

AKTIVITAS SNEDDS GAMAVUTON-0 SEBAGAI ANTI ARTRITIS REMATOID DENGAN PARAMETER PENURUNAN KADAR SITOKIN IL-1 β PADA HEWAN UJI TIKUS WISTAR JANTAN

Viren Ramadhan^{a*}, Muhammmad Nurul Fadel^b

Universitas Muhammadiyah Kudus. Jalan Ganesha I Kudus. Indonesia.

Email : virenramadhan@umkuds.ac.id

Abstrak

Artritis Rematoid adalah penyakit inflamasi sistemik yang bersifat kronik dan terdapat pada struktur artikular persendian. Banyak ahli berpendapat bahwa mekanisme penyakit ini berhubungan dengan sistem imun yang ditandai terutama oleh ekspresi Interleukin-1 β (IL-1 β). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh SNEDDS GVT-0 terhadap penurunan kadar sitokin IL-1 β dan perbedaannya terhadap suspensi GVT-0 pada hewan uji tikus *Wistar* jantan terinduksi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA). Setelah diinduksi CFA pada hari ke-0 dan ditunggu selama 14 hari serta dilakukan skoring artritis menggunakan parameter indeks artritis. Pada hari ke-15 kelompok tikus kontrol negatif diberi aquades peroral. Kontrol positif diberi metotreksat (p.o) dan kelompok perlakuan diberi SNEDDS GVT-0 (p.o) serta suspensi GVT-0 (p.o) dengan dosis 40 mg/kg BB tikus. Perbedaan antar perlakuan dianalisis secara statistik menggunakan metode ANAVA satu jalan dan dilanjutkan dengan uji *Turkey*. Hasil yang diperoleh SNEDDS GVT-0 memiliki aktivitas menurunkan kadar sitokin IL-1 β sebesar 65,8 %. SNEDDS GVT-0 mampu menurunkan kadar IL-1 β secara signifikan, sehingga SNEDDS GVT-0 lebih baik dibandingkan suspensi GVT-0 dalam menurunkan kadar IL-1 β .

Kata Kunci: Artritis rematoid, SNEDDS, Gamavuton-0, sitokin IL-1 β

Abstract

Rheumatoid arthritis (RA) is an inflammation disease in joints that it's unclearly known. In the some recently study has proven that there is elevation of cytokines level including IL-1 β in RA joints synovium. Gamavuton-0 has the effect of anti-arthritis. This study was undertaken to know in vivo activity of SNEDDS GVT-0 in RA with joints level of IL-1 β as a parameter. The reaserch has done by inducing male Wistar rats with Complete Freund's Adjuvant (CFA) to get arthritic rats. After the CFA-induced, a negative control group of mice was given distilled water orally. Positive controls were given methotrexate orally and the treatment group was given a dose level of 40 mg/kg weight of rat SNEDDS GVT-0 and suspense GVT-0 orally. Assay of IL-1 β was conducted using a direct sandwich ELISA. Differences between treatments were statistically analyzed using ANOVA and Turkey Test method was compared to normal rats. The research resulting that SNEDDS of GVT-0 decrease IL-1 β in a row of 65,8 %. SNEDDS GVT-0 could reduce levels of IL-1 β significantly, while the suspension GVT-0 only able to reduce the levels of IL-1 β .

Keywords: Rheumatoid arthritis, SNEDDS, Gamavuton-0, Cytokines IL-1 β

I. PENDAHULUAN

Salah satu penyakit autoimun yang menyerang area persendian adalah artritis rematoid (AR) (Singh J, 2015). Jenis rematik ini ditandai dengan adanya inflamasi artritis yang paling serius karena dapat mengakibatkan kerusakan sendi yang berat (Muchid A, 2006). Tanda dan gejala yang dirasakan berupa nyeri terutama pada bagian

sinovial sendi, sarung tendo, dan bursa. Ketiga daerah tersebut akan menebal dan diikuti oleh destruksi tulang disekitar sendi (Wijayakusuma, 2006). AR erat hubungannya dengan sistem imun yaitu melalui ekspresi sitokin, salah satunya Interleukin 1 β (IL-1 β). Keparahan penyakit ini dapat ditandai dengan meningkatnya jumlah sitokin tersebut membuat peradangan lokal dan pembentukan

pannus sehingga terjadi erosi pada tulang (Abbas, 2005). Oleh karena itu pengukuran kadar sitokin IL-1 β dapat dijadikan parameter keparahan maupun perbaikan dalam kejadian AR (Darwin dan Eryati, 2006).

Penatalaksanaan terapi AR harus agresif dan sedini mungkin dimulai dengan pemberian agen DMARDs (*Disease Modifying Anti-Rheumatic Drugs*) seperti metotreksat, sulfasalazine, dan leflunomide. Agen NSAIDs (*Non-Steroid Anti Inflammatory Drugs*) juga dapat digunakan sebagai penghilang rasa nyeri pada penderita AR (Darwin dan Eryati, 2006). Terapi jangka panjang dari beberapa agen tersebut tentunya tidak lepas dari kejadian toksisitas maupun efek samping yang muncul dari beberapa penderita AR sehingga diperlukan persiapan dan monitor terapi dengan tepat. Pilihan alternatif lain juga dapat dikembangkan untuk dapat dijadikan salah satu pengobatan dalam penanganan AR yang memiliki efektifitas maksimal dan minimal resiko efek samping.

Gamavuton-0 (GVT-0) adalah senyawa analog kurkumin yang telah banyak dilaporkan efektifitasnya sebagai antiinflamasi termasuk dalam penanganan kejadian AR. Bentuk sediaan suspensi telah dikembangkan dan diujikan pada hewan uji tikus yang menghasilkan penurunan kadar sitokin IL-1 β dan indeks rematik. GVT-0 juga terbukti aman setelah dilakukan uji toksisitas dari penelitian sebelumnya (Radner A, 2015). Namun, GVT-0 memiliki kekurangan dari segi kelarutannya yang sangat rendah didalam air sehingga sifat ini menjadi kendala dalam pengembangan GVT-0 pada pemberian oral. Kelarutan didalam air yang rendah tersebut berdampak pada penghambatan proses absorpsi obat yang menyebabkan jumlah obat yang berpindah ke sirkulasi sistemik semakin sedikit sehingga efek farmakologisnya lemah.

SNEDDS (*Self-Nano Emulsifying Drug Delivery Systems*) merupakan salah satu sistem nanopartikel yang mampu memperbaiki kelarutan suatu senyawa sehingga meningkatkan penetrasi obat untuk mencapai target aksi. Peningkatan ketersediaan hayati obat akan lebih baik melalui proses absorpsi obat yang efektif dari formula SNEDDS. Oleh karena itu, pada studi

kali ini dilakukan uji aktivitas SNEDDS GVT-0 sebagai anti AR dilihat dari penurunan kadar sitokin IL-1 β pada heawa uji Tikus jantan galur Wistar yang diinduksi *Complete Freund Adjuvant (CFA)*.

II. LANDASAN TEORI

A. Landasan Teori Variabel I

Salah satu metode formulasi nanoemulsi yang berupa campuran isotropik minyak, surfaktan dan ko-surfaktan yang secara cepat dan mudah membentuk nanoemulsi pada pencampuran dengan air disebut SNEDDS. Nanoemulsi yang terbentuk memiliki ukuran tetesan kurang dari 200 nm. Ukuran nanoemulsi yang sangat kecil memungkinkan obat dapat melewati membran sepanjang saluran *gastrointestinal* dengan cepat dan meminimalisir iritasi akibat adanya kontak antara kristal obat dengan dinding saluran *gastrointestinal* (Makadia, 2013). Dalam formulasi SNEDDS beberapa hal yang harus dipertimbangkan diantaranya kelarutan obat diberbagai minyak, surfaktan dan ko-surfaktan. Pemilihan minyak, surfaktan dan ko-surfaktan berdasarkan kelarutan obat serta pembuatan diagram fase.

Gamavuton atau GVT-0 memiliki nama kimia 1,5-bis (4'-hidroksi-3'metoksifenil)-1,4-pentadien-3-on. GVT-0 merupakan senyawa analog kurkumin karena memiliki kesamaan dalam kepemilikan gugus hidroksi dan metoksi sebagai substituen rantai aromatiknya. Perbedaan GVT-0 dari kurkumin adalah kerangka 1,5-difenil-1,4-pentadien-3-on yang dimiliki GVT-0 sementara pada kurkumin kerangkanya adalah 1,7-difenil-1,6-heptadien-3,5-dion. Kelarutan GVT-0 yaitu praktis tidak larut dalam air, tetapi larut dalam pelarut organik seperti aseton, dimetil sulfoksida, etanol, etil asetat hal ini sama dengan kurkumin. Kurkumin yang awalnya berwarna kuning pada larutan dengan pH asam akan berubah menjadi kemerahan atau merah tua dalam larutan basa. Degradasi ini dipicu oleh adanya gugus metilen pada kurkumin dan juga dipengaruhi oleh cahaya. Namun GVT-0 sudah tidak memiliki gugus metilen lagi sehingga diharapkan memiliki kestabilan yang lebih

tinggi terhadap cahaya dan pH daripada kurkumin.

B. Landasan Teori Variabel II

Metotreksat termasuk obat golongan DMARD yang merupakan sitostatika golongan antagonis asam folat, bersifat sebagai immunosupresif. Mekanisme kerja metotreksat dengan menghambat proliferasi sel T (Cronstein, 2005). Biasanya digunakan untuk terapi AR yang progresif dan tidak memberikan respon terhadap terapi DMARD standar lainnya. Dosis efektif metotreksat sangat bervariasi, yakni dosis awal peroral 2,5 mg perminggu, kemudian bisa dinaikkan secara bertahap hingga 15 mg sampai 20 mg perminggu (Darmansjah, 2000). Pada artritis rematoid, interleukin-1 (IL-1) dan TNF- α dihasilkan oleh makrofag pada jaringan sinovial dan memegang peranan penting dalam perkembangan patologi penyakit ini.

III. METODE PENELITIAN

Alat-alat gelas, pengaduk, pipet tetes, pipet volume, yellow & blue tip, tabung reaksi, vortex, particle size analyzer (PSA), sentrifugator, sonikator, oven, incubator, waterbath, lemari pendingin, ELISA reader, dan pH meter.

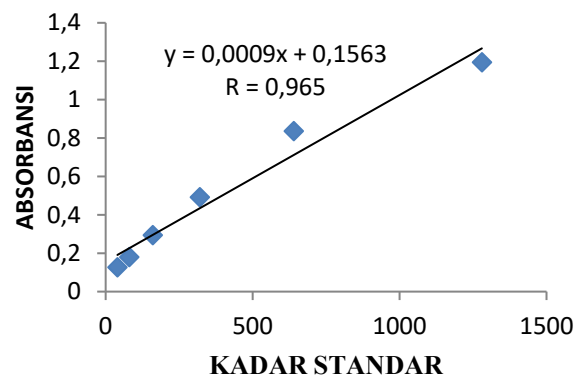
Bahan-bahan yang digunakan meliputi GVT-0, etanol 96%, ELISA kit, metotreksat, aquabides, aquades, aqua pro injeksi, minyak myritol, tween 20, cremophor RH, propilenglikol, CFA, Na-CMA, dan NaCl 0,9%.

Subyek Uji digunakan Tikus jantan galur wistar berusia kurang lebih 2 bulan dengan berat badan berkisar 110-210 gram.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

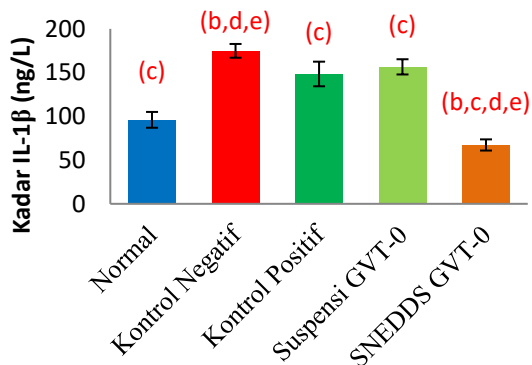
Selama 31 hari penelitian ini dilakukan dengan diawali masa induksi artirtis selama 14 hari kepada hewan uji yang telah diaklimatisasi. Pemberian kontrol positif (metotreksat) diberikan pada salah satu kelompok tikus. Terdapat 5 kelompok uji yaitu kontrol normal, kontrol negatif, kontrol positif (metotreksat), perlakuan 1 (tikus diberi suspensi GVT-0 dosis 40 mg/kgBB), perlakuan 2 (tikus diberi SNEDDS GVT-0 dosis 40 mg/kgBB).

Penetapan kadar IL-1 β pada jaringan persendian tikus perlakuan memerlukan suatu kurva baku seri kadar IL-1 β standar yang ditetapkan dengan metode *ELISA*. Prinsip penetapan kadar IL-1 β dengan metode *ELISA* berdasarkan yang spesifik antara antigen (IL-1 β) dengan antibodi anti IL-1 β yang dilanjutkan dengan pembentukan warna oleh enzim. Hasil serapan diperoleh dari *ELISA* yang dilakukan terhadap seri kadar standar IL-1 β (ng/L) yaitu $y = 0,0009x + 0,1563$ dengan harga $r = 0,965$. Nilai $r_{tabel}(6; 5\%) = 0,811$. Sedangkan nilai $r_{hitung} = 0,965 > 0,811$ sehingga menandakan bahwa nilai r dapat diterima. Koefisien determinasi (kekuatan serapan (x) menjelaskann kadar standar IL-1 β (y)) antara serapan (x) dengan kadar standar IL-1 β (y) ditunjukan dengan harga R^2 sebesar 96,5 %. Data absorbansi standar IL-1 β dapat dilihat pada lampiran 1 dan gambar kurva baku dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Kurva baku standar IL-1 β

Dari persamaan kurva baku dapat dihitung kadar IL-1 β yang terdapat di dalam sampel, yaitu dengan memasukkan serapan sampel ke dalam persamaan kurva baku. Kadar IL-1 β yang didapat memiliki satuan ng/L. Gambar histogram kadar IL-1 β dari masing-masing kontrol dan perlakuan ditunjukkan Gambar 2.



Gambar 2. Histogram kadar IL-1 β

Keterangan : (a) berbeda signifikan dengan seluruh kelompok, (b) berbeda signifikan dengan kelompok kontrol normal, (c) berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif, (d) berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif, (e) berbeda signifikan dengan suspensi GVT-0 (NSG).

Penurunan kadar sitokin IL-1 β terjadi pada tikus dengan perlakuan metotreksat (kontrol positif) dibandingkan dengan kontrol negatif yaitu sebesar $111,11 \pm 4,75$ ng/L. Hal ini dapat disimpulkan bahwa metotreksat pada kontrol positif mampu menurunkan kadar IL-1 β pada tikus yang terinduksi CFA. Diduga aktivitas metotreksat dalam menurunkan kadar IL-1 β berhubungan dengan penghambatan kompetitif metotreksat terhadap enzim hidrofolat reduktase sehingga mampu menekan proliferasi sel-sel imun penghasil IL-1 β .

Hasil analisis varian (ANOVA) dan uji *Turkey* dari kadar IL-1 β sampel yang ada menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna kadar rata-rata antara kontrol positif dan kontrol negatif pada taraf kepercayaan 95%. Hal ini menandakan bahwa kontrol positif yang digunakan terbukti mampu menurunkan kadar IL-1 β . Sehingga aktivitas suspensi dan SNEDDS GVT-0 dapat dibandingkan terhadap metotreksat dalam menurunkan kadar IL-1 β .

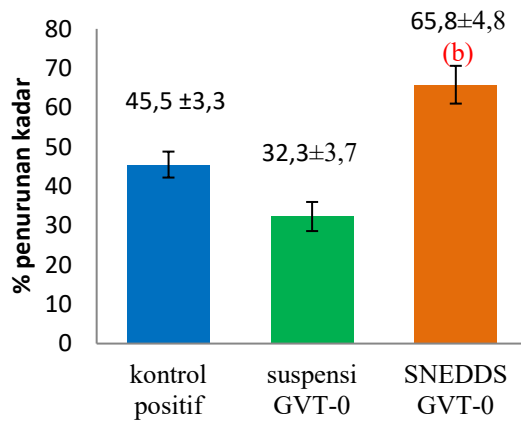
Kadar IL-1 β dalam jaringan sendi tikus yang diberi perlakuan Suspensi GVT-0 dosis 40 mg/kgBB menunjukkan penurunan kadar yaitu sebesar $138,00 \pm 5,26$ ng/L. Perbedaan signifikan antara kontrol negatif dengan suspensi GVT-0 tersebut menandakan bahwa suspensi GVT-0 juga mampu menurunkan kadar IL-1 β . Aktivitas antiinflamasi yang dimiliki GVT-0 diduga berhubungan dalam menurunkan kadar sitokin IL-1 β yaitu dengan

menangkap radikal bebas sehingga menghambat pembentukan prostaglandin dari asam arakidonat oleh enzim *siklooksigenase-2* (COX-2). Penghambatan stimulasi inflamasi melalui COX-2 mampu menurunkan kadar IL-1 β . Sedangkan IL-1 β juga mampu menginduksi transkripsi COX-2 pada sel inflamasi (Rosyidi, 2008).

Pada kelompok kontrol perlakuan yang diberikan SNEDDS GVT-0 jauh lebih baik dalam menurunkan kadar IL-1 β sebab menunjukkan perbedaan secara signifikan dengan suspensi GVT-0 maupun dengan kontrol positif, yaitu dengan kadar IL-1 β sebesar $69,78 \pm 6,97$ ng/L. Kadar tersebut 2x lipat lebih kecil dibandingkan kadar IL-1 β yang mendapatkan suspensi GVT-0 sehingga dapat disimpulkan bahwa SNEDDS GVT-0 mampu menurunkan kadar IL-1 β lebih banyak dibanding suspensi GVT-0. Hal ini dikarenakan SNEDDS mampu meningkatkan aktivitas dari GVT-0 sebab SNEDDS memiliki kemampuan menembus membran yang lebih besar dibandingkan suspensi GVT-0.

Hilangnya proses disolusi oleh sediaan SNEDDS sesaat sebelum GVT-0 menembus membran, membuat GVT-0 akan terdispersi cepat dalam saluran cerna. Ukuran droplet hasil dispersi berada pada ukuran nanometer sehingga droplet tersebut akan mudah menembus dinding usus yang dianalogikan dengan kemampuan difusi GVT-0 menembus membran sel. Sediaan SNEDDS GVT-0 mempunyai kemampuan difusi lebih besar dibanding suspensi GVT-0.

Penetapan aktivitas SNEDDS GVT-0 terhadap penurunan kadar IL-1 β dinyatakan sebagai persentase penurunan kadar IL-1 β yang menunjukkan penurunan kadar IL-1 β pada jaringan sekitar sendi tikus. Perlakuan tersebut dibandingkan terhadap persentase aktivitas penurunan kadar IL-1 β oleh suspensi GVT-0 dan kontrol positif. Histogram persen penurunan kadar IL-1 β disajikan pada gambar 3.



Gambar 3. Histogram persentase penurunan kadar IL-1 β

Keterangan: (a) berbeda signifikan dengan kontrol positif, (b) berbeda signifikan dengan suspensi GVT-0

Harga persentase penurunan kadar IL-1 β dari SNEDDS GVT-0 yaitu sebesar 65,8% lebih tinggi dibanding suspensi GVT-0 (32,3%) maupun kontrol positif (45,5%). Perbedaan secara signifikan terjadi antara SNEDDS GVT-0 dengan suspensi GVT-0 ($p < 0,05$). Sehingga dapat disimpulkan bahwa desain formula SNEDDS pada GVT-0 mampu meningkatkan aktivitasnya serta lebih baik dibanding suspensi GVT-0 dalam menurunkan kadar IL-1 β didalam jaringan sendi tikus *wistar* jantan terinduksi CFA.

V. KESIMPULAN

Kesimpulan utama dari penelitian ini adalah aktivitas SNEDDS GVT-0 mampu menurunkan kadar IL-1 β sebesar 65,8% dan secara signifikan lebih baik dibanding sediaan suspensi pada hewan uji tikus jantan galur *wistar*.

DAFTAR PUSTAKA

- Sing, J. et al. 2015. American College of Rheumatology Guideline for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. Care & Research DOI 10.1002/acr.22783, VC 2015, American College of Rheumatology.
- Muchid A. 2006. Pharmaceutical Care untuk Pasien Penyakit Arthritis Rematik.
- Izkafiz. Direkloral Bina Farmasi Komunitas dan Klinik, Ditjen Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan, Jakarta.
- Wijayakusuma, H. 2006. Atasi Asam Urat & Rematik ala Hembing. Jakarta: Puspa Swara.
- Kresno, S.B. 1996. Immunologi; Diagnosis dan Prosedur Laboratorium, Fak.Kedokteran UI, Jakarta.
- Radner, H. et al. et al. 2015. Anti-TNF in rheumatoid arthritis: an overview. Wien Med Wochenschr. DOI 10.1007/s10354-015-0344-y.
- Chabib, L. et al. 2016, Review Rheumatoid Arthritis: Terapi Farmakologi, Potensi Kurkumin dan Analognya, serta pengembangan Sistem Nanopartikel, Jurnal Pharmascience., 3. No 1.
- Ikawati, Z. et al. 2014. The Analgesic Effect of a Curcumin Analogue 1,5-bis (4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl)-1,4-pentadien-3-on (Gamavuton-0) in acute and persistent pain, J. Pharm. Sci., 4 (08) : 048-051.
- Makadia, H. et al. 2013. Self-nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDs): Future Aspect, Asian J. Pharm. Res., 3(1). 21-27.
- Cronstein, B.N., 2005, Low-Dose Methotrexate: A Mainstay in the Treatment of Rheumatoid Arthritis, Pharmacology Review. 57, 163-172.
- Darmansjah, I., et al. 2000, Informatorium Obat Nasional Indonesia 2000, 367-368, Departemen Kesehatan Republik Indonesia Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Rosyidi, V. 2008. Aktivitas Gamavuton-0 sebagai anti arthritis rematoid pada Tikus Wistar Betina diinduksi Complete Freund's Adjuvant dengan Parameter penekanan kadar sitokn IL-1 β pada Jaringan Sendi [Skripsi]. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada