

## INTISARI

### PENGARUH INDUKSI ASAM PALMITAT TERHADAP EKSPRESI mRNA *TOLL LIKE RECEPTOR-4, INTERLEUKIN-8, ARGINASE-1* PADA SEL MAKROFAG RAW 264.7

Siti Nurhayati<sup>2</sup>, Widya Wasityastuti<sup>2</sup>, Nur Arfian<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Pascasarjana Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada

<sup>2</sup>Departemen Fisiologi Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada

<sup>3</sup>Departemen Anatomi Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada

**Latar Belakang:** Pasien dengan obesitas secara signifikan mengalami peningkatan kadar asam lemak bebas/*free fatty acid* (FFA) dalam darah. Beberapa jenis FFA salah satunya adalah *saturated fatty acids* (SFA). Asam palmitat (PA) adalah salah satu SFA yang paling umum ditemukan dalam tubuh manusia dan menyumbang 20%–30% dari total asam lemak tubuh. Konsentrasi sejumlah besar PA yang meningkat dalam darah dapat meningkatkan produksi mediator inflamasi khususnya pada makrofag. Sitokin dan kemokin yang mendominasi mengakibatkan gangguan pensinyalan insulin, sehingga meningkatkan risiko diabetes. **Tujuan:** Mengetahui efek asam palmitat terhadap ekspresi TLR-4, IL-8, Arg-1 dan karakteristik sel makrofag RAW 264.7

**Metode:** Penelitian ini dilakukan pada sel makrofag RAW 264.7 secara *in-vitro* pada 2 kelompok yaitu, sel RAW 264.7 yang tidak diberikan perlakuan (kelompok kontrol) dan kelompok yang diinduksi dengan asam palmitat (kelompok PA). Sel makrofag RAW 264.7 sebelumnya dilakukan uji MTT untuk mengevaluasi viabilitas sel terhadap asam palmitat. Sel makrofag diinduksi dengan gradien konsentrasi asam palmitat yang berbeda (0, 0,08, 0,2, 0,4, 0,8, 2 mM) yang dilarutkan dengan BSA, dan dianalisis untuk menentukan IC<sub>50</sub>. Sel makrofag RAW 264.7 diinduksi asam palmitat dengan konsentrasi 1 IC<sub>50</sub> selama 24 jam, dilakukan uji ekspresi untuk melihat ekspresi mRNA TLR-4, IL-8, Arg-1 yang dianalisis dengan RT-qPCR.

**Hasil:** Uji viabilitas sel didapatkan konsentrasi IC<sub>50</sub> adalah 369,1 µM / 0,37 mM. Morfologi sel makrofag RAW 264.7. pada kelompok kontrol terlihat adanya *pseudopodia* (kaki semu) yakni menunjukkan karakteristik sel makrofag yang normal, dan kelompok PA terlihat morfologi sel berbentuk bulat atau lonjong menunjukkan terdapat efek yang merusak akibat induksi asam palmitat. Hasil analisis RT-qPCR menunjukkan rerata ekspresi mRNA TLR-4 dan RNA IL-8 pada kelompok PA secara signifikan lebih tinggi dari pada kelompok kontrol sedangkan rerata ekspresi Arg-1 tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kedua kelompok dengan *p value* = 0,5429.

**Kesimpulan:** Induksi asam palmitat pada sel makrofag RAW 264.7 menyebabkan polarisasi makrofag ke M1 dan memberikan efek inflamasi yang ditandai dengan meningkatnya ekspresi mRNA TLR-4, IL-8, tetapi tidak menstimulasi polarisasi makrofag ke M2 ditandai dengan ekspresi mRNA Arg-1.

**Kata Kunci:** Asam palmitat, Makrofag, Inflamasi, Pro-inflamasi, Anti-Inflamasi, TLR-4, IL-8, Arg-1.

## ABSTRACT

### **EFFECT OF PALMITIC ACID INDUCTION ON THE EXPRESSION OF mRNA TOLL LIKE RECEPTOR-4, INTERLEUKIN-8, ARGINASE-1 IN CELL MACROPHAGE RAW 264.7**

Siti Nurhayati<sup>1</sup>, Widya Wasityastuti<sup>2</sup>, Nur Arfian<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Student of Biomedic Science Postgraduate Program, Faculty of Medicine, Public Health, and Nursing Universitas Gadjah Mada

<sup>2</sup>Departement of Physiology Faculty of Medicine, Public Health, and Nursing Universitas Gadjah Mada

<sup>3</sup>Departement of Anatomy Faculty of Medicine, Public Health, and Nursing Universitas Gadjah Mada

**Background:** Patients with obesity significantly increase levels of free fatty acids (FFA) in the blood. Some types of FFA one of which is saturated fatty acids (SFA). Palmitic acid (PA) is one of the most common SFAs found in the human body and accounts for 20%–30% of the body's total fatty acids. Increased concentrations of large amounts of PA in the blood can regulate the immune system by inducing an inflammatory response, especially in macrophages. Predominant cytokines and chemokines lead to impaired insulin signaling, thereby increasing the risk of diabetes.

**Aim:** To determine the effect of palmitic acid on the expression of TLR-4, IL-8, Arg-1 and characteristics of RAW 264.7 macrophage cells

**Methods:** This research was conducted on RAW 264.7 macrophage cells in-vitro in 2 groups, RAW 264.7 cells that were not induced by treatment (control group) and groups that were induced with palmitic acid (PA group). RAW 264.7 macrophage cells were previously subjected to the MTT test to evaluate the viability of 7 cells against palmitic acid. Macrophage cells were induced with different palmitic acid concentration gradients (0, 0.08, 0.2, 0.4, 0.8, 2 mM) dissolved in BSA, and analyzed to determine IC<sub>50</sub>. RAW 264.7 macrophage cells were induced by palmitic acid with a concentration of 1 IC<sub>50</sub> for 24 hours, an expression test was performed to see the expression of TLR4-, IL-8, Arg-1 mRNA which was analyzed by RT-qPCR.

**Results:** Cell viability test showed that the concentration of IC<sub>50</sub> was 369.1  $\mu$ M / 0.37 mM. RAW macrophage cell morphology 264.7. In the control group, pseudopodia (pseudo-feet) were seen, which showed the characteristics of normal macrophage cells, and in the treatment group, the morphology of cells that were round or oval showed that there was a deleterious effect due to the induction of palmitic acid. The results of RT-qPCR analysis showed that the mean expression of TLR-4 mRNA, IL-8 mRNA in the PA group increased significantly higher than that of the WT group, while the mean Arg-1 expression showed no significant difference between groups. both groups (p=0.5429).

**Conclusion:** Induction of palmitic acid in RAW 264.7 macrophage cells causes macrophage polarization to M1 and gives an inflammatory effect which is characterized by increased expression of TLR-4 and IL-8 mRNA, but does not stimulate macrophage polarization to M2 marked by Arg-1 mRNA expression.

**Keywords:** Palmitic acid, Macrophages, Inflammation, Pro-inflammation, Anti-Inflammation, TLR-4, IL-8, Arg-1