

Pengaruh Kurkumin Terhadap Kadar NF- κ B dan Derajat Fibrosis Hati pada Tikus Fibrosis Hati

The Effects of Curcumin on NF- κ B Level and Degree of Liver Fibrosis in Rat Liver Fibrosis

Supriono¹, Bogi Pratomo¹, Dedy Indra Praja²

¹Divisi Gastroenterohepatologi, Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, RSUD Dr. Saiful Anwar Malang

²Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, RSUD Dr. Saiful Anwar Malang

Korespondensi:

Dedy Indra Praja, MD. Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine Brawijaya University – dr. Saiful Anwar General Hospital. Jl. J.A. Suprpto No. 2, Klojen Malang 65112, Jawa Timur, Indonesia. Email : dedyindrapraja@yahoo.com

ABSTRAK

Pendahuluan. Inflamasi kronik merupakan mekanisme utama penyebab fibrosis hati. NF- κ B berfungsi mengatur inflamasi, penyembuhan luka, serta kematian sel. Kurkumin berperan sebagai antiinflamasi, antifibrotik, dan induksi apoptosis, salah satunya melalui hambatan terhadap NF- κ B. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kurkumin terhadap perubahan kadar NF- κ B dan korelasi antara lama pemberian kurkumin terhadap kadar NF- κ B dan derajat fibrosis hati.

Metode. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in vivo* menggunakan 32 ekor tikus wistar yang dibagi dalam 8 kelompok perlakuan, tiap kelompok terdiri dari 4 ekor tikus. Perlakuan terhadap tikus berupa induksi CCl₄ dan pemberian kurkumin. Pengukuran kadar NF- κ B dengan metode ELISA. Derajat fibrosis hati menggunakan *Metavir scoring system*. Analisis data menggunakan uji korelasi, one-way Anova, unpair T-test, Mann-Whitney, Chi-square, Kruskal-Wallis dan analisis jalur model struktural dengan nilai p signifikan yaitu p<0,05.

Hasil. Terdapat perbedaan yang signifikan kadar NF- κ B dan derajat fibrosis hati antara kelompok kontrol positif dengan kelompok kontrol negatif. Terdapat pengaruh yang signifikan pemberian kurkumin dan lama pemberian kurkumin terhadap perubahan derajat fibrosis hati dan kadar NF- κ B jaringan hati. Terdapat korelasi negatif antara lama pemberian kurkumin dengan perubahan kadar NF- κ B dan korelasi positif antara perubahan kadar NF- κ B dengan derajat fibrosis hati.

Simpulan. Pemberian kurkumin dapat menurunkan kadar NF- κ B dan derajat fibrosis hati. Lama pemberian kurkumin berkorelasi dengan penurunan kadar NF- κ B dan penurunan kadar NF- κ B berkorelasi dengan penurunan derajat fibrosis hati.

Kata Kunci: Derajat fibrosis hati, Kurkumin, NF- κ B, Tikus model fibrosis hati

ABSTRACT

Introduction. Chronic inflammation is the main mechanism responsible for liver fibrosis. NF- κ B regulates inflammation, wound healing, and cell death. Curcumin acts as an antiinflammatory, antifibrotic and induced apoptosis, one of them through resistance to NF- κ B. This study aimed to determine the effect of curcumin on NF- κ B levels and the correlation between the duration of curcumin on NF- κ B and degree of liver fibrosis.

Methods. This study was an experimental in rats using a completely randomized design. The treatment of rats was induced with CCl₄ and given curcumin. Measurement of NF- κ B levels by ELISA method. Degree of liver fibrosis using *metavir scoring system*. The data were analyzed using correlation test, one-way anova, unpair T-test, mann-whitney, chi-square, kruskal-wallis, structural model with significant p value p < 0,05.

Results. There were significant differences in NF- κ B level and degree of liver fibrosis between the positive control group and the negative control group. There was a significant effect of curcumin administration on the level of NF- κ B and degree of liver fibrosis. There was a negative correlation between duration of curcumin and NF- κ B level and positive correlation between NF- κ B levels and degree of liver fibrosis.

Conclusions. Curcumin can decrease NF- κ B levels and decrease the degree of liver fibrosis. The duration of the curcumin administration correlated with decreased levels of NF- κ B and decreased NF- κ B levels correlated with decreased degree of liver fibrosis in rat liver fibrosis.

Keywords: Animal model of liver fibrosis, Curcumin, Degree of liver fibrosis, NF- κ B

PENDAHULUAN

Inflamasi kronis merupakan mekanisme utama yang menginduksi fibrosis hati melalui aktivasi sel stelata hepatik sehingga bertransdiferensiasi menjadi miofibroblas yang bersifat proliferasif, fibrogenik, kontraktif. Selain itu, pada saat yang bersamaan, terjadi pembentukan kolagen dan matriks ekstraseluler secara berlebihan yang mengakibatkan terbentuknya jaringan sikatrik pada parenkim hati serta terjadinya kegagalan regenerasi dari sel hepatosit.^{1,2}

Fibrosis hati merupakan proses dinamis dan reversibel yang merupakan hasil keseimbangan dari fibrogenesis dan degradasi matriks. Hal ini dibuktikan melalui percobaan eksperimental pada hewan coba yang membuktikan bahwa dengan menghentikan penyebab injuri hati maka akan terjadi pemulihan hati yang disebut sebagai regresi spontan.¹ Proses utama dalam regresi fibrosis hati adalah apoptosis dari sel stelata hepatik aktif (aHSC/*activated hepatic stellate cell*). Pada penelitian yang menginduksi apoptosis aHSC dengan menggunakan *gliotoxin* menyebabkan terjadinya degradasi matriks ekstraseluler (ECM/*extracellular matrix*) menyebabkan penurunan fibrosis.³

Nuclear factor kappa B (NF- κ B) adalah suatu bentuk protein di dalam sitoplasma sel yang terikat dalam bentuk inaktif yang berfungsi mengatur inflamasi, respons imun, penyembuhan luka, serta kematian dan fungsi sel.⁴ Aktivasi NF- κ B di dalam HSC mengakibatkan HSC menjadi aktif dan meningkatkan *survival* dari aHSC.⁶

Kurkumin adalah senyawa polifenol yang berasal dari famili *curcuma* yang berperan dalam proses peradangan, pertumbuhan sel dan apoptosis.^{7,8} Dalam sebuah penelitian menunjukkan bahwa kurkumin adalah penghambat NF- κ B yang paling poten.^{9,10} Adanya inhibisi sinyal NF- κ B meningkatkan apoptosis miofibroblas hati melalui hambatan ekspresi JNK (*c-Jun N-terminal kinases*) sehingga terjadi regresi fibrosis. Ketika proses regresi diinduksi oleh kurkumin, maka akan semakin menurunkan ekspresi dari NF- κ B sehingga menurunkan *survival* dari aHSC.^{11,12}

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi kajian lebih lanjut mengenai manfaat kurkumin dalam penatalaksanaan fibrosis hati dan NF- κ B sebagai penanda yang tepat dalam menilai perubahan derajat fibrosis hati.

METODE

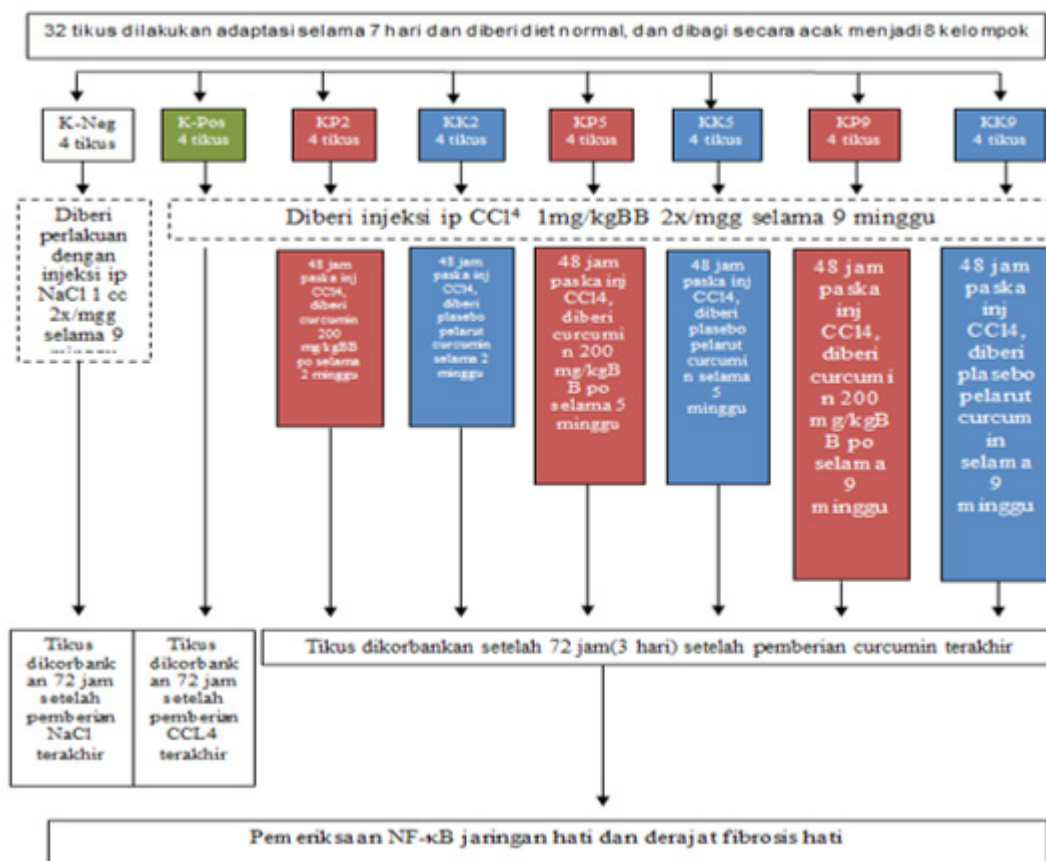
Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in vivo* pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus strain wistar*) dengan analisis pada akhir perlakuan (*post test control group design*) dengan rancangan

acak lengkap. Perlakuan terhadap tikus berupa induksi karbon tetraklorida (CCl₄) dan pemberian kurkumin. Analisis kadar NF- κ B dilakukan di laboratorium fisiologi dan pembuatan preparat histopatologi hati dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Waktu yang dibutuhkan untuk melakukan penelitian \pm 6 bulan yaitu Juni sampai dengan November 2016.

Terdapat 8 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri dari 4 tikus. Kontrol negatif (K-Neg) diberikan injeksi Normal Salin 2 kali/minggu selama 9 minggu, sedangkan kontrol positif (K-Pos) diberikan injeksi CCl₄ 1cc/kgbb/2 kali minggu intraperitoneal selama 9 minggu agar terbentuk fibrosis F3 (skor metavir). Kelompok K-Neg dan K-Pos dikorbankan 72 jam setelah injeksi terakhir. Untuk kelompok perlakuan (KP) yang disebut juga sebagai kelompok regresi dengan kurkumin, setelah dipapar CCl₄ selama 9 minggu dilanjutkan diberikan kurkumin 200 mg/kgbb/hari selama 2 minggu (KP2), 5 minggu (KP5) dan 9 minggu (KP9). Untuk kelompok kontrol (KK) yang juga disebut sebagai kelompok regresi spontan, setelah diinjeksi CCl₄ selama 9 minggu, diberikan plasebo yaitu pelarut kurkumin karboksimetil selulosa natrium (CMC Na) 1% 1 cc/kgbb selama 2 minggu (KK2), 5 minggu (KK5), dan 9 minggu (KK9), lalu masing-masing tikus dikorbankan setelah 72 jam pemberian kurkumin maupun plasebo.

Penelitian dilakukan setelah mendapatkan persetujuan dari komite etik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Alur penelitian tampak pada Gambar 1. Kriteria inklusi sampel pada penelitian ini adalah tikus *Rattus norvegicus strain wistar* berjenis kelamin jantan, usia \pm 3 bulan, berat badan 150–250 gram, kondisi sehat dan aktif. Sedangkan, kriteria *dropout* adalah tikus yang tidak mau makan sehingga mengganggu kesehatan, sakit atau mati selama masa perlakuan. Pengukuran kadar NF- κ B dari homogenat jaringan hati diukur dengan menggunakan NF- κ B ELISA Kit dengan metode ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*). Hasil dibaca dalam satuan pg/ml.¹³ Derajat fibrosis hati menggunakan *Metavir scoring system*.¹⁴

Hasil penelitian ini dianalisis menggunakan program analisis statistik, IBM SPSS (*Statistical Products and Service Solutions*) Statistics, version 22.0 for windows. Dalam perhitungan hasil penelitian ini digunakan taraf kepercayaan 95 % ($\alpha = 0,05$).



Gambar 1. Alur penelitian

HASIL

Tabel 1 menunjukkan karakteristik berat badan awal dan akhir tikus selama penelitian. Berdasarkan pada Tabel 1, ditunjukkan bahwa rata-rata BB awal tikus mempunyai p-value sebesar 0,607 ($p > 0,05$), dan rata-rata BB akhir tikus mempunyai p-value sebesar 0,360 ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa BB awal tikus pada semua kelompok tidak berbeda signifikan atau dalam kondisi homogen.

Berdasarkan hasil analisis dengan menggunakan uji ANOVA didapatkan pengaruh yang signifikan pemberian kurkumin dan lama pemberian kurkumin terhadap kadar NF-κB jaringan hati dengan $p < 0,001$. Berdasarkan hasil uji Tukey 5% perbandingan antara kelompok KK9 dengan KP9, menunjukkan bahwa terjadi penurunan kadar NF-κB yang signifikan terhadap pemberian kurkumin.

Rerata kadar NF-κB jaringan hati kelompok kontrol dan perlakuan secara lengkap ditunjukkan pada Gambar 2. Pada Gambar 2 terlihat bahwa terjadi peningkatan signifikan kadar NF-κB jaringan hati pada kelompok kontrol positif (K-Pos) dibandingkan dengan tikus pada kelompok kontrol negatif (K-Neg). Sedangkan pada kelompok kontrol/regresi spontan (KK), terlihat bahwa rata-rata kadar NF-κB jaringan hati cenderung meningkat

dan sebaliknya pada kelompok perlakuan/regresi spontan dengan kurkumin (KP), rata-rata kadar NF-κB jaringan hati cenderung menurun. Jika dibandingkan berdasarkan lama pemberian kurkumin, terjadi penurunan signifikan kadar NF-κB jaringan hati pada kelompok pemberian kurkumin minggu ke-9 (KP9).

Hasil pengamatan derajat fibrosis hati dilaporkan dalam bentuk skor berdasarkan skor metavir seperti pada Gambar 3. Proporsi derajat fibrosis hati antara kelompok regresi spontan dengan kelompok regresi dengan induksi kurkumin pada masing-masing waktu perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2. Pada Tabel 2 tersebut menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol negatif (K-Neg) paling banyak didapatkan derajat fibrosis F0 dengan proporsi 75% dan F1 sebanyak 25%. Jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (K-Pos) maka didapatkan proporsi derajat fibrosis F3 sebesar 75% dan F1 sebesar 25%. Dari hasil tersebut didapatkan adanya peningkatan derajat fibrosis hati pada kelompok kontrol positif dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Sedangkan, pada semua kelompok regresi dengan kurkumin (KP) secara keseluruhan didapatkan proporsi derajat fibrosis yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok regresi

spontan (KK).

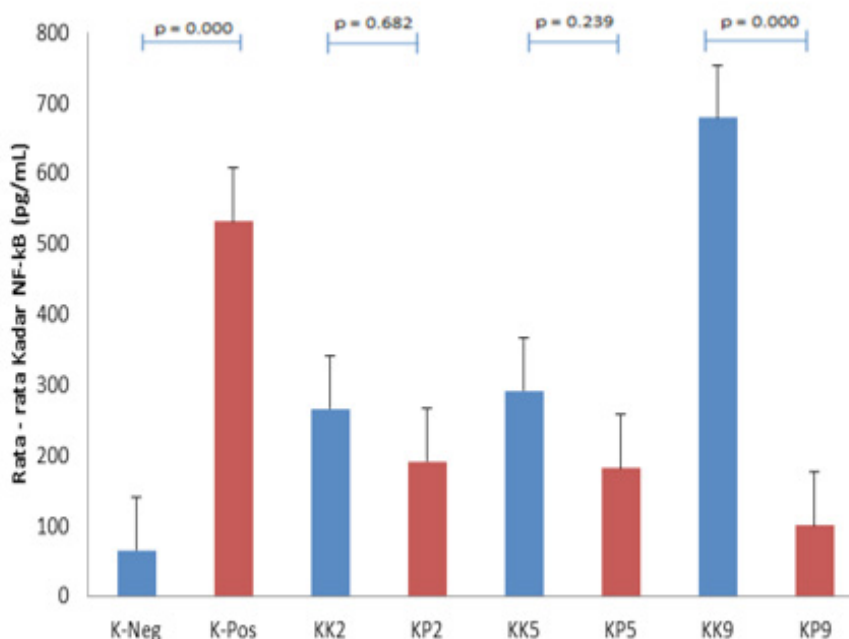
Untuk mengetahui perbandingan penurunan derajat fibrosis antara kelompok regresi spontan dengan kelompok regresi dengan induksi kurkumin dapat dilihat pada kurva dalam Gambar 4. Pada kurva Gambar 4 menunjukkan pada kelompok regresi spontan pada minggu ke-2 terjadi penurunan derajat fibrosis F3 dari 75% menjadi 25% dan pada minggu ke-9 turun menjadi 0%. Sedangkan pada kelompok regresi dengan kurkumin didapatkan penurunan derajat fibrosis F3 mencapai 0% pada minggu ke-2. Sehingga, dapat disimpulkan bahwa pada tikus fibrosis hati saat paparan CCl₄ dihentikan akan terjadi regresi spontan fibrosis hati dan pemberian kurkumin mampu mempercepat terjadinya perbaikan derajat fibrosis hati dibandingkan dengan tanpa pemberian kurkumin.

Untuk mengetahui hubungan antara lama pemberian kurkumin dengan kadar NF- κ B serta derajat fibrosis jaringan hati digunakan model struktural yang dianalisis menggunakan analisis jalur (Gambar 5). Pada model struktural ini dihitung nilai koefisien determinasi untuk pengujian *goodness of fit* model yakni dengan menghitung nilai *predictive relevance*.

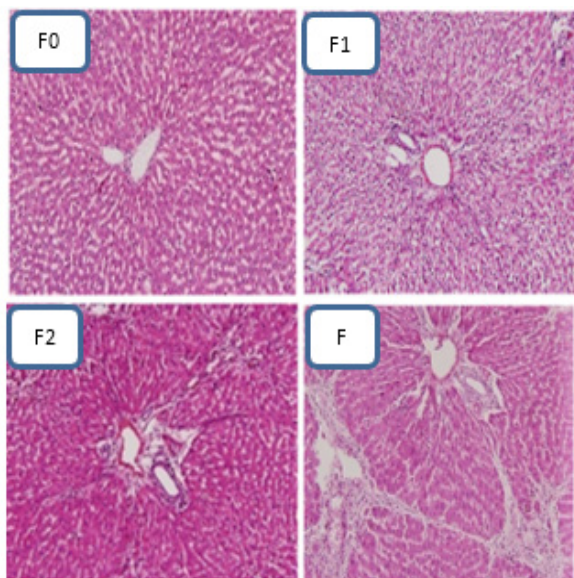
Tabel 1. Karakteristik berat badan tikus

Kelompok	Berat badan (gram), rerata (simpang baku [SB])	
	Awal*	Akhir**
Kontrol negatif	186,25 (25,28)	238,75 (23,75)
Kontrol positif	187,25 (16,21)	257,25 (35,93)
KK2	185 (5,72)	240,5 (11,82)
KP2	181,5 (16,6)	239,25 (18,48)
KK5	178,75 (10,53)	214,5 (31,13)
KP5	177,75 (14,38)	219,25 (39,89)
KK9	188,75 (19,69)	231,75 (64,65)
KP9	167,25 (9,74)	197,75 (20,35)

*nilai $p = 0,607$; **nilai $p = 0,360$. Kelompok perlakuan yang setelah dipapar CCl₄ selama 9 minggu dilanjutkan diberikan kurkumin 200 mg/kgbb/hari selama 2 minggu (KP2), 5 minggu (KP5), dan 9 minggu (KP9). Kelompok kontrol yang setelah diinjeksi CCl₄ selama 9 minggu, diberikan plasebo yaitu pelarut kurkumin karboksimetil selulosa natrium (CMC Na) 1% 1 cc/kgbb selama 2 minggu (KK2), 5 minggu (KK5), dan 9 minggu (KK9).



Gambar 2. Histogram rerata kadar NF- κ B Jaringan hati



Gambar 3. Derajat fibrosis hati. F0 = Inflamasi porta; F1 = Fibrosis porta tanpa septa; F2 = Fibrosis porta dengan sedikit septa; F3 = Terdapat banyak septa tanpa gambaran sirosis. HE 200 kali.

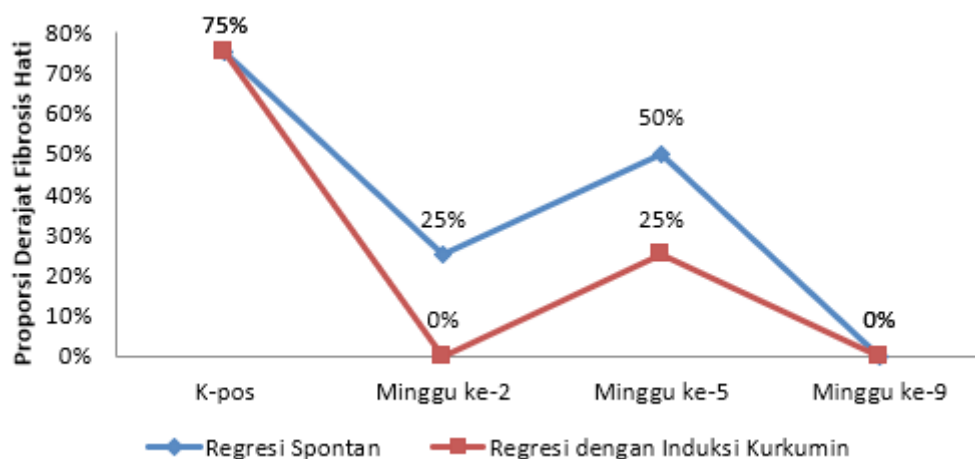
Koefisien determinasi ini digunakan untuk mengetahui seberapa akurat model struktural mampu menjelaskan data yang telah didapatkan. Hasil perhitungan memperlihatkan nilai *predictive-relevance* (Q^2) sebesar 0,741 atau 74,1% yang mempunyai makna bahwa pemberian kurkumin berpengaruh terhadap kadar NF- κ B dan derajat fibrosis hati sebesar 74,1%.

Berdasarkan pada hasil pengujian pengaruh langsung, jalur pengaruh lama pemberian kurkumin terhadap kadar NF- κ B didapatkan koefisien jalur sebesar -0,770 dengan nilai $p < 0,001$. Hal ini menunjukkan bahwa lama pemberian kurkumin memberikan pengaruh langsung signifikan terhadap kadar NF- κ B. Koefisien jalur bernilai negatif mengandung pengertian bahwa pemberian kurkumin yang semakin lama, akan berdampak secara langsung terhadap penurunan kadar NF- κ B.

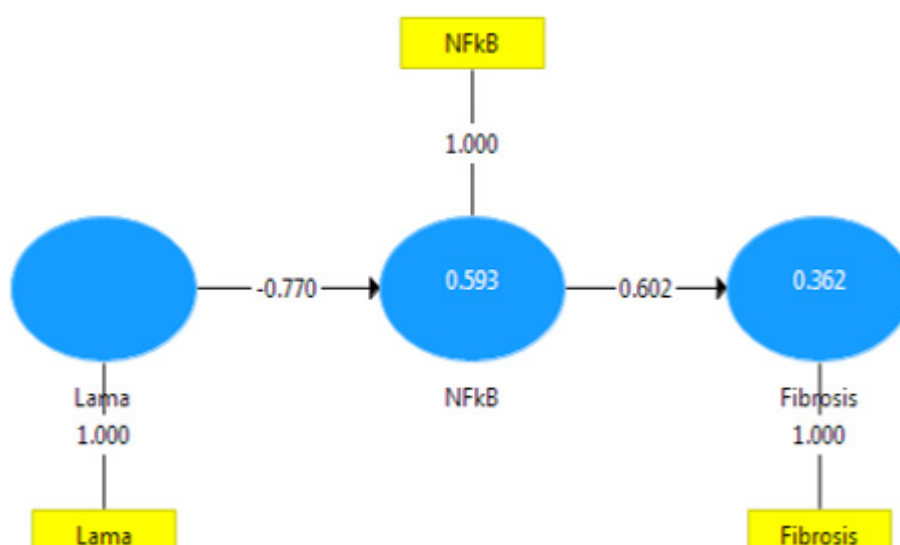
Pada jalur pengaruh kadar NF- κ B terhadap derajat fibrosis didapatkan koefisien jalur sebesar 0,602

Tabel 2. Perbandingan derajat fibrosis hati antara kelompok regresi spontan dengan kelompok regresi dengan induksi kurkumin pada masing-masing waktu perlakuan

Lama waktu perlakuan	Kelompok perlakuan						
	Regresi spontan (KK), n (%)			Regresi dengan induksi kurkumin (KP), n (%)			
	F0	F1	F2	F0	F1	F2	F3
Minggu ke-2	0	0	3 (75)	0	2 (50)	2 (50)	0
Minggu ke-5	0	1 (25)	1 (25)	0	0	3 (75)	1 (25)
Minggu ke-9	1 (25)	3 (75)	0	2 (50)	2 (50)	0	0



Gambar 4. Penurunan derajat fibrosis antara kelompok regresi spontan dan kelompok regresi dengan induksi kurkumin



Gambar 5. Model struktural pengaruh lama pemberian kurkumin terhadap derajat fibrosis jaringan hati dan nilai koefisien jalur pengaruh langsung dan tak langsung

dengan nilai $p < 0,00$. Hal ini menunjukkan bahwa kadar NF- κ B memberikan pengaruh langsung signifikan terhadap derajat fibrosis. Koefisien jalur bernilai positif mengandung pengertian bahwa peningkatan kadar NF- κ B, akan berdampak secara langsung terhadap peningkatan derajat fibrosis.

Pengujian pengaruh tak langsung dari jalur tersebut dilakukan dengan menggunakan *Sobel test* dan didapatkan hasil koefisien jalur sebesar -0,464 dengan nilai $p < 0,001$. Artinya, lama pemberian kurkumin memberikan pengaruh tak langsung secara signifikan terhadap derajat fibrosis.

DISKUSI

Peningkatan Derajat Fibrosis Hati (Fibrogenesis) akibat Paparan CCl₄

Pada penelitian ini digunakan CCl₄ sebagai penginduksi terjadinya fibrosis hati. CCl₄ diberikan selama 9 minggu dengan tujuan membentuk *septal fibrosis* (F3). CCl₄ dimetabolisme oleh sitokrom P450 2E1 untuk membentuk suatu radikal *trichloromethyl* reaktif (CCL³) dan radikal *trichloromethyl peroxy* (CCl₃O₂). Kedua radikal tersebut berikatan dengan DNA (*deoxyribo nucleic acid*), lemak, protein, dan karbohidrat yang menyebabkan terjadinya peroksidasi lemak, nekrosis sel, dan deposisi kolagen di hati. Sel kupffer diaktivasi oleh radikal bebas dan memproduksi mediator proinflamasi, menyebabkan terpicunya kaskade inflamasi.^{15,16}

Sesuai dengan dasar penelitian tersebut, setelah

pemberian injeksi CCl₄ intraperitoneal selama 9 minggu, dari hasil pemeriksaan pewarnaan *Hematoxyllin eosin* menunjukkan terbentuknya fibrosis F3 pada kelompok K-Pos. Sedangkan pada kelompok K-Neg yang diberikan injeksi normal saline, terbentuk fibrosis F0. Munculnya fibrosis hati berkaitan dengan polimorfisme pada gen yang mengkode berbagai faktor pada fibrogenesis, seperti TGF β -1 (*tumor growth factor β -1*), CTGF (*connective tissue growth factor*), MMP-3 (*matrix metalloproteinase-3*), dan NF- κ B.¹⁷

Peningkatan Kadar NF- κ B pada Tikus Fibrosis Hati

Nuclear factor kappa B (NF- κ B) memodulasi fibrogenesis hati terutama di tiga kompartemen sel yang berbeda: (A) mengatur injuri hepatosit, yang merupakan pemicu utama respons fibrogenik di hati; (B) mengatur sinyal inflamasi yang muncul pada makrofag dan sel-sel inflamasi lainnya di hati; dan (C) mengatur respons fibrogenik pada HSC.¹⁸ Paparan CCl₄ akan memicu terjadinya peroksidasi lemak mengakibatkan injuri dan kerusakan pada sel hepatosit hepar.¹⁵ Kerusakan dan injuri pada hati akan mengaktifkan NF- κ B melalui fosforilasi yang dimediasi oleh IKK (*I κ B kinase*) dan degradasi molekul penghambat, seperti I κ B α dan fosforilasi subunit p65 NF- κ B. NF- κ B yang diaktifkan kemudian ditranslokasikan ke dalam nukleus yang mengikat sekuens spesifik DNA untuk mengatur beberapa ekspresi gen inflamasi.¹⁹ Selain itu, terdapat peran dari NF- κ B sel stelata hepatik. NF- κ B HSC mengatur tiga aspek utama yaitu aktivasi, kelangsungan

hidup, dan respons inflamasi. Aktivasi NF- κ B memegang peranan penting dalam jalur sinyal profibrogenik dalam respons terhadap aktivasi LPS (lipopolisakarida) *mediated TLR4 (Toll-like receptor 4)* seperti *downregulation* TGF β pseudoreseptor BAMBI, menyebabkan peningkatan sinyal TGF β dan aktivasi HSC.¹¹

Berdasarkan penelitian tersebut, setelah adanya paparan CCl₄ maka terjadi peningkatan kadar NF- κ B yang signifikan. Selain itu, terdapat peran dari aktivasi NF- κ B sel kupffer setelah paparan CCl₄ yang memicu sitokin-sitokin inflamasi seperti TNF- α (*Tumor necrosing factor- α*), IL-1 β (*Interleukin-1 β*), kemokin seperti MCP-1 (*Monocytes chemoattractant protein-1*) yang dapat menyebabkan akumulasi lipid sehingga terjadi apoptosis dari hepatosit dan kemokin sendiri akan menyebabkan aktivasi dari HSC.²⁰

Proses Regresi Fibrosis Hati yang Terjadi Setelah Paparan CCl₄ Dihentikan

Beberapa penelitian membuktikan bahwa fibrosis bersifat reversibel, seperti penelitian yang dilakukan oleh Pockros, dkk.²¹ yang melaporkan bahwa terdapat gambaran penurunan derajat fibrosis hati pada pasien hepatitis kronis yang berhasil dengan pengobatan *direct acting antiviral (DAA)*.

Sebuah penelitian dengan menggunakan tikus model fibrosis yang diinduksi CCl₄ selama 4 minggu setiap 2 kali seminggu, kemudian dilakukan pengamatan pada hari ke 3, 7, dan 28 setelah pemberian CCl₄ dihentikan. Hasilnya didapatkan resolusi spontan terjadi pada hari ke-28 (4 minggu). Pada studi tersebut menunjukkan bahwa apoptosis dari *activated HSC* sangat berperan penting dalam resolusi spontan fibrosis hati.²²

Perubahan Kadar NF- κ B Saat Terjadinya Proses Regresi Fibrosis Hati

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa hambatan terhadap sinyal NF- κ B meningkatkan apoptosis miofibroblas hati dan resolusi fibrosis pada model hewan pengerat. Miofibroblas hati (*HMF/hepatic myofibroblast*), yang berasal dari HSC, merupakan mediator kunci dari proses fibrotik.²³⁻²⁵

Regresi fibrosis dikaitkan dengan apoptosis HMF yang secara efektif menghilangkan sel utama yang berperan dalam menghasilkan dan menjaga kelangsungan matriks fibrotik. Salah satu penelitian tentang pemberian senyawa TAT-I κ B α pada tikus membuktikan bahwa hambatan terhadap persinyalan NF- κ B melalui ekspresi JNK akan memicu kematian sel HMF pada tikus dan manusia yang dihubungkan dengan resolusi fibrosis hati

pada model tikus percobaan.²⁶ Berdasarkan penelitian tersebut memberikan dasar bahwa terjadinya proses regresi fibrosis hati berhubungan dengan kadar NF- κ B, dimana penurunan kadar NF- κ B berhubungan erat dengan terjadinya perbaikan derajat fibrosis.

Pada penelitian ini didapatkan kecenderungan kadar NF- κ B yang semakin meningkat pada kelompok regresi spontan (KK-2, KK-5, dan KK-9). Hal ini dapat disebabkan karena bahan pemeriksaan yang didapatkan berasal dari jaringan homogenat hati yang tidak spesifik menggambarkan sumber NF- κ B yang diukur. NF- κ B di jaringan hati sendiri terdapat di sel hepatosit, sel kupffer, dan sel stelata hepatik dengan respons yang berbeda-beda jika terdapat suatu injuri atau kerusakan pada hati.¹¹ *Nuclear factor kappa B (NF- κ B)* di sel hepatosit mempunyai peranan dalam pencegahan kematian sel hepatosit akibat suatu paparan bahan-bahan yang menyebabkan kerusakan atau injuri pada hati. Aktivasi NF- κ B akan melindungi hepatosit dari apoptosis yang diinduksi oleh TNF- α .^{27,9} Dengan demikian, NF- κ B pada hepatosit mempunyai peran yang berbeda dengan NF- κ B pada sel kupffer dan sel stelata hepatik pada saat adanya injuri atau kerusakan sel hati.

Pemberian Kurkumin dalam Menurunkan Kadar NF- κ B

Kurkumin telah banyak terbukti memiliki efek antioksidan dalam berbagai mekanisme dan salah satunya adalah melalui penghambatan aktivasi NF- κ B. Dalam sebuah penelitian, serangkaian analog kurkumin dievaluasi untuk menilai kemampuannya dalam menghambat aktivasi NF- κ B. Tes EMSA (*electrophoretic mobility shift assay*) dengan jelas menunjukkan bahwa satu analog kurkumin baru, BAT3, adalah penghambat NF- κ B yang paling poten. Eksperimen imunofluoresensi menunjukkan bahwa molekul ini dapat mengganggu pengikatan NF- κ B/DNA atau transaktivasi, terlepas dari regulasi IKK2 dan translokasi NF- κ B. Kurkumin menurunkan dan mengatur aktivasi NF- κ B yang diinduksi oleh promotor tumor meliputi ester phorbol, TNF- α , dan H₂O₂ (hidrogen peroksida). Kurkumin juga dapat menghambat sinyal Akt/NF- κ B melalui *demethylation* CpG pada promotor dan pembentukan kembali NEP (*neprilysin*) di garis sel N2a. Kurkumin mempunyai efek antiinflamasi dan *growth-inhibitory* sel melalui penghambatan jalur NF- κ B dan MAPK (*mitogen activated protein kinase*) yang merupakan dua molekul kunci untuk jalur persinyalan kelangsungan hidup sel. Dengan penghambatan kemampuan mengikat DNA NF- κ B, pemberian kurkumin menyebabkan turunnya ekspresi IL-18, dan kurkumin juga menghambat stimulasi ekstraselular protein kinase Akt, yang berkorelasi dengan

penurunan regulasi dari target NF- κ B termasuk COX-2 (*Cyclooxygenase-2*) dan MMP-9. Selanjutnya, hambatan pada jalur JNK/Akt akan menurunkan aktivitas IKK α/β dan pada akhirnya akan menurunkan ekspresi gen-gen pro inflamasi.⁹

Penelitian dari Samuhasaneeto, dkk.²⁸ menunjukkan bahwa pemberian kurkumin dengan dosis 400–1200 mg per oral selama 4 minggu mampu menurunkan kadar MDA hati dan menghambat aktivasi NF- κ B dan pada dosis yang lebih rendah mampu mencegah apoptosis hepatosit.²⁸ Penelitian lain oleh Reyes, dkk.¹³ membuktikan bahwa kurkumin yang diberikan dengan dosis 200 mg mampu mencegah translokasi NF- κ B ke dalam nukleus dengan ditandai penurunan aktivitas ikatan DNA NF- κ B.

Pemberian Kurkumin dalam Memperbaiki Derajat Fibrosis

Kurkumin mempunyai peran sebagai antifibrosis, beberapa di antaranya melalui mekanisme menurunkan ekspresi dari mediator proinflamasi seperti TNF- α , interleukin-6 (IL-6) dan MCP-1 melalui penurunan regulasi dari *high mobility group box-1 protein* (HMGB1), ekspresi TLR4 and TLR2 pada tikus yang diinduksi dengan CCl₄. Kurkumin juga mengurangi kerusakan fibrosis hati akibat CCl₄ melalui penghambatan jalur TGF- β 1/SMAD dan ekspresi CTGF. Selain itu, penurunan angiogenesis sinusoid dan kapilarisasi melalui aktivitas PPAR (*peroxisome proliferator activated receptor*) dalam hal mencegah fibrosis hati dan fungsi kurkumin lainnya juga menginduksi aktivitas PPAR γ di dalam aHSC yang diperlukan untuk menurunkan proliferasi sel, menginduksi apoptosis, dan menekan matriks ekstraseluler.²⁹

Kurkumin dapat bekerja sebagai penangkap dan penangkal radikal bebas melalui banyak jalur yang kompleks. Salah satunya adalah melalui aktivitas atom hidrogen, dari kelompok fenol (OH). Kurkumin menginaktivasi NF- κ B, suatu faktor transkripsi yang penting dalam mengatur aktivitas seluler, khususnya yang berkaitan dengan stres dan injuri. Inaktivasi NF- κ B pada gilirannya menyebabkan berkurangnya ekspresi COX-2.²⁹

Penelitian dari Zhang, dkk.³⁰ menunjukkan bahwa pemberian kurkumin dengan dosis 100, 200, dan 400 mg selama 3 minggu dapat memperbaiki keparahan fibrosis hati dengan mekanisme penghambatan aktivasi sel stelata hepatik. Kurkumin dapat mengurangi angiogenesis sinusoidal sel stelata hepatik dengan menghambat jalur PDGF- β R/ERK (*platelet derived growth factor- β receptor/extracellular signal regulated kinase*) dan mTOR (*mammalian target of rapamycin*) yang mampu mengurangi ekspresi VEGF (*vascular endothelial growth*

factor) sehingga terjadi penurunan vaskularisasi, motilitas, dan invasi sel stelata hepatik. Selain itu kurkumin mampu mengaktifasi PPAR- γ yang juga dapat menghambat angiogenesis pada sel stelata hepatik.³⁰ Penelitian lainnya dari Reyes, dkk.³¹ pada tahun 2008 membuktikan bahwa pemberian kurkumin 100 mg selama 8 minggu mampu menghambat sitokin pro inflamasi terutama TGF- β dan menghambat terjadinya stres oksidatif dan memperbaiki fibrosis hati. Penelitian oleh Zhao, dkk.³² menunjukkan bahwa pemberian kurkumin dengan dosis 400–1200 mg selama 6 minggu pada tikus fibrosis akibat paparan CCl₄ mempunyai efek antifibrotik dengan mekanisme menghambat proliferasi sel dan penekanan terhadap ekspresi Col III dan gen α -SMA (α -smooth muscle actin) serta menghambat HIF-1 α (*hypoxia-inducible factor*) melalui jalur *dependent-ERK*.

Pemberian Kurkumin dalam Menurunkan Kadar NF- κ B dan Penurunan Kadar NF- κ B Berhubungan dengan Perbaikan Derajat Fibrosis

Berdasarkan penelitian–penelitian yang sudah ada, dilaporkan bahwa NF- κ B berperan dalam terjadinya proses fibrosis hati. *Nuclear factor kappa B* (NF- κ B) mengontrol ekspresi gen yang memengaruhi proses penting dalam sel seperti transformasi sel, proliferasi, kelangsungan hidup sel, invasi sel, metastasis, adesi, angiogenesis, dan apoptosis.³³ Ketika terdapat paparan yang bersifat hepatotoksik, maka akan terjadi injuri dan kerusakan hati. Injuri dan kerusakan hati ini disebabkan salah satunya karena adanya aktivasi NF- κ B yang mengatur gen-gen inflamasi seperti COX 2, IL-6, IL-8, IL-1, dan TNF- α . Selain itu, di dalam NF- κ B HSC meningkatkan aktivasi dan kelangsungan hidup HSC yang mengakibatkan peningkatan jumlah HSC yang teraktivasi di hati dan peningkatan produksi protein matriks ekstraseluler dalam jumlah besar secara berlebihan, terutama kolagen tipe I dan tipe III yang menyebabkan fibrosis.⁵

Kurkumin berfungsi sebagai agen antifibrotik tidak hanya melalui hambatan terhadap aktivasi NF- κ B namun juga melalui perannya sebagai antiinflamasi dan antioksidan. Kurkumin dapat menekan jalur pro-inflamasi yang terkait dengan sebagian besar penyakit kronis dan menghambat produksi TNF serta persinyalan sel yang diperantarai oleh TNF di berbagai jenis sel. Kurkumin juga bisa menjadi penghambat TNF dari penelitian *in vitro* dan *in vivo* dengan mengikat TNF secara langsung. Kurkumin secara tidak langsung mempunyai peran sebagai antifibrotik selain melalui jalur hambatan dan penurunan terhadap aktivasi NF- κ B juga dapat melalui jalur yang lain sebagai antiinflamasi dengan menghambat COX 2 dan

berfungsi sebagai penangkap radikal bebas alami.³⁵⁻³⁷ Dengan demikian, pemberian kurkumin secara langsung dapat menurunkan kadar NF- κ B melalui mekanisme yang telah dijelaskan di atas dan penurunan kadar NF- κ B sejalan dengan penurunan derajat fibrosis hati.

Hasil dari penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai peranan kurkumin dalam penatalaksanaan fibrosis hati secara klinis pada manusia. Selain itu, pengukuran kadar NF- κ B dapat digunakan sebagai *biomarker* untuk menilai perbaikan maupun perburukan fibrosis hati. Namun, perlu diperhatikan kemungkinan munculnya efek samping dari pemberian kurkumin.

Penelitian ini mempunyai keterbatasan dalam pengukuran *marker* NF- κ B yang mana belum menggunakan teknik imunohistokimia sehingga belum dapat menentukan kadar NF- κ B masing-masing sel di hepar. Selain itu, dosis kurkumin yang digunakan belum bervariasi sehingga tidak ada perbandingan dosis yang efektif dalam memperbaiki derajat fibrosis hati.

SIMPULAN

Pada tikus fibrosis hati terdapat peningkatan kadar NF- κ B jaringan hati dan derajat fibrosis hati. Proses regresi fibrosis hati terjadi saat paparan CCl₄ dihentikan. Pemberian kurkumin dapat mempercepat penurunan kadar NF- κ B dan derajat fibrosis hati. Lama pemberian kurkumin berkorelasi dengan penurunan kadar NF- κ B dan penurunan kadar NF- κ B berkorelasi dengan penurunan derajat fibrosis hati.

DAFTAR PUSTAKA

- Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest*. 2005 Feb;115(2):209-18.
- Zhang CY, Yuan WG, He P, Lei JH, Wang CX. Liver fibrosis and hepatic stellate cells: etiology, pathological hallmarks and therapeutic targets. *World J Gastroenterol*. 2016;22(48):10512-22.
- Arthur MJP. Mechanisms of progression and regression of liver fibrosis. *Liver Cirrhosis*. 2001;2001:1-9.
- Gilmore, TD. Review Introduction to NF- κ B: players, pathways, perspectives. *Oncogene*. 2006;25:6680-4.
- Miura K, Kodama Y, Inokuchi S. Toll-like receptor 9 promotes steatohepatitis via induction of interleukin-1 β in mice. *Gastroenterology*. 2010;139(1):323-34.
- Elsharkawy AM, Wright MC, Hay RT, Arthur MJ, Hughes T, Bahr MJ, et al. Persistent activation of nuclear factor- κ B in cultured rat hepatic stellate cells involves the induction of potentially novel Rel-like factors and prolonged changes in the expression of IkappaB family proteins. *Hepatology*. 1999;30:761-9.
- Yan He ,Yue Y, Zheng X, Zhang K ,Chen S Du Z. Curcumin, inflammation, and chronic diseases: how are they linked? *Molecules*. 2015;20:9183-213.
- Dulbecco P, Savarino V. Therapeutic potential of curcumin in digestive diseases. *World J Gastroenterol*. 2013;19(48):9256-70.
- Papa S, Bubici C, Zazzeroni F. Mechanisms of liver disease: the crosstalk between the NF- κ B and JNK pathways. *Biol Chem*. 2009;390(10):965-76.
- Chih-Li L, Jen-Kun L. Review article curcumin: a potential cancer chemopreventive agent through suppressing NF- κ B signaling. *J Cancer Mol*. 2008;4(1):11-6.
- Luedde T, Schwabe RF. NF- κ B in the liver-linking injury, fibrosis and hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2011;8(2):108-18.
- Shehzad A, Lee YS. Review article molecular mechanisms of curcumin action: Signal Transduction. *Biofactors*. 2013;39(1):27-36.
- Reyes-Gordillo K, Segovia J, Shibayama M, Vergara P, Moreno MG, Muriel P. Curcumin protects against acute liver damage in the rat by inhibiting NF- κ B, proinflammatory cytokines production and oxidative stress. *Biochim Biophys Acta*. 2007;1770:989-96.
- Shuhart MC. Evaluation and staging of liver fibrosis. *Hepatitis C*. 2016;2016:1-21.
- Boll M, Weber LW, Becker E, Stampfl A. Mechanism of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. hepatocellular damage by reactive carbon tetrachloride metabolites. *Z Naturforsch C*. 2001;56(7-8):649-59.
- Panjaitan RGP, Handharyani E, Chairul, Masriani, Zakiah Z, Manalu W. Pengaruh pemberian karbon tetraklorida terhadap fungsi hati dan ginjal tikus. *Makara Kesehatan*. 2007;11(1):11-6.
- Solis-Herruzo JA, Solis-Munoz P. Genetic factors in non-alcoholic fatty liver disease. *Rev Esp Enferm Dig*. 2008;100(4):195-201.
- Duffield JS, Forbes SJ, Constandinou CM, Clay S, Partolina M, Vuthoori S. Selective depletion of macrophages reveals distinct, opposing roles during liver injury and repair. *J Clin Invest*. 2005;115(1):56-65.
- Chang L, Kamata H, Solinas G, Luo JL, Maeda S, Venuprasad K, et al. The E3 ubiquitin ligase itch couples JNK activation to TNF α -induced cell death by inducing c-FLIP(L) turnover. *Cell*. 2006;124:601-613.
- Miura K, Seki E, Ohnishi H, Brenner DA. Role of Toll-Like Receptor and their downstream molecules in the development of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterol Res Pract*. 2010;2010:362847.
- Pockros P, Crissien-Martinez AM, Frenette C, Skillin C, Bao F, Du E, et al. Degree of liver fibrosis regression predicted by transient elastography after cure of chronic hepatitis C with direct acting antivirals is overestimated but confirmed by liver biopsy. *J Hepatol*. 2017;66(Suppl1):S108.
- Iredale JP, Benyon RC, Pickering J, McCullen M, Northrop M, Pawley S, et al. Mechanisms of spontaneous resolution of rat liver fibrosis hepatic stellate cell apoptosis and reduced hepatic expression of metalloproteinase inhibitors. *J Clinical Invest*. 1998;102(3):538-49.
- Poynard T, McHutchison J, Manns M, Trepo C, Lindsay K, Goodman Z, et al. Impact of pegylated interferon alfa-2b and ribavirin on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2002;122:1303-13.
- Dufour JF, DeLellis R, Kaplan MM. Reversibility of hepatic fibrosis in autoimmune hepatitis. *Ann Intern Med*. 1997;127:981-5.
- Malekzadeh R, Mohamadnejad M, Nasser-Moghaddam S, Rakhshani N, Tavangar SM, Sohrabpour AA, et al. Reversibility of cirrhosis in autoimmune hepatitis. *Am J Med*. 2004;117: 125-9.
- Ramachandran P, Iredale JP, Fallowfield JA. Resolution of liver fibrosis: basic mechanisms and clinical relevance. *Semin Liver Dis*. 2015;35:119-31.
- Wullaert A, van Loo G, Heynincx K, Beyaert R. Hepatic tumor necrosis factor signaling and nuclear factor- κ B: effects on liver homeostasis and beyond. *Endocr Rev*. 2007;28:365-86.
- Samuhasaneeto S, Thong-Ngam D, Kulaputana O, Suyasunanont D, Klaikeaw N. Curcumin decreased oxidative stress, inhibited NF- κ B activation, and improved liver pathology in ethanol-induced liver injury in rats. *J Biomed Biotechnol*. 2009;2009:981963.
- Ravichandran R. Pharmacokinetic Study of Nanoparticulate Curcumin: Oral Formulation for Enhanced Bioavailability. *J Biomaterials Nanobiotechnology*. 2013;20(4):291-9.
- Zhang F, Zhang Z, Chen L, Kong D, Zhang X, Lu C, et al. Curcumin attenuates angiogenesis in liver fibrosis and inhibits angiogenic properties of hepatic stellate cells. *J Cell Mol Med*. 2014;18(7):1392-406.
- Reyes-Gordillo K, Segovia J, Shibayama M, Tsutsumi V, Vergara P, Moreno MG, et al. Curcumin prevents and reverses cirrhosis

- induced by bile duct obstruction or CCl₄ in rats: Role of TGF- β modulation and oxidative stress. *Fundam Clin Pharmacol*. 2008;22:417–27.
32. Zhao Y, Ma X, Wang J, He X, Hu Y, Zhang P, et al. Curcumin Protects against CCl₄-Induced Liver Fibrosis in Rats by Inhibiting HIF-1 α Through an ERK-Dependent Pathway. *Molecules*. 2014;19:18767-80.
 33. Aggarwal B.B, Young-Joon S, Shishodia. *The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease*. New York City: Springer; 2007. p:128-38.
 34. Chang NS, Joki N, Mattison J, Dinh T, John S. Characterization of serum adhesive proteins that block tumor necrosis factor-mediated cell death. *Cell Death Differ*. 1997;4:779-86.
 35. Anthwal A, Thakur BK, Rawat MS, Rawat DS, Tyagi AK, Aggarwal BB. Synthesis, characterization and *in vitro* anticancer activity of C-5 curcumin analogues with potential to inhibit TNF- α -induced NF- κ B activation. *Biomed Res Int*. 2014;2014:524161.
 36. Gupta SC, Tyagi AK, Deshmukh-Taskar P, Hinojosa M, Prasad S, Aggarwal BB. Downregulation of tumor necrosis factor and other proinflammatory biomarkers by polyphenols. *Arch Biochem Biophys*. 2014;559:91–9.
 37. Giordano S, Darley UV, Zhang J. Autophagy as an essential cellular antioxidant pathway in neurodegenerative disease. *Redox Biol*. 2013;2:82–90.