

PENGARUH PEMBERIAN D-GALAKTOSA INTRAPERITONEAL TERHADAP KADAR IL-6 PADA TIKUS *SPRAGUE-DAWLEY*

Widya Christine Manus^{1*}, Johana Puspasari Dwi Pratiwi², & Yustina Nuke Ardiyan³

^{1,2,&3}Bagian Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Duta Wacana, Jalan Dr. Wahidin Sudirohusodo Nomor 5-25, Yogyakarta, Daerah Istimewa Yogyakarta 55224, Indonesia

*Email: dr.widya.manus@staff.ukdw.ac.id

Submit: 24-04-2023; Revised: 15-05-2023; Accepted: 31-07-2023; Published: 30-12-2023

ABSTRAK: Seiring bertambahnya usia hidup manusia, terjadi kemunduran dalam fungsi dan mekanisme fisiologis tubuh. Penurunan fungsi fisiologis ini dapat mempengaruhi kualitas hidup. Inflamasi kronis adalah salah satu ciri yang ditemukan pada proses penuaan ditandai dengan peningkatan sitokin proinflamasi pada sirkulasi. Salah satu sitokin yang berpengaruh dalam inflamasi kronis adalah IL-6. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar serum IL-6 menggunakan induksi D-Galaktosa pada tikus-tikus *Sprague-Dawley*. Penelitian ini adalah eksperimen murni dengan menggunakan *post test only control group design* dengan 36 tikus *Sprague-Dawley* jantan dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Sampel penelitian berupa serum. Kelompok kontrol diberikan plasebo berupa NaCl 0,9% dengan dosis 400 mg/hari/kg secara intraperitoneal. Kelompok perlakuan untuk induksi penuaan diberikan D-Galaktosa dengan dosis 400 mg/hari/kg secara intraperitoneal. Perlakuan selama 6 minggu, serum dikoleksi dari darah yang diambil pada minggu ke 6. Hasil penelitian menunjukkan pemberian D-Galaktosa tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap peningkatan IL-6.

Kata Kunci: Penuaan, Inflamasi, IL-6, D-Galaktosa.

ABSTRACT: As humans age, there is a decline in the function and physiological mechanisms of the body, which can affect quality of life. Chronic inflammation is one of the characteristics found in the aging process, marked by an increase in proinflammatory cytokines in circulation. IL-6 is one of the cytokines that play a role in chronic inflammation. This study aimed to determine serum IL-6 levels using D-galactose induction in *Sprague-Dawley* rats. The study used a pure experiment with a post-test only control group design, in which 36 male *Sprague-Dawley* rats were divided into two groups: control and treatment. The research sample was serum, and the control group received a placebo of 0.9% NaCl at a dose of 400 mg/day/kg intraperitoneally. The treatment group, which underwent aging induction, was given D-galactose at the same dose and route. The treatment was administered for 6 weeks, and serum was collected from blood taken in the 6th week. The results indicated that the administration of D-galactose did not have a significant effect on increasing IL-6 levels.

Keywords: Aging, Inflammation, IL-6, D-Galactose.

How to Cite: Manus, W. C., Pratiwi, J. P. D., & Ardiyan, Y. N. (2023). Pengaruh Pemberian D-Galaktosa Intraperitoneal terhadap Kadar IL-6 pada Tikus *Sprague-Dawley*. *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi*, 11(2), 962-967. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v11i2.7658>



Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi is Licensed Under a CC BY-SA [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).



PENDAHULUAN

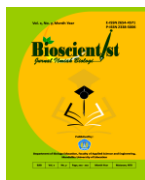
Penuaan adalah proses yang ditandai oleh penumpukan perubahan biologis yang terjadi secara bertahap, mengakibatkan penurunan fungsi seseorang dari waktu ke waktu (Azman & Zakaria, 2019). Seiring bertambahnya usia individu, perubahan kadar hormon, fungsi, dan mekanisme fisiologis tubuh dapat memberikan efek penurunan fungsi fisiologis dan kualitas hidup yang lebih rendah (Sawlani *et al.*, 2016). Pada penuaan terjadi proses yang kompleks yang disebabkan oleh kombinasi faktor lingkungan, genetik, dan epigenetik. Inflamasi kronis adalah salah satu ciri yang ditemukan pada proses penuaan (Sanada *et al.*, 2018). Inflamasi adalah proses fisiologis yang memperbaiki jaringan sebagai respons dan pertahanan tubuh terhadap agresi endogen atau eksogen. Namun, keadaan inflamasi yang berlangsung kronis dapat memiliki konsekuensi yang merugikan bagi tubuh. Pada penuaan ditemukan peningkatan kadar sitokin proinflamasi pada sirkulasi. Istilah inflamm-aging merupakan fenomena inflamasi kronis, dimana ditandai peningkatan sekresi sitokin oleh jaringan adiposa disertai penurunan fungsi sistem kekebalan, yang dikenal sebagai *immunosenescence* (Michaud *et al.*, 2013).

Pada penelitian terbaru memberikan gagasan bahwa, inflamasi kronis sebagai faktor risiko utama yang mendasari proses penuaan dan penyakit yang terkait dengan usia. Inflamasi yang berlangsung secara molekuler dengan kadar rendah disertai tidak mampu tubuh dalam mengurai radang serta aktifnya banyak jalur sinyal proinflamasi, termasuk jalur sinyal NF- κ B menjadi dasar penyebab penyakit yang terkait dengan usia ditandai dengan adanya akumulasi terus menerus (kronis). Mediator proinflamasi yang dimaksud di antaranya TNF- α , IL-1 β , COX-2, iNOS, dan interleukin (IL)-6 (Yusharyahya, 2021). Dengan bertambahnya usia, terjadi ketidakseimbangan antara sitokin proinflamasi sebagai oksidan dan antioksidan. Pada penuaan terjadi produksi oksidan yang tidak terkontrol atau penurunan pertahanan antioksidan yang menghasilkan proses yang dikenal sebagai stres oksidatif. Terjadinya stres oksidatif mengekspos sel-sel pada lingkungan prooksidan yang mengakibatkan akumulasi kerusakan pada berbagai biomolekul (protein, lipid, dan asam nukleat), kehilangan fungsi, dan kematian sel (Toda *et al.*, 2021).

Kadar IL-6, IL-1, TNF- α , dan C-Reactive Protein (CRP) pada subjek yang lebih tua dikaitkan dengan peningkatan risiko morbiditas dan mortalitas. Selain itu, sitokin proinflamasi melalui berbagai mekanisme, seperti aktivasi platelet dan aktivasi endotel juga dapat memainkan peran utama dalam peningkatan risiko dan kejadian penyakit kardiovaskular. Disregulasi jalur inflamasi juga dapat mempengaruhi sistem saraf pusat dan terlibat dalam mekanisme patofisiologis dari gangguan neurodegeneratif (misalnya, penyakit *Alzheimer*) (Michaud *et al.*, 2013).

METODE

Studi ini adalah studi eksperimental, menggunakan *post test only control group design*. Hewan coba uji diinduksi dengan D-Galaktosa, untuk membuat model hewan dengan penuaan yang dipercepat. Hewan dibagi menjadi dua



kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Sampel penelitian berupa serum. Penelitian dilakukan dari bulan November 2021 hingga Januari 2022. Perawatan dan pengobatan hewan dilakukan di LPPT Universitas Gadjah Mada, dan analisis serum dilakukan di Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada. Penelitian ini telah disetujui oleh komite etik Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Duta Wacana (No. 1320/C.16/FK/2021).

Perawatan Hewan Eksperimental

Tiga puluh enam tikus *Sprague-Dawley* jantan, usia 12-16 minggu, dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Penelitian dilakukan selama 6 minggu. Tikus diberikan waktu adaptasi selama 7 hari sebelum perlakuan.

Prosedur Eksperimental

Kelompok kontrol diberikan plasebo berupa NaCl 0,9% dengan dosis 400 mg/hari/kg secara intraperitoneal. Kelompok perlakuan untuk induksi penuaan diberikan D-Galaktosa (SIGMA MCLS G062) dengan dosis 400 mg/hari/kg secara intraperitoneal.

Pengukuran Hasil

Darah diperoleh dari hewan coba dengan menusuk area kantung medial dan mengumpulkannya menggunakan pipet kapiler. Darah yang terkumpul sebanyak 2 CC kemudian ditempatkan dalam wadah steril yang mengandung EDTA. Darah dalam tabung EDTA dibiarkan selama 15-30 menit pada suhu ruangan untuk membiarkan koagulasi dan sedimentasi terjadi. Setelah itu, sentrifugasi digunakan untuk memisahkan darah dari serum dengan memutar pada kecepatan 1000-2000xg rpm selama 10 menit. Supernatan kemudian dikumpulkan dan disimpan dalam *freezer* pada suhu antara 2-8°C. Serum yang berhasil dikoleksi diukur konsentrasi IL-6 dengan menggunakan ABCLONAL RK00020 ELISA kit dan Intensitas warna biru yang dihasilkan diukur pada panjang gelombang 620 nm menggunakan ELISA *reader*.

Analisis Data

Data hasil penelitian dijabarkan dalam deskriptif dan uji komparasi kadar IL-6 kelompok kontrol dan perlakuan dengan menggunakan uji *Independent-Samples T-Test* dengan menggunakan SPSS V.23.

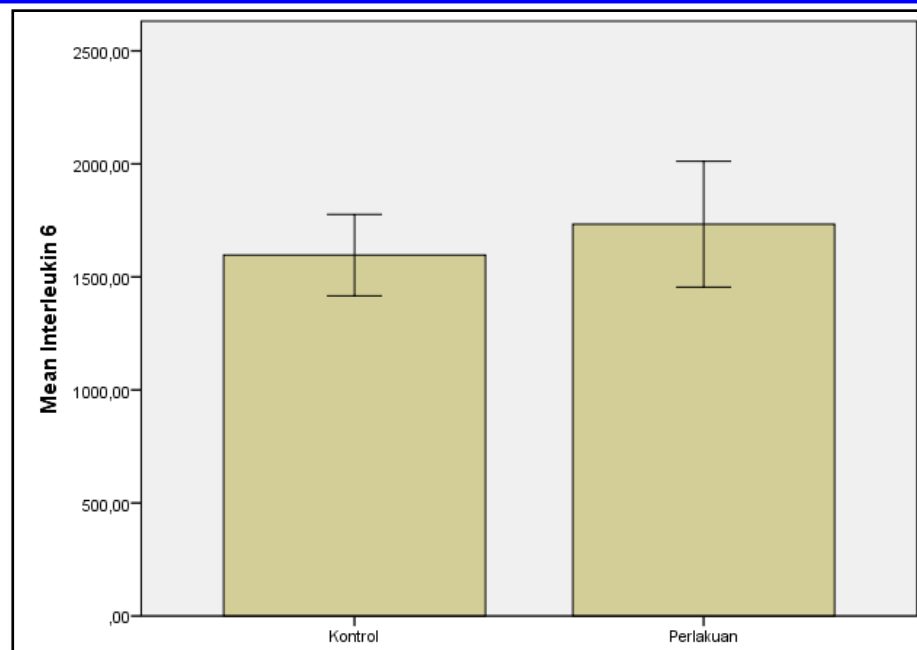
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar Interleukin 6 pada Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan.

Hasil	Kontrol (n = 18)	Perlakuan (n = 18)	t (df)	P-Value*	95% CI of Difference
Interleukin 6	1596.60 ± 179.95	1733.10 ± 278.38	-1.747 (34)	0.090	-295.28 to 22.27



Gambar 1. Perbandingan Rerata Kelompok Kontrol dan Perlakuan.

Berdasarkan hasil uji *Independent-Samples T-Test* kadar IL-6 tidak signifikan berbeda bermakna, yaitu nilai $p=0,090 > 0,05$. meskipun melalui gambar 1 kadar IL-6 pada kelompok perlakuan tampak lebih tinggi hasil kadarnya daripada kelompok kontrol, namun berdasarkan statistika, tidak berbeda bermakna $p=>0,05$ yaitu 0,090.

Pembahasan

Pada penelitian ini, penuaan pada hewan coba dipercepat dengan pemberian D-Galaktosa. D-Galaktosa adalah jenis gula yang dapat digunakan untuk memicu penuaan pada hewan model. Akumulasi senyawa ini dalam tubuh dapat memicu peristiwa oksidasi dan membentuk senyawa yang dinamakan *Advanced Glycation End Products* (AGEs). AGEs yang meningkat dan terakumulasi dapat berinteraksi dengan *Reseptor AGEs* (RAGE) pada sel-sel tubuh, dan menginduksi NF- κ B yang menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat mempercepat proses penuaan. Pemberian D-Galaktosa untuk mendapatkan hewan coba dengan model penuaan adalah dengan menginduksi D-Galaktosa 50-400 mg/kg/hari (Htay *et al.*, 2018).

Akumulasi D-Galaktosa dapat memicu respons peradangan kronis ringan dalam tubuh, yang ditandai dengan peningkatan kadar sitokin proinflamasi meningkatkan produksi Spesies Oksigen Reaktif (ROS) dalam sel, menyebabkan kerusakan oksidatif pada biomolekul seperti DNA, protein, dan lipid. D-Galaktosa memicu respons inflamasi dalam serum/plasma yang terbukti dengan peningkatan signifikan dalam sitokin pro-inflamasi (TNF- α , IL-6, IL-1b) dan penurunan dalam sitokin anti-inflamasi (IL-2). Secara umum, pemberian D-Galaktosa pada tikus yang menua digunakan sebagai model hewan coba untuk mempelajari mekanisme



penuaan dan penyakit terkait usia seperti *Alzheimer*, diabetes, dan penyakit kardiovaskular (Azman & Zakaria, 2019).

Pada penelitian ini, dengan dosis 400 mg/hari/kg secara intraperitoneal "*Inflammaging*" menunjukkan peningkatan respons inflamasi yang terjadi seiring dengan bertambahnya usia, yang mengakibatkan suatu keadaan proinflamasi sistemik kronis yang rendah. Hal ini ditandai dengan peningkatan kadar sitokin proinflamasi IL-1, IL-6, dan Faktor Nekrosis Tumor (TNF). Akumulasi dari sitokin proinflamasi ini telah terbukti meningkat seiring bertambahnya usia dan terlibat dalam patogenesis kebanyakan penyakit yang terkait dengan usia (Baylis, 2020). Dengan induksi D-Galaktosa di hewan coba pada penelitian ini dengan menggunakan dosis D-Galaktosa 400 mg/hari/kg secara intraperitoneal selama 6 minggu untuk melihat kadar dari inflamasi dan mencoba membuat "*inflammaging*" yang diwakili oleh *marker* dalam darah, yaitu IL-6.

IL-6 adalah sitokin yang memiliki berbagai fungsi, di antaranya berperan dalam mengatur proliferasi, kelangsungan hidup, dan diferensiasi sel, serta meningkatkan fungsi seluler pada berbagai jenis sel. IL-6 telah dikaitkan dengan patogenesis berbagai penyakit yang sering dikaitkan dengan peradangan, penyakit imun kronis, tumor yang menyerang jaringan, penyakit neurologis, dan penuaan (Kojima *et al.*, 2013). Meskipun D-Galaktosa berhasil membuat hewan coba dengan model aging, penulis meyakini pengaruh D-Galaktosa pada penuaan kemungkinan melibatkan interaksi dengan berbagai jalur molekuler dan proses biologis lainnya yang tidak secara langsung terkait dengan produksi IL-6. Hal ini dapat menjelaskan mengapa pengaruh D-Galaktosa dalam menginduksi penuaan tidak selalu disertai dengan peningkatan IL-6.

Penelitian yang dilakukan oleh Kojima *et al.* (2013), juga berhasil membuktikan bahwa selain IL-6 bersama beberapa sitokin seperti IL-1, TGF- β , IFN- β , dan IGFBP5 dapat menginduksi penuaan pada sel yang muda. Pada penelitian ini, meskipun menunjukkan adanya kenaikan IL-6, namun secara statistika tidak berbeda bermakna antara kontrol dan perlakuan. Hal ini dimungkinkan karena IL-6 hanya merupakan salah satu dari sitokin proinflamasi.

Beberapa faktor dapat mempengaruhi kadar IL-6 pada penuaan, di antaranya adalah perubahan hormonal, perubahan dalam sistem kekebalan tubuh, dan perubahan dalam komposisi tubuh, seperti peningkatan lemak visceral dan penurunan massa otot (Francesch *et al.*, 2018). Hormon yang dihasilkan oleh kelenjar suprarenal seperti kortisol dan DHEA melalui fungsi HPA axis dapat mempengaruhi kadar sitokin proinflamasi IL-1, TNF- α , dan juga IL-6 (Baylis *et al.*, 2013). Kadar IL-6 yang tidak meningkat bermakna dibandingkan kontrol pada penelitian ini menegaskan bahwa proses penuaan melibatkan interaksi antara berbagai mekanisme dalam tubuh tidak hanya IL-6, seperti halnya keterlibatan hormonal, peran antioksidan sistem imun lainnya secara keseluruhan dapat menyebabkan variasi dalam tingkat IL-6 pada individu yang menua.

SIMPULAN

Pemberian D-Galaktosa dengan dosis 400 mg/hari/kg tidak meningkatkan kadar IL-6.



SARAN

Perlu dilakukan pemeriksaan kadar sitokin proinflamasi yang lain, seperti TNF-a, IL-1, CRP, kadar hormon (kortisol dan DHEA), serta kadar antioksidan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Duta Wacana selaku pemberi dana penelitian.

DAFTAR RUJUKAN

- Azman, K. F., & Zakaria, R. (2019). D-Galactose-Induced Accelerated Aging Model: An Overview. *Biogerontology*, 20(6), 763-782. <https://doi.org/10.1007/s10522-019-09837-y>
- Baylis, D., Bartlett, D. B., Patel, H. P., & Roberts, H. C. (2013). Understanding How We Age: Insights into Inflammaging. *Longevity & Healthspan*, 2(1), 1-8. <https://doi.org/10.1186/2046-2395-2-8>
- de Toda, I. M., Ceprián, N., Cerro, D. D., & la Fuente, M. D. (2021). The Role of Immune Cells in Oxi-Inflamm-Aging. *Cells*, 10(11), 1-20. <https://doi.org/10.3390/cells10112974>
- Franceschi, C., Garagnani, P., Parini, P., Giuliani, C., & Santoro, A. (2018). Inflammaging: A New Immune–Metabolic Viewpoint for Age-Related Diseases. *Nature Reviews Endocrinology*, 14(10), 576-590. <https://doi.org/10.1038/s41574-018-0059-4>
- Htay, C. B., Palee, S., Apaijai, N., Chattipakorn, S. C., & Chattipakorn, N. (2018). Effects of D-Galactose-Induced Ageing on the Heart and its Potential Interventions. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 22(3), 1392-1410. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13472>
- Kojima, H., Inoue, T., Kunimoto, H., & Nakajima, K. (2013). IL-6-STAT3 Signaling and Premature Senescence. *JAK-STAT*, 2(4), 1-9. <https://doi.org/10.4161/jkst.25763>
- Michaud, M., Balardy, L., Moulis, G., Gaudin, C., Peyrot, C., Vellas, B., & Nourhashemi, F. (2013). Proinflammatory Cytokines, Aging, and Age-Related Diseases. *Journal of the American Medical Directors Association*, 14(12), 877-882. <https://doi.org/10.1016/j.jamda.2013.05.009>
- Sanada, F., Taniyama, Y., Muratsu, J., Otsu, R., Shimizu, H., Rakugi, H., & Morishita, R. (2018). Source of Chronic Inflammation in Aging. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 5(1), 1-5. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2018.00012>
- Sawhani, S., Saini, R., Vuppuluri, R., Rojas, L., & Patel, M. (2016). Endocrine Changes with Aging. *Endocrinology & Metabolism International Journal*, 3(3), 133-143. <https://doi.org/10.15406/emij.2016.03.00065>
- Yusharyahya, S. N. (2021). Mekanisme Penuaan Kulit sebagai Dasar Pencegahan dan Pengobatan Kulit Menua. *eJKI : eJournal Kedokteran Indonesia*, 9(2), 150-159. <https://doi.org/10.23886/ejki.9.49.150>