

**PENELITIAN**

**PENGARUH SIMVASTATIN TERHADAP KAPASITAS FAGOSITOSIS  
MAKROFAG PADA MENCIT *BALB/C* YANG DIBERI  
LIPOPOLISAKHARIDA**

Sherliyanah Harahap\*, Heru Dwi Jatmiko\*\*, Mohamad Sofyan Harahap\*\*

\*Bagian Anestesiologi RSUD Mataram, Lombok

\*\*Bagian Anestesiologi dan Terapi Intensif FK Undip/ RSUP Dr. Kariadi, Semarang

**ABSTRACT**

**Background:** Simvastatin is included in a group of medicine called hydroxy methyl glutaryl (HMG Co) reductase inhibitors or statin. The effect of simvastatin on TNF-alpha neutralizing antibody is that statin (3-hydroxy-3-methylglutaryl) coenzyme reductase inhibitors has the pleiotropic actions effect that can improve the survival of sepsis patients.

**Objective:** To prove the effect of simvastatin administration 0.03 mg, 0.06 mg and 0.12 mg PO on LPS intraperitoneal injected mice to the decrease of intraperitoneal macrophages' phagocytosis capacity.

**Methods:** Experimental design research on post test only control group. The samples were 20 male mice type balb/c. Mice are divided into 4 groups, consisted of control group (without simvastatin injection), treatment group 1,2,3 consecutively administered simvastatin 0.03 mg; 0.06 mg; and 0.12 mg PO respectively. Initially these groups were injected intraperitoneal lipopolysaccharida 20 mg/kg.

**Results:** The mean capacity of macrophages' phagocytosis for each groups: Control =  $44,40 \pm 3,97$ ; K 1 =  $37,80 \pm 2,86$ ; K 2 =  $31,20 \pm 1,30$ ; K 3 =  $2,00 \pm 4,30$ . The results of statistical tests between groups were shown significant differences between K1 with K3 and K4, between K2 with K3 and K4 ( $p < 0,05$ ). There were no significant differences between K1 dan K2, and between K3 and K4 ( $p > 0.005$ ).

**Conclusion:** The administration of simvastatin 0.03 mg, 0.06 mg and 0,12 mg PO show significant differences on the intraperitoneal macrophages' phagocytosis capacity compared to the control group of mice with lipopolisakarida injection.

**Keywords:** Simvastatin, lipopolisakarida, macrophages' phagocytosis.

**ABSTRAK**

**Latar Belakang :** Simvastatin merupakan grup obat yang disebut sebagai hydroxy methyl glutaryl (HMG Co) reductase inhibitors). Efek simvastatin terhadap TNF-alpha neutralizing antibody bahwa Statins (3-hydroxy-3-methylglutaryl) coenzyme reductase inhibitors memiliki efek pleiotropic actions, yang mampu memperbaiki survival penderita sepsis.

**Tujuan :** Membuktikan efek pemberian simvastatin 0,03 mg, 0,06 mg dan 0,12 mg peroral pada mencit yang diberi LPS intraperitoneal terhadap penurunan kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal.

**Metode :** Penelitian eksperimental desain the post test only controlgroup. Sampel penelitian 20 ekor mencit balb/c jantan. Mencit dibagi dalam 4 kelompok, yaitu kelompok Kontrol (tidak diberi simvastatin), kelompok Perlakuan 1,2,3 berturut-turut diberi simvastatin 0,03 mg; 0,06 mg; dan 0,12 mg peroral. Sebelumnya masing-masing kelompok disuntikkan lipopolisakarida 10 mg/kgBB intraperitoneal.

**Hasil :** Rerata kapasitas fagositosis makrofag untuk masing-masing kelompok : Kontrol =  $44,40 \pm 3,97$ ; Perlakuan 1 =  $37,80 \pm 2,86$ ; Perlakuan 2 =  $31,20 \pm 1,30$ ; Perlakuan 3 =  $23,00 \pm 4,30$ . Hasil uji statistik antar kelompok didapatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok K1 dengan K3 dan K4, antara K2 dengan K3 dan K4 ( $p < 0,05$ ). Tidak terdapat perbedaan bermakna antara K1 dan K2, serta K3 dan K4. ( $p > 0,05$ ).

**Kesimpulan :** Pemberian simvastatin dosis 0,06 mg dan 0,12 mg peroral menunjukkan perbedaan bermakna pada penurunan kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal dibanding kontrol pada mencit yang diberi lipopolisakarida.

**Kata kunci :** Simvastatin, lipopolisakarida, fagositosis makrofag.

## PENDAHULUAN

Simvastatin merupakan grup obat yang disebut dengan *hydroxy methyl glutaryl (HMG Co) reductase inhibitors* atau statin. Obat ini digunakan untuk mengurangi kolesterol *low-density lipoprotein* (LDL) dan trigliserid dalam darah, serta meningkatkan kadar kolesterol *high-density lipoprotein* (HDL).<sup>1</sup>

Statin mempunyai kemampuan dapat mengurangi kadar kolesterol, tetapi berdasarkan laporan penelitian Su Zhang menyatakan bahwa obat ini mempunyai peran penting dalam pengurangan kerusakan paru-paru akibat sepsis dan infeksi.<sup>2</sup>

Penelitian Yasuda menyatakan bahwa efek simvastatin dan *TNF-alpha neutralizing antibody* telah diteliti pada hewan yang disertai sepsis. Statins (3-hydroxy-3-methylglutaryl) *coenzyme reductase*

*inhibitors* memiliki efek *pleiotropic actions*, dimana obat ini mampu memperbaiki *survival* penderita sepsis atau penderita dengan penyakit infeksi dengan cara memperbaiki *cecal ligation and puncture* (CLP) pada mediator inflamasi sehingga mengurangi kerusakan pada organ yang dapat memicu terjadinya kematian.<sup>3</sup>

Bahan penyebab syok sepsis yaitu lipopolisakarida (LPS) merupakan struktur utama dinding sel bakteri gram negatif yang berfungsi untuk integritas struktur bakteri dan melindungi bakteri dari sistem pertahanan imun *hospes*. Zat ini bersifat endotoksin yang menginduksi produksi sitokin proinflamatori seperti interleukin-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ), IL-1 $\beta$ , IL-6, *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) dan prostaglandin (PGE2).<sup>4</sup> LPS ini mengikat reseptor CD14/ *Toll-like receptor-4* (TLR4) yang

mengakibatkan sekresi sitokin proinflamatori dari beberapa tipe sel. CD14 merupakan reseptor permukaan sel pada makrofag dan monosit untuk karbohidrat.<sup>5</sup>

Makrofag adalah sel darah putih yang berada didalam jaringan. Monosit dan makrofag adalah fagosit yang bertindak pada pertahanan non spesifik (kekebalan bawaan) serta membantu memulai mekanisme pertahanan spesifik (kekebalan adaptif) dari *host*. Peran makrofag adalah fagositosis, menelan dan mencerna puing-puing selular dan patogen, merangsang limfosit dan sel kekebalan lainnya untuk merespon patogen. Makrofag dapat diidentifikasi dengan cara menilai ekspresi tertentu dari sejumlah protein, termasuk CD14, CD11b, F4/80 (tikus)/ EMR1 (manusia), lisozim M, MAC-1/MAC-3 dan CD68 dengan sitometri atau pewarnaan imunohistokimia bergerak dengan aksi gerakan *amoeboid*.<sup>6,7</sup>

Makrofag adalah fagosit yang paling efisien, dan bisa mencerna sejumlah besar bakteri atau sel lainnya. Pengikatan molekul bakteri ke reseptor permukaan makrofag memicu proses penelanan dan penghancuran bakteri melalui "[serangan respiratori](#)", menyebabkan pelepasan [bahan oksigen reaktif](#). Patogen juga menstimulasi makrofag untuk menghasilkan kemokin, yang merekrut sel fagosit lain di sekitar wilayah terinfeksi dan makrofag tidak teraktivasi oleh stimulasi sejumlah [sitokin](#) seperti [TNF \$\alpha\$](#) , [IL-1 \$\beta\$](#) , [IL-15](#) dan [IL-8](#).<sup>6</sup>

Pemberian simvastatin 40 mg pada penelitian Yasuda menyatakan dapat

memperbaiki syok sepsis dan kematian akibat *acute kidney injury* (AKI).<sup>3</sup> Merx, menyatakan simvastatin sangat bermanfaat pada pengobatan dislipidemi dan penyakit jantung koroner serta memiliki efek dalam pengobatan sepsis dengan menurunkan aktivitas monosit.<sup>8</sup> Victor, dalam penelitiannya menyatakan simvastatin dapat mencegah dan mengobati sepsis.<sup>9</sup> Marc dkk dalam penelitiannya menyatakan statin merupakan terapi sepsis yang aman pada penderita dislipidemi dan penyakit jantung koroner dengan menganalisis konsentrasi IL-6 plasma.<sup>10</sup>

Pemberian LPS pada penelitian ini dilakukan terhadap mencit dengan penyuntikan intraperitoneal karena pada intraperitoneal terdapat banyak makrofag. LPS yang disuntikkan akan merangsang makrofag untuk menghasilkan sitokin proinflamasi seperti TNF, IL-1, dan IL-6 yang akan meyebabkan syok septik.<sup>11</sup>

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian simvastatin terhadap kapasitas fagositosis makrofag pada mencit dengan dosis 10 mg, 20 mg dan 40 mg yang kemudian dikonversikan ke dalam dosis mencit menjadi 0,03 mg, 0,06 mg dan 0,12 mg.

## METODE

Penelitian ini termasuk eksperimental laboratorik dengan desain *post test only control group* dengan tujuan mencari pengaruh pemberian simvastatin peroral pada mencit yang diberi lipopolisakarida intraperitoneal terhadap kapasitas fagositosis makrofag. Sampel penelitian

20 ekor mencit balb/c jantan, umur 8 - 10 minggu, berat 20 - 30 gram, sehat dan tidak tampak cacat secara anatomi.

Mencit dibagi dalam 4 kelompok perlakuan, sehingga total jumlah sampel 20 ekor mencit balb/c. Sampel yang memenuhi kriteria inklusi diadaptasikan dengan dikandangkan per kelompok dan diberi pakan standar serta minum yang sama selama 1 minggu secara *ad libitum*.

Setelah ditunggu selama 6 jam kemudian dilakukan pengambilan dan kultur makrofag intraperitoneal. Selanjutnya dilihat kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal dibawah mikroskop.

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer hasil pemeriksaan kapasitas fagositosis makrofag yang dinyatakan dengan jumlah makrofag yang memfagosit partikel latex dalam 100 makrofag yang diperiksa dengan mikroskop cahaya.

## HASIL

Penelitian ini menggunakan 20 ekor mencit Balb/c jantan, dari keturunan murni berumur dua setengah bulan dan berat badan 20-40 gram. Penelitian menggunakan 4 kelompok yaitu kelompok kontrol (K1) terdiri dari 5 ekor mencit yang diberikan perlakuan LPS intraperitoneal 10 mg/kgBB. Kelompok perlakuan 1 (K2), kelompok perlakuan 2 (K3) dan kelompok perlakuan 3 (K4) masing-masing terdiri 5 ekor mencit mendapatkan perlakuan LPS intraperitoneal 10 mg/kgBB dan simvastatin peroral (0,03 mg, 0,06 mg dan 0,12 mg).

Subyek penelitian dilakukan pemeriksaan kemampuan fagositosis makrofag dengan menggunakan partikel *latex* yang difagositosis makrofag dalam 100 makrofag pada cairan peritoneum mencit. Data penghitungan kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal tercantum pada Tabel 1.

Hasil pengamatan rerata kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal pada keempat kelompok menunjukkan kapasitas fagositosis makrofag yang berbeda yaitu pada kelompok perlakuan 1 (K2) menunjukkan kemampuan kapasitas fagositosis makrofag paling rendah dibandingkan kelompok kontrol (K1).

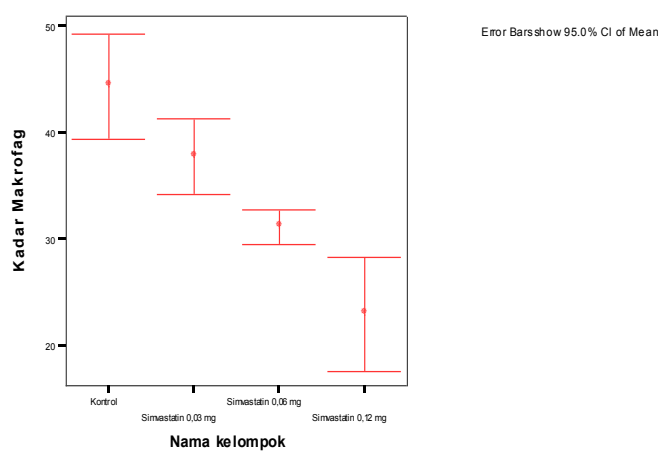
Uji beda dilakukan untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna pada kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal pada kelompok kontrol (K1), kelompok perlakuan 1 (K2) dan kelompok perlakuan 2 (K3) dan kelompok perlakuan 3 (K4). Uji beda ini dilakukan dengan menggunakan ANOVA dan dilanjutkan dengan uji posteriori. Hasil uji *one way*-Anova menunjukkan hasil signifikan ( $p < 0,001$ ) dengan interpretasi perbedaan bermakna dari dua kelompok penelitian.

Hasil uji homogenitas varian dilihat dari output Levene test. Nilai p pada Levene test menunjukkan nilai 0,03 ( $p < 0,05$ ). Hal ini berarti varian data pada ketiga kelompok tersebut adalah homogen, untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan, maka dilakukan uji *posteriori* dengan Tamhane.

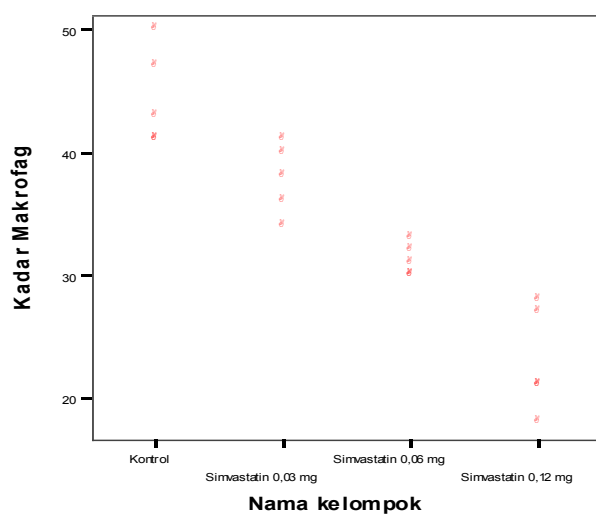
Dari hasil uji *posteriori* didapatkan perbedaan yang bermakna antara kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal pada

Tabel 1. Data penghitungan kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal

Kelompok	N	Mean	SD
K1	5	44.40	3.975
K2	5	37.80	2.864
K3	5	31.20	1.304
K4	5	23.00	4.301



Gambar 1. Grafik error bar kapasitas fagositosis makrofag kelompok penelitian



Gambar 2 grafik *scatterplot* kadar makrofag kelompok penelitian.

kelompok perlakuan 1 (K1) dengan kelompok perlakuan 3 (K3) dan K4.

Terdapat perbedaan bermakna pada kelompok perlakuan 2 (P2) dibandingkan kelompok perlakuan 3 (P3) dan P4. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol K1 dengan K2, serta antara K3 dan K4 ( $p > 0,005$ ). Hasil selengkapnya dapat dilihat di lampiran.

Uji korelasi dilakukan untuk mengetahui apakah ada korelasi yang bermakna antara dosis pemberian simvastatin dengan kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal pada kelompok penelitian. Uji ini dilakukan menggunakan uji Pearson. Dari hasil uji korelasi didapatkan korelasi yang bermakna ( $p = 0,001$ ), dengan nilai koefisien korelasi Pearson sebesar (-0.935), dan arah korelasi negatif dengan koefisien korelasi kuat.

## PEMBAHASAN

Simvastatin merupakan grup obat yang disebut dengan *hydroxy methyl glutaryl (HMG Co) reductase inhibitors* atau statin. Obat ini digunakan untuk mengurangi kolesterol *low-density lipoprotein* (LDL) dan trigliserid dalam darah, serta meningkatkan kadar kolesterol *high-density lipoprotein* (HDL).<sup>1</sup>

Penelitian Yasuda menyatakan bahwa efek simvastatin dan *TNF-alpha neutralizing antibody* telah diteliti pada hewan yang disertai sepsis. Statins (3-hydroxy-3-methylglutaryl) *coenzyme reductase inhibitors* memiliki efek *pleiotropic actions*, dimana obat ini mampu memperbaiki *survival* penderita sepsis atau penderita dengan penyakit infeksi

dengan cara memperbaiki *cecal ligation and puncture* (CLP) pada mediator inflamasi sehingga mengurangi kerusakan pada organ yang dapat memicu terjadinya kematian.<sup>3</sup>

Bahan penyebab syok sepsis yaitu lipopolisakarida (LPS) merupakan struktur utama dinding sel bakteri gram negatif yang berfungsi untuk integritas struktur bakteri dan melindungi bakteri dari sistem pertahanan imun *hospes*. Zat ini bersifat endotoksin yang menginduksi produksi sitokin proinflamatori seperti interleukin-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ), IL-1 $\beta$ , IL-6, *tumor necrosis factor-alpha* (TNF- $\alpha$ ) dan prostaglandin (PGE2).<sup>4</sup> LPS ini mengikat reseptor CD14/ *Toll-like receptor-4* (TLR4) yang mengakibatkan sekresi sitokin proinflamatori dari beberapa tipe sel. CD14 merupakan reseptor permukaan sel pada makrofag dan monosit untuk karbohidrat.<sup>5</sup>

Pada pemberian LPS akan merangsang pelepasan mediator proinflamasi seperti IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  serta IL-I. makrofag merupakan komponen penting dari respon inflamasi terhadap kerusakan jaringan.<sup>12</sup>

Hasil penelitian dapat dilihat bahwa terdapat penurunan yang kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal yang bermakna pada pemberian simvastatin baik pada dosis 0,06 mg dan dosis 0,12 mg peroral dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberi simvastatin (Kontrol) dan pada kelompok (P4).

Hal tersebut di atas disebabkan 2 faktor. Pertama, karena simvastatin menghambat langsung produksi sitokin proinflamasi TNF alfa, IL-6, dan IL-8 yang

diinduksi oleh lipopolisakarida. Menurut penelitian Gown dkk. menyatakan bahwa simvastatin menekan TNF- $\alpha$ , IL-6 dan IL-8 yang diinduksi oleh LPS, dimana TNF- $\alpha$  merupakan sitokin pertama yang terinduksi setelah stimulasi LPS yang kemudian juga akan menstimulasi IL-1 dan IL-6 pada makrofag, monosit, neutrofil dan sel endotel. Efek supresi simvastatin terhadap IL-6 dan IL-8 dapat secara langsung maupun melalui penghambatan pelepasan TNF- $\alpha$  yang diinduksi oleh LPS. Pada penelitian ini terdapat efek supresi simvastatin terhadap TNF- $\alpha$  serta IL-6 dan IL-8. TNF alfa yang tersupresi kemudian akan menyebabkan penurunan kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal.<sup>13</sup>

Faktor transkrip NF- $\kappa$ B mempunyai peranan krusial pada proses inflamasi. NF- $\kappa$ B merupakan faktor transkripsi yang akan memicu produksi sitokin. Pemberian LPS akan mengaktifkan NF- $\kappa$ B yang akan meningkatkan produksi mediator inflamasi seperti IL-8, TNF- $\alpha$ ,<sup>13</sup>

Dari hasil uji korelasi didapatkan korelasi yang bermakna ( $p=0,001$ ), dengan nilai Pearson sebesar  $-0,935$  yang menunjukkan bahwa arah korelasi negatif dengan koefisien korelasi kuat. Hal ini berarti bahwa terdapat hubungan erat antara peningkatan dosis simvastatin semakin rendahnya kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal. Dosis simvastatin yang diberikan semakin tinggi maka kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal akan semakin rendah.

## SIMPULAN

Pada penelitian ini didapatkan juga bahwa hasil simvastatin pada dosis 0,12 mg pada mencit yang setara dengan pemberian dosis simvastatin 40 mg/kgBB pada manusia menurunkan kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal secara signifikan bila dibandingkan dengan simvastatin dosis 0,03 mg pada mencit yang setara dengan pemberian simvastatin 10 mg/kgBB pada manusia dan simvastatin 0,06 mg pada mencit yang setara dengan pemberian simvastatin 20 mg/kgBB pada manusia ( $p>0,05$ ).

## DAFTAR PUSTAKA

1. Sandika. Simvastatin. Tersedia pada : <http://www.detikhealth.com>. diakses 12 agustus 2010.
2. Zhang S, Rahman M, Zhang SQ, Thorlacius H. Simvastatin Antagonizes CD40L Secretion, CXC Chemokine Formation, and Pulmonary Infiltration of Neutrophils in Abdominal Sepsis. *J Leukoc Biol* 2011;89(5):735-42.
3. Yasuda H, Yuen P, Hu X, Zhou H, Star R. Simvastatin Improves Sepsis-Induced Mortality and Kidney Injury via Renal Vascular Effects. *Kidney Int.* 2006;69(9):1535-42.
4. Stashenko P. Interrelationship of Dental Pulp and Apical Periodontitis. In : Hargreaves KM, Goodis, editors. *Dental Pulp*. Chicago: Quintessence Publishing Co Inc; 2002.p.389-409.
5. Akashi S, Shimazu R, Ogata H, Nagai Y, Takeda K, Kimoto M, et al. Cutting Edge: Cell Surface Expression and Lipopolysaccharide Signaling via the Toll-Like Receptor 4-MD-2 Complex

- on Mouse Peritoneal Macrophages. *J Immunol* 2000; 164: 3471-5.
6. Dilandx. Makrofag. Tersedia pada situs: <http://surgaku.com/2010/03/makrofag>. Diakses pada 5 September 2011
  7. Widodo D, Pohan HT, Bunga Rampai Penyakit infeksi. Jakarta: Departemen IPD FKUI.2004: p.54-88.
  8. Merx MW, Liehn EA, Janssens U. HMG-Coa Reductase Inhibitor Simvastatin Profoundly Improves Survival in a Murine Model of Sepsis. *Circulation* 2004;109:2560-65.
  9. Novack V, Terblanche M, Almog Y. Do Statins have a Role in Preventing or Treating Sepsis? *Critical Care* 2006;10:113.
  10. Marc W, Liehn EA, Graf J, Sandt A, Schaltenbrand M, Schrader J, Hanrath P, Weber C. Statin Treatment After Onset of Sepsis in a Murine Model Improves Survival. *Circulation* 2005;112:117-24.
  11. Young D. Simvastatin and Severe Sepsis : A Randomised Controlled Trial. tersedia pada situs <http://www.controlled-trials.com/ISRCTN92093279>. Diakses 11 September 2011.
  12. Hermawan G, editor. Sitokin yang berperan dalam SIRS dan Sepsis. In : *SIRS, Sepsis & Syok Septik*. 1<sup>st</sup> ed. Surakarta:Sebelas Maret University Press;2008. P. 86-98
  13. Visintin A. Pharmacological Inhibition of Endotoxin Responses is Achieved by Targeting the TLR4 Coreceptor, MD-2. *J Immunol* 2005;175(10):6465-72.