran penting dalam melepaskan sitokin profibrotik sehingga menyebabkan fibrosis liver (Alisi *et al.*, 2017). Polarisasi makrofag antara M1 dan M2 memegang peranan penting dalam proses inflamasi. Diketahui resveratrol dapat memicu polarisasi makrofag menuju M2 yang merupakan makrofag anti inflamasi melalui beberapa mekanisme. Sehingga penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek resveratrol terhadap polarisasi makrofag.

Resveratrol (3,5,4'-trihydroxy-trans-stilbene) merupakan polifenol dari alam yang banyak terdapat pada kulit dan biji anggur merah dan bahan makanan lain. Pada beberapa penelitian, resveratrol menunjukkan aktivitas sebagai antioksidan dan anti tumor. Selain itu terdapat efek bioaktif lainnya seperti anti-inflamasi, antikarsinogenik, kardioprotektif, vasorelaksan, fitoestrogen, dan neuroprotektif (Salehi *et al.*, 2018). Pada penelitian pengobatan resveratrol kepada pasien *coronary artery disease*, resveratrol dapat meningkatkan kadar adiponektin, dan mencegah peningkatan inhibitor aktivator plasminogen tipe 1 dan menghambat sinyal aterotrombotik di PBMC dari pasien (Tomé-Carneiro *et al.*, 2013). Selain itu, resveratrol dapat meningkatkan kadar adiponektin dan memperbaiki peradangan, stres oksidatif, dan disfungsi endotel pada pasien NAFLD melalui pengaktifan AMPK-SIRT1-PPAR α melalui AdipoR1 dan AdipoR2 (Park *et al.*, 2016; Ajmo *et al.*, 2008). Selanjutnya, pada beberapa penelitian melaporkan bahwa Resveratrol memiliki efek positif dalam kasus NAFLD dengan berbagai mekanisme (Du *et al.*, 2021; Theodorou *et al.*, 2019; Carmine *et al.*, 2021).

Adiponektin merupakan salah satu komponen dari adiposit yang dilepas untuk meregulasi berbagai proses dalam tubuh, salah satunya sebagai sensitivitas insulin hingga peradangan pada jaringan perifer, otot rangka, dan hati (Whitehead *et al.*, 2005). Pada manusia sehat, adiponektin memiliki konsentrasi yang tinggi dan memiliki kadar tiga kali lipat daripada leptin. Kadar adiponektin akan menurun pada individu dengan obesitas (Arita *et al.*, 1999). Adiponektin akan memberikan efek melalui reseptor adiponektin yaitu AdipoR dan AdipoR2. Diketahui, AdipoR1 dapat mediasi peningkatan 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK). Sedangkan pada AdipoR2 dapat mengaktifkan *peroxisome proliferator-activated receptor* (PPAR) α . AdipoR1 memiliki peran penting terutama pada jaringan otot, sedangkan AdipoR2 pada liver (Hotta *et al.*, 2000; Wayer *et al.*, 2001). Selanjutnya pada penelitian in vitro yang berbeda, adiponektin

dapat melekat pada endotel vaskular yang cedera dan menghambat adhesi monosit yang diinduksi TNF- α ke sel endotel. Selain itu adiponektin juga menurunkan ekspresi molekul adhesi sel endotel dan aktivasi NF- κ B yang diinduksi TNF- α (Whitehead *et al.*, 2005). Dari paparan diatas, diketahui bahwa adiponektin memiliki peranan penting dalam regulasi lipid, mengatur homeostasis glukosa untuk mengendalikan stres oksidatif (Park *et al.*, 2016), serta memiliki efek anti-inflamasi (Whitehead *et al.*, 2005).

Penelitian ini menggunakan dua dosis resveratrol yaitu dosis 15 mg/KgBB dan 30 mg/KgBB. Dosis 15 mg/KgBB dipilih karena dapat menekan mediator inflamasi yang dapat mengarahkan makrofag menuju tipe M1 (Izzo *et al.*, 2021). Pemilihan dosis 15 mg/KgBB diharapkan dapat menekan ekspresi M1. Beralih pada dosis resveratrol 30 mg/KgBB, dosis tersebut dipilih karena dapat menekan mediator inflamasi disertai dengan aktivasi sumbu AMPK/SIRT1 yang dapat memperantarai makrofag menuju tipe M2 (Izzo *et al.*, 2021). Sehingga dengan dipilihnya dosis 30 mg/KgBB diharapkan dapat menekan ekspresi dari M1 serta meningkatkan ekspresi dari M2.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian resveratrol dapat menghambat perkembangan NAFLD melalui mekanisme polarisasi makrofag liver menuju M2 pada mencit model *Non Alcoholic Liver Disease* (NAFLD) yang diinduksi dengan *High Fat Diet* (HFD)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui efek pemberian resveratrol dalam polarisasi makrofag pada mencit model *Non Alcoholic Liver Disease* (NAFLD) yang diinduksi dengan *High Fat Diet* (HFD).

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisis efek resveratrol terhadap ekspresi CD80 yang dikaitkan dengan polarisasi M1 pada mencit model *Non Alcoholic Liver Disease* (NAFLD) yang diinduksi dengan *High Fat Diet* (HFD).
2. Menganalisis efek resveratrol terhadap ekspresi CD206/MRC1 yang dikaitkan dengan polarisasi M2 pada mencit model *Non Alcoholic Liver Disease* (NAFLD) yang diinduksi dengan *High Fat Diet* (HFD).

3. Menganalisis perbandingan ekspresi antara polarisasi M1 dan M2 pada mencit model *Non Alcoholic Liver Disease* (NAFLD) yang diinduksi dengan *High Fat Diet* (HFD).

1.4 Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh resveratrol terhadap ekspresi polarisasi makrofag pada mencit model NAFLD yang diinduksi dengan *High Fat Diet* (HFD).
2. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi di bidang farmasi mengenai pemanfaatan resveratrol dalam mengobati NAFLD dan melengkapi terapi yang sudah ada.