

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Anatomi dan Fisiologis Hati

2.1.1 Anatomi Hati

Hati merupakan kelenjar terbesar dalam tubuh manusia dengan berat kurang lebih 1,5 kg (Junqueira, 2007). Hati adalah organ viseral terbesar dan terletak di bawah kerangka iga (Sloane, 2004). Hepar bertekstur lunak, lentur, dan terletak di bagian atas cavitas abdominalis tepat di bawah diaphragma. Sebagian besar hepar terletak di profunda arcus costalis dextra dan hemidiaphragma dextra memisahkan hepar dari pleura, pulmo, pericardium, dan cor. Hepar terbentang ke sebelah kiri untuk mencapai hemidiaphragma sinistra (Snell, 2006).

Hepar tersusun atas lobuli hepatis. Vena centralis pada masing-masing lobulus bermuara ke vena hepatis. Dalam ruangan antara lobulus terdapat canalis hepatis yang berisi cabang-cabang arteria hepatica, vena portae hepatis, dan sebuah cabang ductus choledochus (trias 12 hepatis). Darah arteria dan vena berjalan di antara sel-sel hepar melalui sinusoid dan dialirkan ke vena centralis (Sloane, 2004).

2.1.2 Fisiologi Hati

Menurut Guyton & Hall (2008), hati mempunyai beberapa fungsi yaitu:

- a. Metabolisme karbohidrat

Fungsi hati dalam metabolisme karbohidrat adalah menyimpan glikogen dalam jumlah besar, mengkonversi galaktosa dan fruktosa menjadi glukosa, glukoneogenesis, dan membentuk banyak senyawa kimia yang penting dari hasil perantara metabolisme karbohidrat.

b. Metabolisme lemak

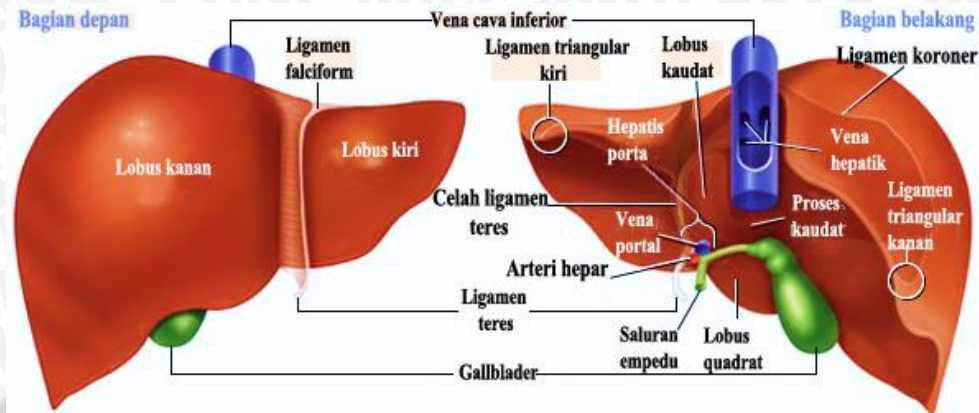
Fungsi hati yang berkaitan dengan metabolisme lemak, antara lain: mengoksidasi asam lemak untuk menyuplai energi bagi fungsi tubuh yang lain, membentuk sebagian besar kolesterol, fosfolipid dan lipoprotein, membentuk lemak dari protein dan karbohidrat.

c. Metabolisme protein

Fungsi hati dalam metabolisme protein adalah deaminasi asam amino, pembentukan ureum untuk mengeluarkan amonia dari cairan tubuh, pembentukan protein plasma, dan interkonversi beragam asam amino dan membentuk senyawa lain dari asam amino.

d. Lain-lain

Fungsi hati yang lain diantaranya hati merupakan tempat penyimpanan vitamin, hati sebagai tempat menyimpan besi dalam bentuk feritin, hati membentuk zat-zat yang digunakan untuk koagulasi darah dalam jumlah banyak dan hati mengeluarkan atau mengekskresikan obat-obatan, hormon dan zat lain.



Gambar 2.1. Gambaran makroskopik hati manusia dari anterior (Putz & Pabst, 2007).

2.2 Fibrosis Hati

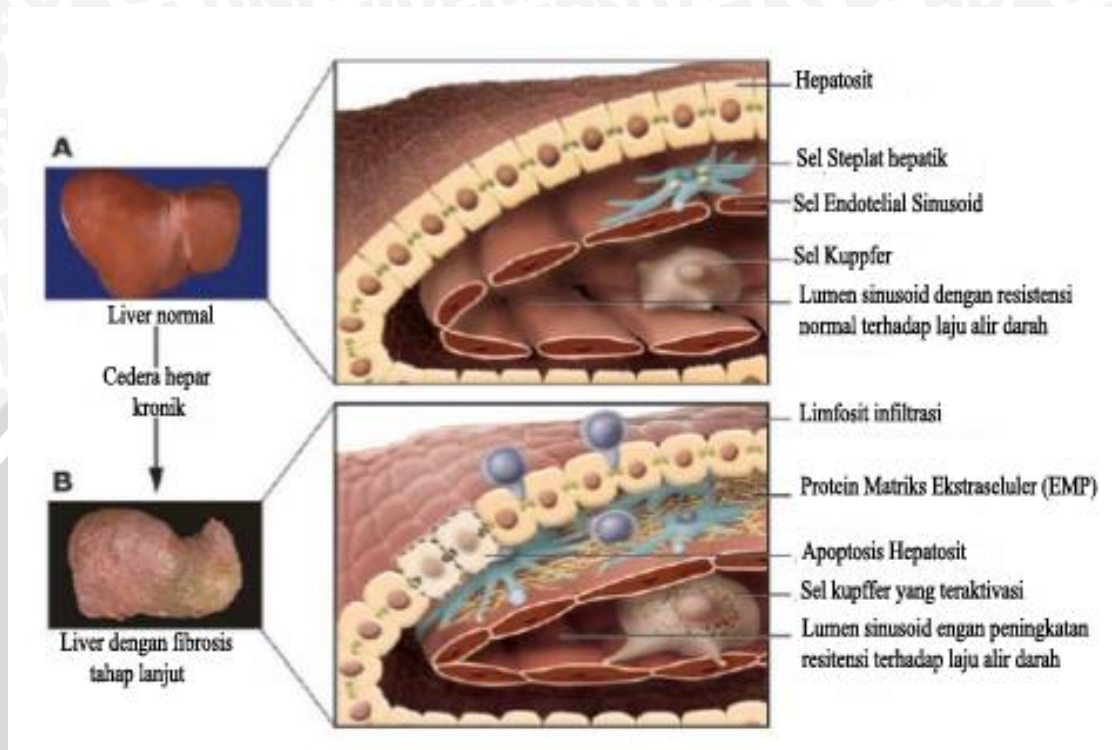
Penyakit hati kronis adalah penyakit hati yang berlangsung lebih dari enam bulan. Pada fibrosis hati terbentuknya jaringan ikat yang terjadi sebagai respon terhadap cedera hati, diawali oleh cedera hati kronis ditandai oleh aktivasi Hepatic Stellate Cells (HSC) dan produksi berlebih komponen Matriks Ekstraseluler (MES). Penumpukan protein matriks ekstraseluler yang berlebihan akan menyebabkan gangguan arsitektur hati, terbentuk jaringan ikat yang diikuti regenerasi sel hepatosit (Friedman, 2007). Bila fibrosis berjalan secara progresif, dapat menyebabkan sirosis hati. Penentuan derajat fibrosis mempunyai peranan penting dalam hepatologi karena pada umumnya penyakit hati kronis berkembang menjadi fibrosis dan dapat berakhir menjadi sirosis. Selain penting untuk prognosis, penentuan derajat fibrosis hati dapat mengungkapkan riwayat alamiah penyakit dan faktor faktor resiko yang berkaitan dengan progresifitas penyakit untuk dijadikan panduan variasi terapi antifibrotik (Bataller, *et al.*, 2009).

Patogenesis fibrosis hati merupakan proses yang sangat kompleks yang melibatkan sel stellata hati (HSC) sebagai sel utama, sel kupffer, lekosit, berbagai mediator, sitokin, growth factors dan inhibitor, serta berbagai jenis kolagen (Friedman, 2007).

2.2.1 Sel-sel Sinusoidal

Hati memiliki sinusoidal yang terdiri dari sel sel endotelial, pits cells, kupffer dan Hepatic Stellate Cells (HSC). Sel kupffer dan sel HSC berperan penting dalam proses fibrogenesis hati. Sel sel endotelial membatasi sinusoid-sinusoid dan memiliki fenestra yang memungkinkan terjadinya pertukaran zat antara hepatosit dan sel endotel. Antara hepatosit dan sel endotelial terdapat ruang Disse (subendotel) yang merupakan tempat dimana HSC berada. Sel kupffer melekat pada sel endotel dan merupakan derivad sel monosit (Afdhal, 2004).

Fungsi sel kupffer adalah memfagosit sel hepatosit tua, debris sel, benda asing, sel tumor dan berbagai mikroorganisme (Guha, 2007)



Gambar 2.2 Perubahan pada arsitektur hati. Dikutip dari Bataller R, Brenner D A, modified from Science & Medicine, 2009.

Produk dari kupffer yang aktif terdiri dari berbagai interleukin (IL); IL-1, IL-6, IL-10, interferon- α dan β , transforming growth factor (TGF), TNF, hidrogen peroksida, nitric oxide (NO). HSC memiliki sitoplasma yang panjang sampai sinusoid yang bersentuhan dengan hepatosit, sehingga berperan dalam menentukan besarnya aliran darah hepatic. Pada keadaan inaktif HSC merupakan tempat penyimpanan retinoid sehingga memiliki morfologi Cytoplasmic lipid droplets. Pada keadaan aktif akibat terjadinya cedera hati, HSC akan kehilangan lipid droplets, berproliferasi dan kemudian bermigrasi ke zona asinus lalu berubah menjadi sel miofibroblas yang memproduksi kolagen tipe I, III, IV dan laminin (Friedman, 2003). Miofibroblas bersifat kontraktile karena memiliki filamen aktin dan miosin.. HSC merupakan sel yang

berperan utama dalam memproduksi MES pada hati normal dan fibrosis hati (Bemion, 2001).

2.2.2 Faktor faktor yang mempengaruhi terjadinya fibrosis hati.

Transformasi sel normal menjadi sel yang fibrotik merupakan proses yang sangat rumit. Terdapat interaksi antara HSC dengan sel-sel parenkimal, sitokin, growth factor, berbagai protease matriks beserta inhibitorynya dan MES (Friedman, 2003). Faktor-faktor yang berperan dalam terjadinya fibrosis hati adalah :

1. Cedera hati
2. Inflamasi yang ditandai oleh :
 - a. Infiltrasi dan aktivasi dari berbagai sel seperti : netrofil, limfosit, trombosit dan sel-sel endotelial, termasuk sel kupffer.
 - b. Pelepasan berbagai mediator, sitokin, growth factor, proteinase berikut inhibitorynya dan beberapa jenis substansi toksik seperti reactive oxygen spesies (ROS) dan peroksida lipid.
3. Aktivasi dan migrasi sel HSC ke daerah yang mengalami cedera.
4. Perubahan jumlah dan komposisi MES akibat pengaruh HSC serta pengaruh berbagai sel, mediator dan growth factor.
5. Inaktivasi HSC, apoptosis serta hambatan apoptosis oleh berbagai komponen yang terlibat dalam perubahan MES.

2.2.3 Patogenesis Fibrosis hati. .

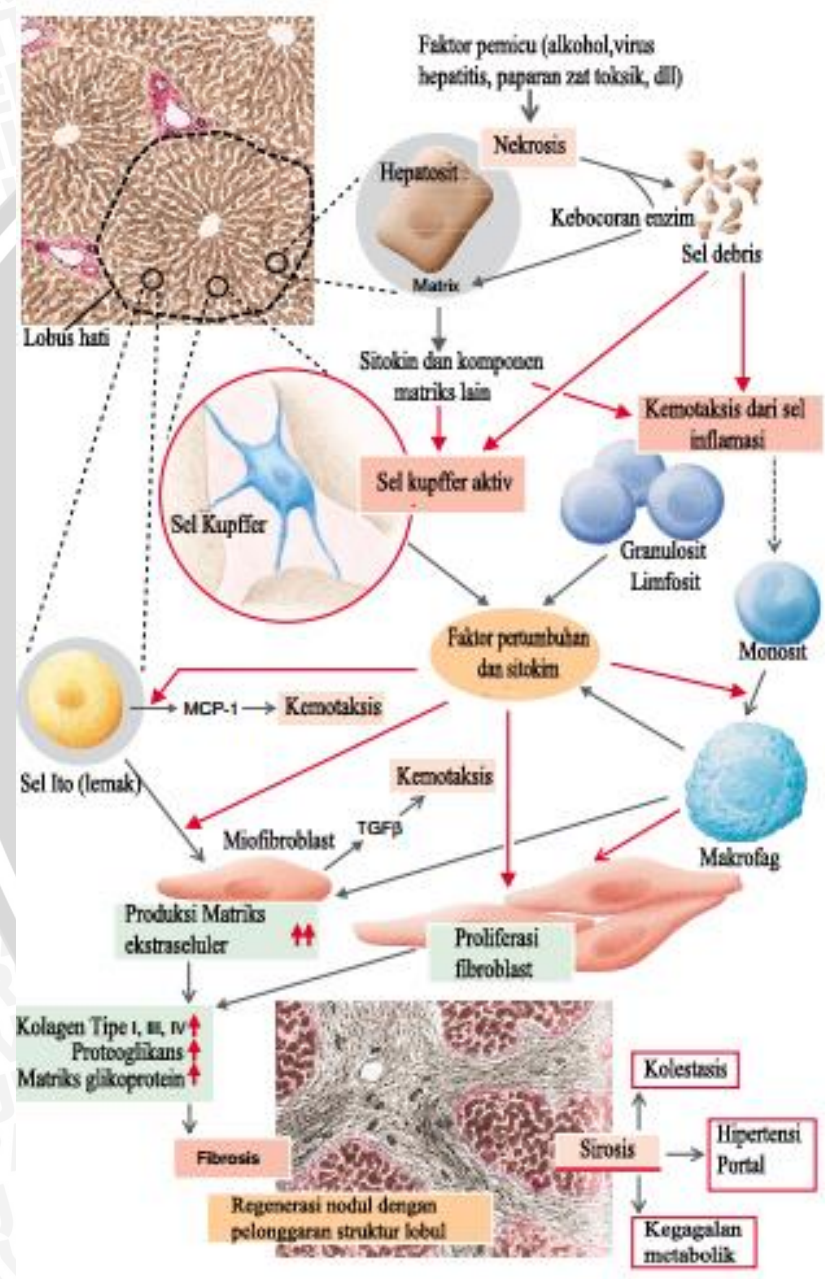
Fibrosis hati adalah terbentuknya jaringan ikat yang terjadi sebagai respon terhadap cedera hati, diawali oleh cedera hati kronis yang dapat disebabkan oleh infeksi virus, ketergantungan alkohol, nonalkoholik steatohepatitis dan penyebab lainnya (Gressner, 2006). Fibrosis hati terjadi dalam beberapa tahap. Jika hepatosit yang rusak mati, diantaranya akan terjadi kebocoran enzim lisosom dan pelepasan sitokin dari matriks ekstrasel. Sitokin ini bersama dengan debris sel yang mati akan mengaktifkan sel kupffer di sinusoid hati dan menarik sel inflamasi (granulosit, limfosit dan monosit). Berbagai faktor pertumbuhan dan sitokin kemudian dilepaskan dari sel kupffer dan dari sel inflamasi yang terlibat.

Faktor pertumbuhan dan sitokin ini selanjutnya :

- Mengubah sel HSC penyimpan lemak di hati menjadi miofibroblas
- Mengubah monosit yang bermigrasi menjadi makrofag aktif
- Memicu proliferasi fibroblas

Aksi kemotaktik transforming growth factor β (TGF- β) dan protein kemotaktik monosit (MCP-1), yang dilepaskan dari sel HSC (dirangsang oleh tumor necrosis factor α (TNF- α), platelet- derived growth factor (PDGF), dan interleukin akan memperkuat proses ini, demikian pula dengan sejumlah zat sinyal lainnya. Akibat sejumlah interaksi ini (penjelasan yang lebih rinci belum dipahami sepenuhnya), pembentukan matriks ekstraseluler ditingkatkan oleh miofibroblas dan fibroblas, yang berarti peningkatan penimbunan kolagen (Tipe I, III, IV), proteoglikan (dekorin, biglikan, lumikan, agrekan), dan glikoprotein (fibronektin, laminin, tenaskin dan undulin) di ruang disse. Fibrinolisis glikoprotein di ruang disse menghambat

pertukaran zat antara sinusoid darah dan hepatosit, serta meningkatkan resistensi aliran di sinusoid (Gressner, 2006 ; Silbernagl, 2003). Terjadinya fibrosis hati diilustrasikan pada gambar 2.3



Gambar 2.3. Ilustrasi patogenesis fibrosis hati. di kutip dari Silbernagl & Florian (2009).

Jumlah matriks yang berlebihan dapat dirusak (mula-mula oleh metaloprotease), dan hepatosit dapat mengalami regenerasi. Jika nekrosis terbatas di pusat lobulus hati, pergantian struktur hati yang sempurna dimungkinkan terjadi. Namun jika nekrosis telah meluas menembus parenkim perifer lobulus hati, akan terbentuk septa jaringan ikat. Akibatnya, regenerasi fungsional yang sempurna tidak mungkin lagi terjadi dan akan terbentuk nodul yang dikenal dengan sirosis (Silbernagl, 2003).

2.2.4 Aktivasi sel HSC

Terjadinya fibrosis hati dimulai dengan aktivasi HSC yang dibagi dalam beberapa fase, walaupun pada kenyataannya proses ini berlangsung simultan dan tumpang tindih (Bemion, 2001).

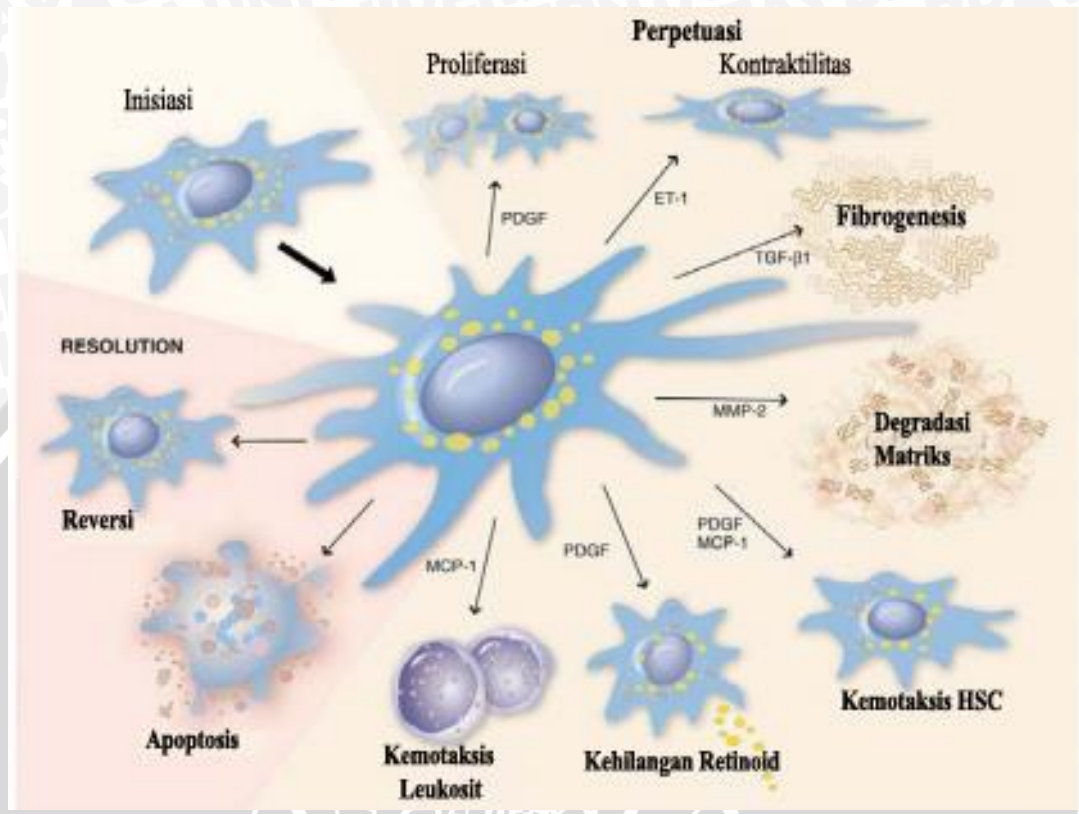
A. Fase inisiasi

Merupakan fase aktivasi HSC menjadi miofibroblas yang bersifat proliferaatif, fibrogenik dan kontraktile. Terjadi induksi cepat terhadap gen HSC akibat rangsangan dari parakrin yang berasal dari sel-sel inflamasi, hepatosit yang rusak, sel-sel duktus biliaris serta perubahan awal komposisi MES. Perubahan-perubahan tersebut menyebabkan HSC responsif terhadap berbagai sitokin dan stimulasi lokal lainnya. Pada fase inisiasi ini, setelah cedera pada sel hati, terjadi stimulasi parakrin terhadap HSC oleh sel-sel yang berdekatan dengan HSC seperti sel endotelial dan hepatosit serta sel kupffer, platelet dan leukosit yang menginfiltrasi lokal cedera hati. Stimulasi parakrin berupa :

1. Inflamasi akibat pelepasan berbagai sitokin seperti IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 yang terutama di hasilkan oleh limfosit TH2, pelepasan berbagai sitokin, faktor-faktor nekrosis dan interferon yang dihasilkan oleh sel kupffer.
2. Oksidasi, terutama oleh reactive oxygen (ROS) dan peroksida lipid yang dihasilkan oleh netrofil dan sel kupffer. Oksidanoksidan tersebut meningkatkan sintesis kolagen oleh HSC.
3. Pelepasan dan aktivitas berbagai growth factors yang terutama dihasilkan oleh sel kupffer yang teraktivasi oleh sel-sel endotelial lainnya.
4. Pengeluaran proteinase
5. Gangguan reseptor HSC. Peroxisome proliferasi reseptor yang terdapat pada reseptor HSC.

B. Fase “pengkekalan” (perpetuation phase)

Terjadi respon selular akibat proses inisiasi. Pada fase ini terjadi berbagai reaksi yang menguatkan fenotip sel aktif melalui peningkatan ekspresi berbagai faktor pertumbuhan dan responnya yang merupakan hasil rangsangan autokrin dan parakrin, serta akselerasi remodelling MES. Fase ini sangat dinamis dan berkesinambungan. Fase pengkekalan ini merupakan hasil stimulasi parakrin dan autokrin, meliputi tahap proliferasi, fibrogenesis, peningkatan kontraktilitas, pelepasan sitokin proinflamasi, kemotaksis, retinoid loss dan degradasi matriks .



Gambar 2.4. Aktifasi sel HSC. Dikutip dari Friedman SL, Arthur MJ. Reversing hepatic fibrosis. Sci Med 2003.

Tahap akhir dari fase pengkekalan adalah degradasi matriks, yang diatur oleh keseimbangan antara matrix metalloproteinase (MMP) dan antagonisnya yaitu TIMP (tissue inhibitor metalloproteinase). Degradasi MES terdiri dari degradasi restoratif yang merusak kelebihan jaringan parut, dan yang menyebabkan degradasi patologik adalah MMP- 2 dan MMP-9 dimana kedua enzim ini merusak kolagen tipe IV, serta membran type metalloproteinase 1 dan 2 (aktivator MMP-2)

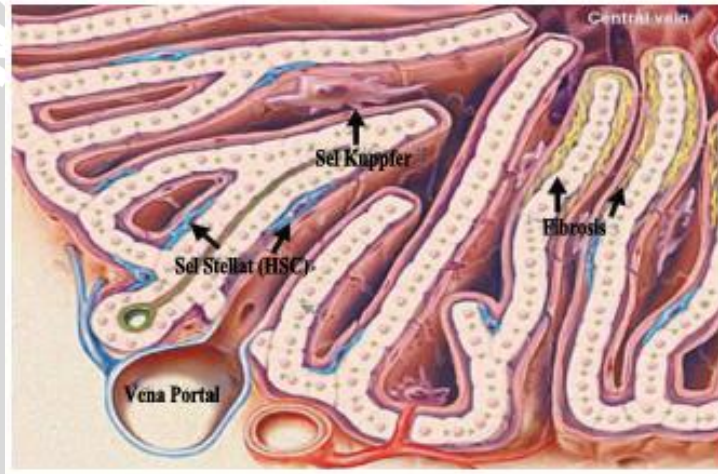
C. Fase resolusi

Pada fase ini jumlah HSC yang aktif berkurang dan integritas jaringan kembali normal. Terjadi 2 keadaan pada fase ini yaitu reversi, dimana terjadi perubahan HSC aktif menjadi inaktif dan apoptosis. Pada cedera hati apoptosis dihambat oleh berbagai faktor dan komponen matriks yang terlihat dalam proses inflamasi, dimana yang berperan penting dalam menghambat apoptosis adalah IGF-1 dan TNF- γ .

2.2.5 Perubahan Matriks Ekstraseluler

Pada jaringan hati normal terdapat MES yang merupakan kompleks yang terdiri dari tiga group makromolekul yakni kolagen, glikoprotein dan proteoglikan. Makromolekul utama adalah group kolagen yang paling dikenal pada fibrosis hati, terdiri dari kolagen interstisial atau fibrillar (kolagen tipe I,III) yang memiliki densitas tinggi dan kolagen membran basal (kolagen tipe IV) yang memiliki densitas rendah di dalam ruang Disse. Kolagen terbanyak pada jaringan hati yang normal adalah kolagen tipe IV (Grunhage, 2003). Pada fibrogenesis terjadi peningkatan jumlah MES 3 sampai 8 kali lipat, dimana kolagen tipe I dan tipe III menggantikan kolagen tipe IV. Glikoprotein adhesif yang dominan adalah laminin yang membentuk membran basal dan fibronektin yang berperan dalam proses perlekatan, diferensiasi dan migrasi sel. Proteoglikan merupakan protein yang berperan sebagai tulang punggung MES dalam ikatannya dengan glikosaminoglikan.

Pada fibrogenesis terjadi peningkatan fibronektin, asam hialuronat, proteoglikan dan berbagai glikokonjugat. Pembentukan jaringan fibrotik terjadi karena sintesis matriks yang berlebihan dan penurunan penguraian matriks. Penguraian matriks tergantung kepada keseimbangan antara enzim-enzim yang melakukan degradasi matriks dan inhibitor enzim-enzim tersebut. Akumulasi MES lebih sering berawal dari ruang Disse perisinusoid terutama pada metabolic zone 3 di asinus hati (perivenous) menuju fibrosis perisentral.



Gambar 2.5. Arsitektur sinusoidal dan lokasi sel HSC. dikutip dari Friedman SL, Arthur MJ. Reversing hepatic fibrosis. Sci Med 2003

2.2.6 Kematian Sel Hati

Struktur dan fungsi hati yang normal tergantung pada keseimbangan antara kematian sel dan regenerasi sel. Kematian sel hati dapat terjadi melalui dua proses, yakni nekrosis dan apoptosis. Pada nekrosis yang merupakan keadaan yang diawali oleh kerusakan sel, terjadi gangguan integritas membran plasma, keluarnya isi sel dan timbulnya respon inflamasi. Respon ini meningkatkan proses penyakit dan

mengakibatkan bertambahnya jumlah sel yang mati (Friedman, 2003 ; Schuppan, 2008).

Mekanisme apoptosis merupakan respon tubuh untuk menyingkirkan sel yang rusak, berlebihan maupun sel yang sudah tua. Terjadi fragmentasi DNA sedangkan organel sel tetap viabel. Saat dibutuhkan tambahan hepatosit, sel hati yang inaktif dirangsang oleh berbagai mediator termasuk sitokin untuk masuk kedalam fase G1 dari siklus mitosis sel, dimana berbagai faktor pertumbuhan termasuk nuclear factors yang merangsang sintesis DNA, keadaan ini disebut regenerasi. Pada keadaan fibrosis dan sirosis hati terjadi regenerasi secara cepat dan berlebihan sehingga nodul nodul beregenerasi. Pada kerusakan hati yang luas, hepatosit dapat dihasilkan oleh sel-sel yang berhubungan dengan duktus biliaris yang disebut dengan sel oval dan dari stemsel ekstrahepatik seperti sumsum tulang.

2.3 Albumin

Albumin merupakan protein plasma yang paling banyak dalam tubuh manusia, yaitu sekitar 55-60% dan total kadar protein serum normal adalah 3,8-5,0 g/dl. Albumin terdiri dari rantai tunggal polipeptida dengan berat molekul 66,4 kDa dan terdiri dari 585 asam amino. Pada molekul albumin terdapat 17 ikatan disulfida yang menghubungkan asam-asam amino yang mengandung sulfur. Molekul albumin berbentuk elips sehingga dengan bentuk molekul seperti itu tidak akan meningkatkan viskositas plasma dan larut sempurna. Kadar albumin serum ditentukan oleh fungsi laju sintesis, laju degradasi, dan distribusi antara kompartemen intravaskular dan ekstrasvaskular.

Cadangan total albumin 3,5-5,0 g/kg BB atau 250-300 g pada orang dewasa sehat dengan berat 70 kg, dari jumlah ini 42% berada di kompartemen plasma dan sisanya di dalam kompartemen ekstrasvaskular (Evans, 2002). Albumin manusia (human albumin) dibuat dari plasma manusia yang diendapkan dengan alkohol. Albumin secara luas digunakan untuk penggantian volume dan mengobati hipoalbuminemia (Uhing, 2004; Boldt, 2010).

2.3.1 Fungsi Albumin

Berdasarkan fungsi dan fisiologis, secara umum albumin di dalam tubuh mempertahankan tekanan onkotik plasma, peranan albumin terhadap tekanan onkotik plasma mencapai 80% yaitu 25 mmHg. Albumin mempunyai konsentrasi yang tinggi dibandingkan dengan protein plasma lainnya, dengan berat molekul 66,4 kDa lebih rendah dari globulin serum yaitu 147 kDa, tetapi masih mempunyai tekanan osmotik yang bermakna. Efek osmotik ini memberikan 60% tekanan onkotik albumin. Sisanya 40% berperan dalam usaha untuk mempertahankan intravaskular dan partikel terlarut yang bermuatan positif (Nicholson dan Wolmaran, 2000; Dubois dan Vincent, 2002).

Secara detail fungsi dan peran albumin dalam tubuh adalah seperti yang akan dipaparkan berikut:

a. Albumin sebagai pengikat dan pengangkut

Albumin akan mengikat secara lemah dan reversibel partikel yang bermuatan negatif dan positif, dan berfungsi sebagai pembawa dan pengangkut molekul metabolit dan obat. Meskipun banyak teori tentang pentingnya albumin sebagai pengangkut dan pengikat protein, namun

masih sedikit mengenai perubahan yang terjadi pada pasien dengan hipoalbuminemia (Nicholson dan Wolmaran, 2000; Khafaji dan Web, 2003; Vincent, 2003).

b. Efek antikoagulan albumin

Albumin mempunyai efek terhadap pembekuan darah. Kerjanya seperti heparin, karena mempunyai persamaan struktur molekul. Heparin bermuatan negatif pada gugus sulfat yang berikatan antitrombin III yang bermuatan positif, yang menimbulkan efek antikoagulan. Albumin serum juga bermuatan negatif (Nicholson dan Wolmaran, 2000).

c. Albumin sebagai pendapar

Albumin berperan sebagai buffer dengan adanya muatan sisa dan molekul albumin dan jumlahnya relatif banyak dalam plasma. Pada keadaan pH normal albumin bermuatan negatif dan berperan dalam pembentukan gugus anion yang dapat mempengaruhi status asam basa. Penurunan kadar albumin akan menyebabkan alkalosis metabolik, karena penurunan albumin 1 g/dl akan meningkatkan kadar bikarbonat 3,4 mmol/L dan produksi basa >3,7 mmol/L serta penurunan anion 3 mmol/L (Nicholson dan Wolmaran, 2000).

d. Efek antioksidan albumin

Albumin dalam serum bertindak memblokir suatu keadaan neurotoxic oxidant stress yang diinduksi oleh hidrogen peroksida atau copper, asam askorbat yang apabila teroksidasi akan menghasilkan radikal bebas (Gum dan Swanson, 2004).

- e. Selain yang disebut di atas, albumin juga berperan mempertahankan integritas mikrovaskuler sehingga mencegah masuknya kuman-kuman usus ke dalam pembuluh darah, sehingga terhindar dari peritonitis bakterialis spontan (Nicholson dan Wolmaran, 2000).

2.3.2 Farmakologi Albumin

2.3.2.1 Sintesis albumin

Sintesis albumin hanya terjadi di hepar. Pada orang sehat kecepatan sintesis albumin adalah 194 mg/kg/hari (12-25 gram/hari). Pada keadaan normal hanya 20-30% hepatosit yang memproduksi albumin. Sintesa albumin dalam sel hati dilakukan dalam 2 tempat, pertama dalam polisom bebas dimana bentuk albumin digunakan untuk keperluan intravaskuler. Kedua yaitu pada poliribosom yang berikatan dengan retikulum endoplasma sel hepatosit dimana dibentuk albumin untuk didistribusikan ke seluruh tubuh (Evans, 2002).

2.3.2.2 Distribusi albumin

Konsentrasi albumin tertinggi terdapat di dalam sel hati, yaitu berkisar antara 200-500 mcg/g jaringan hati. Adanya albumin di dalam plasma (kompartemen intravaskuler) ditransfer melalui salah satu dari dua cara yaitu:

- a. Langsung dari dinding sel hati ke dalam sinusoid.
- b. Melalui ruang antar sel hati dan dinding sinusoid kemudian ke saluran limfe hati yaitu duktus torasikus dan akhirnya ke dalam kompartemen intravaskuler. Hanya albumin dalam plasma (intravaskuler) yang

mempertahankan volume plasma dan mencegah edema, sedangkan albumin ekstrasvaskuler tidak berperan.

Albumin merupakan 50% dari protein plasma dan yang memelihara tekanan onkotik plasma adalah sebesar 66-75%. Sebagian fungsi albumin dapat digantikan oleh globulin yang meningkat.

2.3.2.3 Degradasi albumin

Degradasi albumin total pada orang dewasa dengan berat 70 kg adalah sekitar 14 gram/hari atau 5% dan pertukaran protein seluruh tubuh per hari, albumin dipecah di otot dan kulit sebesar 40-60%, di hati 15%, ginjal sekitar 10%, dan 10% sisanya merembes ke dalam saluran cerna melalui dinding lambung. Produk degradasi akhir berupa asam amino bebas. Pada orang sehat kehilangan albumin adalah melalui urin dan biasanya minimal tidak melebihi dari 10-20 mg/hari karena hampir semua yang melewati membran glomerulus akan diserap kembali (Evans, 2002).

2.3.2.4 Ekskresi albumin

Pemberian preparat albumin tidak diekskresi oleh ginjal. Pada keadaan sehat ekskresi albumin melalui ginjal relatif tidak penting. Penyakit ginjal dapat mempengaruhi degradasi dan sintesis. Pada sindrom nefrotik, albumin plasma dipertahankan dengan menurunkan degradasi apabila kehilangan albumin 100 mg/kg BB/hari, tetapi bila kecepatan hilangnya albumin meningkat, sintesis albumin akan meningkat lebih dan 400 mg/kg BB/hari.

2.4 Bilirubin dan Metabolisme Bilirubin

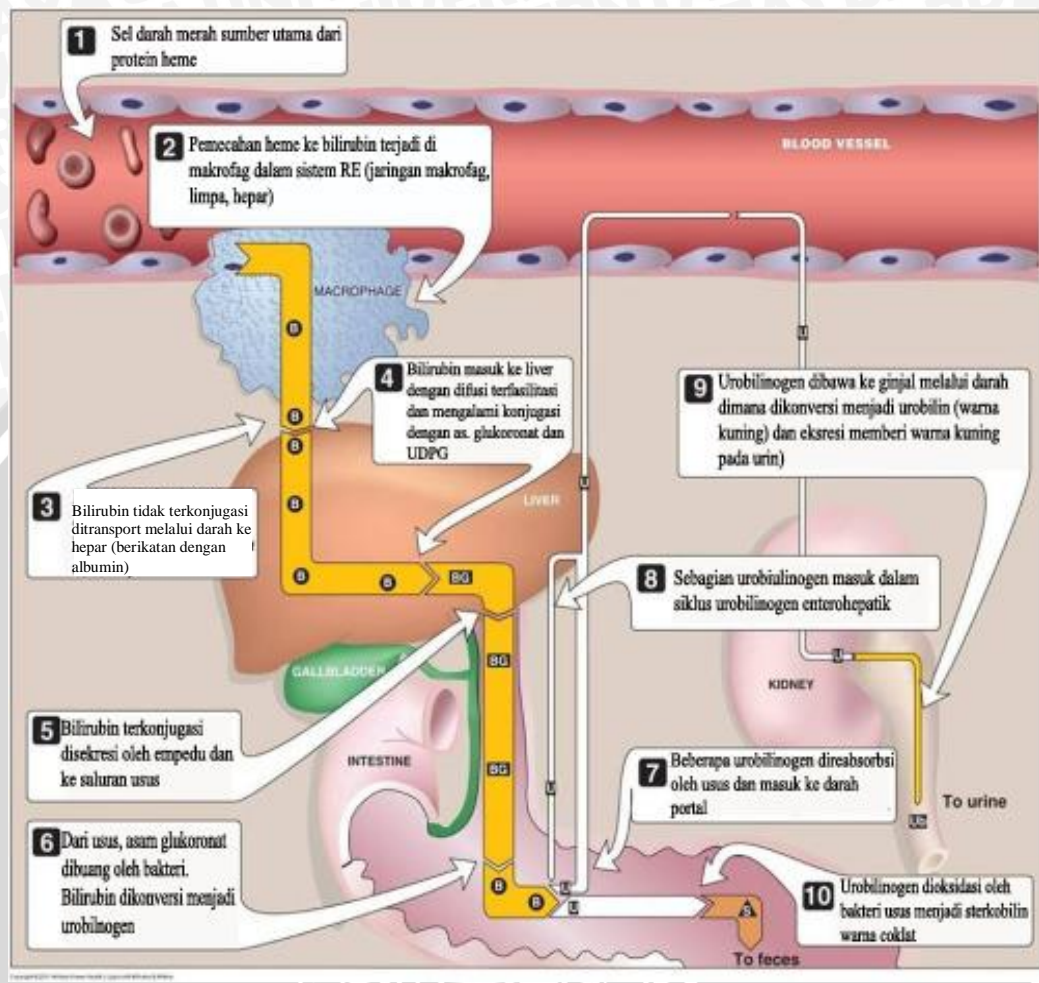
Bilirubin adalah pigmen kristal berbentuk jingga ikterus yang merupakan bentuk akhir dari pemecahan katabolisme heme melalui proses reaksi oksidasi-reduksi (Gartner, 2001). Bilirubin berasal dari katabolisme heme, dimana 75% berasal dari penghancuran eritrosit dan 25% berasal dari penghancuran eritrosit yang imatur dan heme lainnya seperti mioglobin, sitokrom, katalase dan peroksidase (Sjarif, 2011). Metabolisme bilirubin meliputi pembentukan bilirubin, transportasi bilirubin, asupan bilirubin, konjugasi bilirubin, dan ekskresi bilirubin (Gartner, 2001).

Langkah oksidase pertama adalah biliverdin yang dibentuk dari heme dengan bantuan enzim heme oksigenase yaitu enzim yang sebagian besar terdapat dalam sel hati, dan organ lain (Sjarif, 2011). Biliverdin yang larut dalam air kemudian akan direduksi menjadi bilirubin oleh enzim biliverdin reduktase (Bertini, 2001). Bilirubin bersifat lipofilik dan terikat dengan hidrogen serta pada pH normal bersifat tidak larut (Wong, 207). Pembentukan bilirubin yang terjadi di sistem retikuloendotelial, selanjutnya dilepaskan ke sirkulasi yang akan berikatan dengan albumin (Blackburn, 2007). Bilirubin yang terikat dengan albumin serum ini tidak larut dalam air dan kemudian akan ditransportasikan ke sel hepar. Bilirubin yang terikat pada albumin bersifat nontoksik (Gartner, 2001).

Pada saat kompleks bilirubin-albumin mencapai membran plasma hepatosit, albumin akan terikat ke reseptor permukaan sel. Kemudian bilirubin, ditransfer melalui sel membran yang berikatan dengan ligandin (protein Y), mungkin juga dengan protein ikatan sitotoksik lainnya. Berkurangnya kapasitas pengambilan hepatic bilirubin yang

tak terkonjugasi akan berpengaruh terhadap pembentukan ikterus fisiologis (Sjarif, 2011).

Bilirubin yang tak terkonjugasi dikonversikan ke bentuk bilirubin konjugasi yang larut dalam air di retikulum endoplasma sel hepatosit dengan bantuan enzim uridine diphosphate glucorononyl transferase (UDPG-T). Bilirubin ini kemudian diekskresikan ke dalam kanalikulus empedu (Sjarif, 2011). Sedangkan satu molekul bilirubin yang tak terkonjugasi akan kembali ke retikulum endoplasmik untuk rekonjugasi berikutnya (Wong, 2007). Setelah mengalami proses konjugasi, bilirubin akan diekskresikan ke dalam kandung empedu, kemudian memasuki saluran cerna dan diekskresikan melalui feses (Kaplan, 2010). Setelah berada dalam usus halus, bilirubin yang terkonjugasi tidak langsung dapat diresorpsi, kecuali dikonversikan kembali menjadi bentuk tidak terkonjugasi oleh enzim beta-glukoronidase yang terdapat dalam usus. Resorpsi kembali bilirubin dari saluran cerna dan kembali ke hati untuk dikonjugasi disebut sirkulasi enterohepatik (Gartner, 2001).



Gambar 2.6 Metabolisme Bilirubin dalam tubuh (Gartner, 2001)

2.5 Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*)

Berikut adalah taksonomi dari temulawak (Meilisa, 2009):

- Kingdom : Plantae
- Divisi : Spermatofita
- Sub divisi : Angiospermae
- Kelas : Monokotiledoneae
- Famili : Zingiberales

Ordo : Zingiberaceae
Genus : Curcuma
Spesies : *Curcuma xanthorrhiza*

Rimpangnya berbentuk bulat dan berukuran besar. Rimpang induk dapat memiliki banyak cabang sehingga bentuk keseluruhan rimpang beraneka. Kulit luar berwarna kuning tua atau cokelat kemerahan, dan jika dibelah akan terlihat daging rimpang berwarna orange tua, beraroma khas temulawak dan rasanya pahit (Meilisa, 2009). Temulawak terdiri dari fraksi pati, kurkuminoid, dan minyak atsiri. Pati merupakan komponen terbesar pada temulawak yaitu sekitar 48,18%-59,64%. Temulawak hanya mempunyai 2 dari 3 pigmen kurkuminoid, yaitu kurkumin dan desmetoksi kurkumin sekitar 2 – 3,3%. Hal inilah yang menyebabkan temulawak lebih mudah diekstrak daripada kunyit (Rahardjo & Oti, 2005). Sedangkan minyak atsiri pada temulawak terdiri dari isofuranogermakren, trisiklin, allo-aromadendren, gemakren, xanthorrhizol dengan kadar sekitar 6-10% (Dalimartha, 2000).

Di Asia tenggara, temulawak secara tradisional digunakan untuk sejumlah penyakit seperti hepatitis, penyakit liver, diabetes, rematik, kanker, hipertensi dan penyakit jantung, dengan khasiat anti inflamasi, antioksidan, antiinflamasi, efek anti kanker, dan lain-lain (Rahardjo & Oti, 2005). Di Indonesia, temulawak dikenal mempunyai efek hepatoprotektif dan digunakan untuk penyakit hepatitis. Keefektifan temulawak dalam menurunkan kadar AST-ALT and γ -glutamate transferase mengindikasikan efek hepatoprotektif tanaman ini (Devaraj *et al*, 2010). Curcumin juga mampu meningkatkan *glutathion S-transferase* (GST) dan mampu menghambat

beberapa faktor proinflamasi seperti *nuclear factor- κ B* (NF- κ B) dan profibrotik sitokin. Aktifitas penghambatan pembentukan NF- κ B merupakan faktor transkripsi sejumlah gen penting dalam proses imunitas dan inflamasi, salah satunya untuk membentuk TNF- α . Dengan menekan kerja NF- κ B maka radikal bebas dari hasil sampingan inflamasi berkurang sehingga terjadi peningkatan enzim hati seperti kadar AST, ALT dan albumin (Sharma, 2004).

2.6 Jintan hitam (*Nigella sativa*)

Berikut adalah taksonomi dari jintan hitam (Ahmad *et al.*, 2013):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatofita
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monokotiledoneae
Famili	: Ranunculales
Ordo	: Ranunculaceae
Genus	: <i>Nigella</i>
Spesies	: <i>Nigella sativa</i>



Jintan hitam merupakan herba tahunan dengan tinggi 20-90 cm yang tersebar luas di negara-negara Asia dan Mediterania serta di Eropa dan Afrika Utara. Setiap tanaman jintan hitam dapat memiliki 5-10 bunga dengan warna putih, kuning atau biru pucat. Sedangkan bijinya berwarna hitam dengan aroma menyengat, rasa pahit,

berukuran kecil, kaku, berbentuk busur rata menyerupai corong dengan panjang sekitar 0,2 cm dan lebar 0,1 cm (Orbell & Coulepis, 2007; Ahmad *et al.*, 2013).

Studi *ethnomedicine* menyebutkan bahwa tanaman ini kaya sejarah dan latar belakang agama dan telah digunakan selama ribuan tahun sebagai pengobatan tradisional kuratif untuk berbagai penyakit (Orbell & Coulepis, 2007). Komponen utama dari biji jintan hitam adalah timokuinon (30%-48%), timohidrokuinon, ditimokuinon, p-simen (7%-15%), karvakrol (6%-12%), 4-terpineol (2%-7%), t-anetol (1%-4%), seskuiterpen longifolen (1%-8%) α -pinendan timol, dan lain-lain (Ahmad *et al.*, 2013). Timokuinon i berperan terhadap berbagai efek terapeutik dari tanaman ini, seperti melindungi hepatosit dari toksin eksogen dan dari efek toksik cisplatin dan CCl_4 (Orbell & Coulepis, 2007). Pada penelitian Jaswal (2013), kandungan timokuinon dapat menjaga fungsi hati sehingga menormalkan kadar bilirubin, albumin, kolesterol, bilirubin dan albumin.

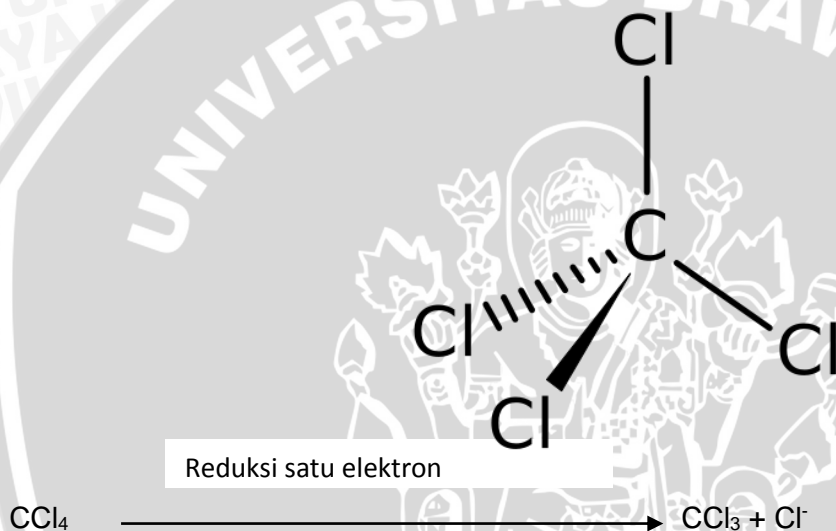
2. 7 Karbon Tetraklorida (CCl_4)

Karbon tetraklorida merupakan senyawa kimia yang berwarna jernih, tidak berwarna, mudah menguap dan mempunyai bau yang khas. Cairan ini mudah larut dengan sebagian besar pelarut alifatik dan cairan ini sendiri merupakan pelarut, tetapi cairan ini sukar larut dalam air. CCl_4 tidak mudah terbakar dan stabil di dalam udara dan cahaya. Dekomposisi dari CCl_4 meliputi karbonil klorida, karbon dioksida, dan asam hidroklorida (WHO, 2004).

Penyerapan CCl_4 pada sistem gastrointestinal dan saluran pernafasan hewan dan manusia berlangsung dengan baik. Penyerapan cairan CCl_4 mungkin dapat saja

terjadi, namun penyerapan uap di dalam kulit berlangsung lambat. Konsentrasi CCl_4 tertinggi setelah didistribusikan terdapat pada bagian organ hepar, otak, ginjal, lemak otot dan darah. Senyawa induk dihilangkan terutama saat menghembuskan nafas, sementara konsentrasi minimal diekskresikan di dalam urin dan feses,

Struktur kimia dari CCl_4 adalah



(Halliwell dan Gutherdge, 1999)

Langkah pertama dalam biotransformasi CCl_4 yang dikatalisis oleh enzim sitokrom P-450, mengakibatkan pembentukan senyawa radikal triklorometil yang reaktif. Biotransformasi CCl_4 jalur oksidatif merupakan jalur yang paling utama dalam mengeliminasi radikal sehingga terbentuk radikal triklorometilperoxil yang bersifat lebih reaktif dibandingkan triklorometil. Senyawa ini dapat bereaksi lebih lanjut untuk membentuk karbonil klorida.

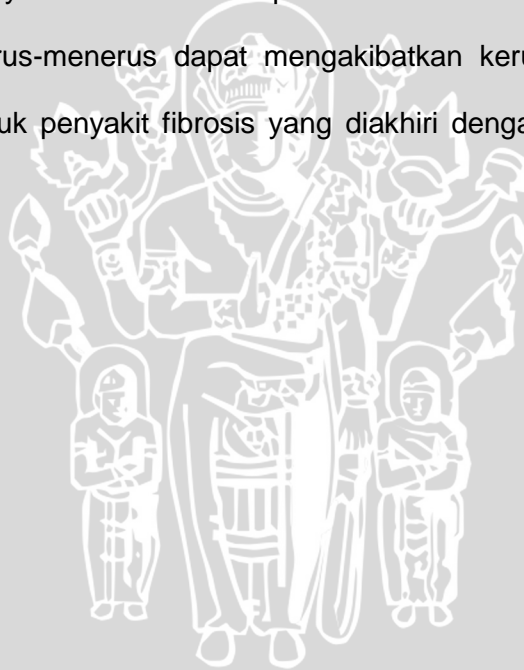
Menurut Halliwell dan Gutheridge (1999), reaksi CCl_4 dan Cl_2 terjadi dengan bantuan sinar UV yang menyediakan energi cukup untuk menyebabkan *hemolytic fission* pada ikatan kovalen molekul halogen.

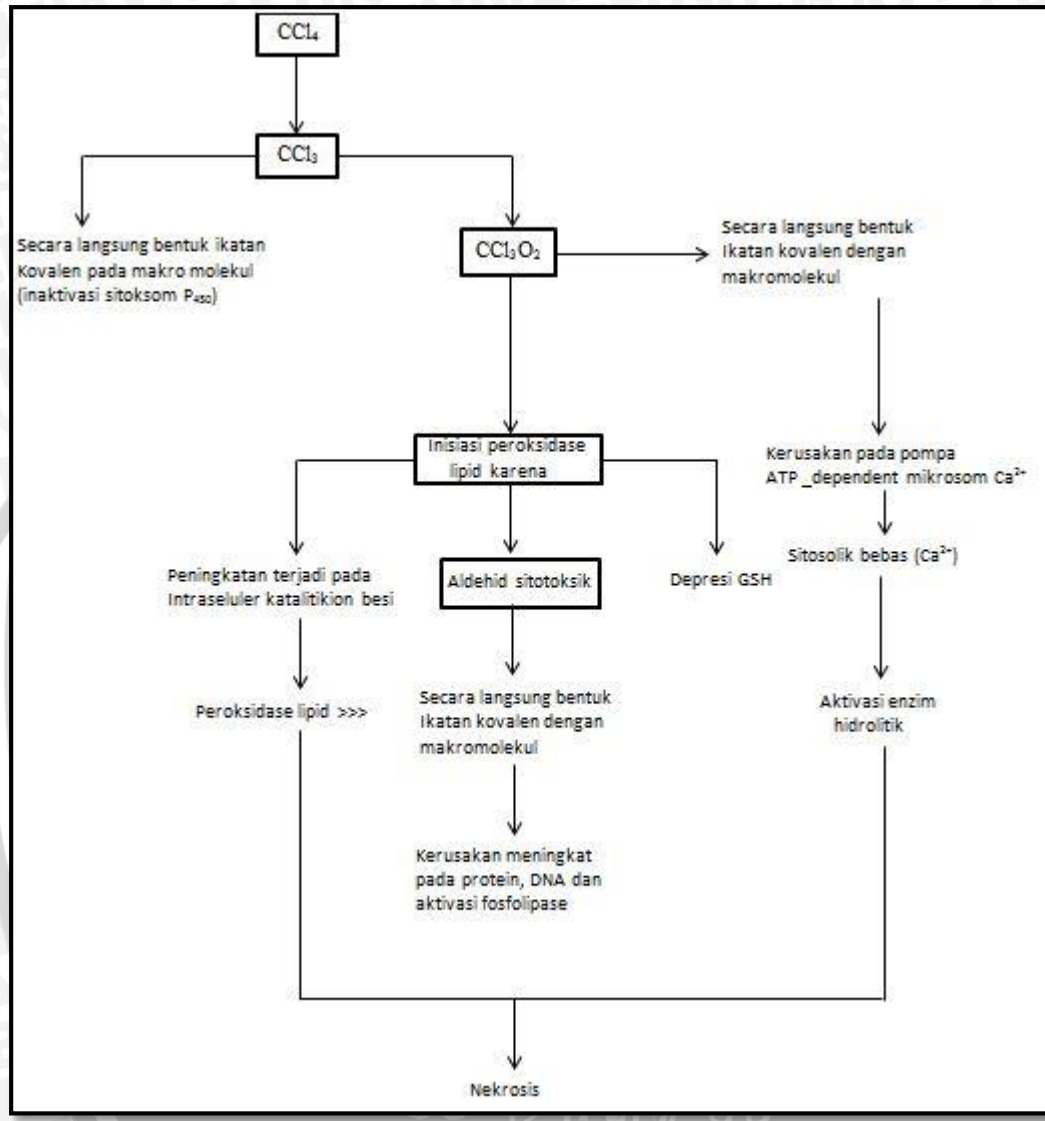
2. 7.1 Mekanisme kerusakan Hepar Akibat CCl_4

Kerusakan hepar akibat terpapar dengan CCl_4 tergantung pada dosis yang diberikan. Absorpsi CCl_4 dapat berlangsung melalui inhalasi, namun dapat juga melalui seluruh permukaan tubuh termasuk kulit. Prinsipnya kerusakan hepatosit akibat paparan CCl_4 diakibatkan karena pembentukan radikal bebas, peroksidasi lipid, dan penurunan aktivitas enzim-enzim antioksidan. Manifestasi kerusakan hepar secara histologis akan ditemukan infiltrasi lemak, nekrosis sentrilobular, fibrosis dan akhirnya sirosis . Kerusakan hepar akibat terpapar akut oleh CCl_4 biasanya ditandai oleh nekrosis sentilobular dan steatosis. Paparan akut dosis tinggi CCl_4 mengakibatkan nekrosis sentrilobular dengan atau tanpa steatosis dan hasil paparan berulang dapat menyebabkan fibrosis dan sirosis.

Hepatotoksisitas oleh CCl_4 terjadi setelah CCl_4 dimetabolisme oleh retikulum endoplasma dan mitokondria sehingga terbentuk radikal bebas triklorometil (CCl_3). Radikal bebas ini bereaksi dengan oksigen membentuk triklorometilperoksi yang merupakan radikal bebas yang lebih reaktif (CCl_3O_2), yang memulai proses peroksidasi lipid dan lama-kelamaan akan menjadi nekrosis. Biotransformasi ini terutama dimediasi oleh CYP2E1. Pada sentrilobular hepatosit terdapat banyak CYP2E1 dan daerah ini merupakan dampak toksisitas CCl_4 . Radikal bebas CCl_3 juga dapat mengikat makromolekul penting secara irreversible, seperti protein, lipid, dan

nukleat asam, sehingga mengakibatkan gangguan atau kematian sel (nekrosis sel). Radikal bebas yang terikat secara kovalen terhadap CYP2E1 menyebabkan hilangnya aktivitas CYP2E1. Selain itu, CCl_4 dapat menghambat retikulum endoplasmik atau penyerapan kalsium dan ini kemungkinan yang menyebabkan kerusakan yang juga diperantarai oleh peroksidase lipid, yang juga berakibat pada peningkatan konsentrasi kalsium dalam sel. Peningkatan konsentrasi kalsium dalam sel dapat mengaktifkan fosfolipase A_2 yang mempengaruhi kerusakan membran plasma dan regenerasi mitokondria yang menyebabkan transisi permeabilitas mitokondria. Hal yang berlangsung secara terus-menerus dapat mengakibatkan kerusakan hepar yang parah sehingga terbentuk penyakit fibrosis yang diakhiri dengan sirosis (McIntyre, 2007).





Gambar 2.7 Mekanisme kerusakan hepar oleh CCl4 yang menyebabkan sel hepar mati (nekrosis) (Halliwell dan Gutherde, 1999)

2.8 Obat Pemandang

2.8.1 Silimarin

Silimarin adalah flavolignan (fraksi polifenol) yang diperoleh dari biji atau buah *Silibum marianum* atau tanaman yang juga biasa disebut *milk thistle*, yaitu tanaman *edible* (dapat dimakan). Tanaman ini sudah secara luas diresepkan oleh herbalis terutama untuk pengobatan penyakit hati. Tanaman ini merupakan tanaman asli dari suku Mediterania dan tumbuh di seluruh Eropa, Amerika Utara, India, Cina, Amerika Selatan, Afrika, dan Australia. Secara keseluruhan, Silimarin memiliki aktivitas antioksidan, imunomodulator, antikanker, antiinflamasi, antihepatotoksik. Silimarin memiliki empat isomer flavolignan, yaitu silibinin (silibin A dan B), isosilibinin (isosilibin A dan B), silikristin dan silidianin dengan rumus empiris $C_{25}H_{22}O_{10}$ (Govind *et al.*, 2011). Silibin merupakan komponen bioaktif dari silimarin. Bentuk yang terdapat paling banyak adalah diastereoisomer silibin A dan silibin B. Silimarin mempunyai aktivitas antioksidan, regenerasi hepatosit, menurunkan reaksi inflamasi dan fibrogenesis (Feher & Lengyel, 2012).

Sifat hepatoprotektor dari silimarin ditunjukkan dengan kemampuan mengantagonis toksin dari jamur *Amanita phalloides* dan menurunkan toksisitas akibat faloidin, galaktosamin, parasetamol, karbon tetraklorida, thioasetamida, dan halotan (Govind & Sahni, 2011). Terdapat beberapa mekanisme hepatoprotektif dari silimarin, antara lain (1) menghambat peroksidasi lipid sebagai hasil dari penangkapan radikal bebas dan kemampuan untuk meningkatkan kadar glutation sel, (2) meregulasi permeabilitas membran dan meningkatkan stabilitas membran akibat

adanya xenobiotik, (3) meregulasi ekspresi nukleus, serta (4) menghambat tranformasi HSC menjadi miofibroblas yang berperan dalam deposisi kolagen sehingga terjadi sirosis (Fraschini *et al.*, 2002).

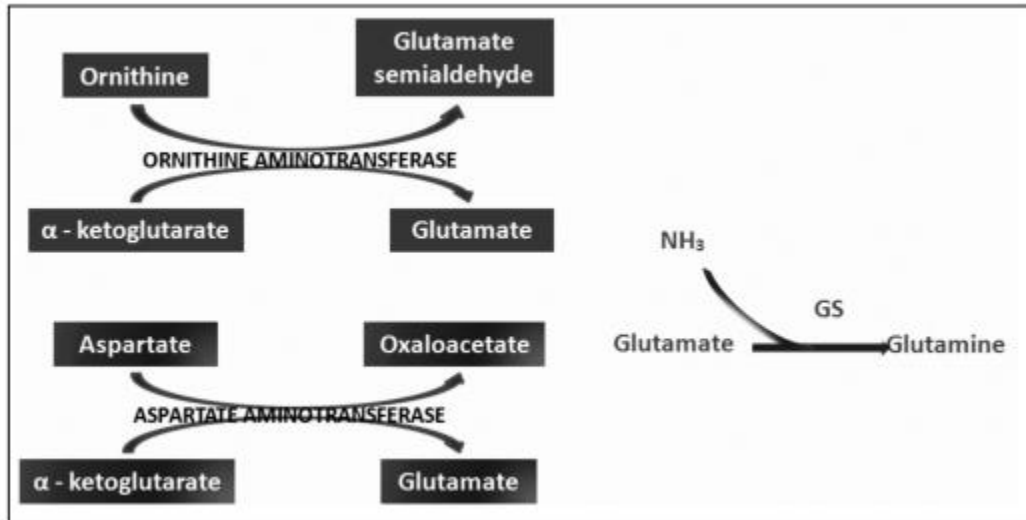
Aktivitas hepatoprotektif silimarin didapat karena adanya antioksidan dari flavonolignan. Selain itu juga beraksi melalui rangsangan regenerasi hepatosit dan stabilisasi membran sel untuk mencegah agen hepatotoksik memasuki hepatosit. Flavonolignan menghambat produksi leukotrien, penghambatan ini menjelaskan aktivitas antiinflamasi dan anti fibrosis (Abouzid, 2003). Silibinin yang merupakan salah satu komponen dari silimarin dinyatakan mampu bekerja sebagai antagonis CXCR4 pada kanker sel payudara (Wang *et al.*, 2014)

2.8.2 L-ornitin L-aspartat (LOLA)

LOLA merupakan garam stabil dari asam amino ornitin dan asam aspartat (Abid *et al.*, 2011). LOLA terkenal dengan sifat hepatoprotektornya. Menurut Mailankot, *et al.* (2009), LOLA bekerja dengan mencegah penurunan kadar GSH dan destruksi ROS. Efek antiosidan yang terdapat dalam LOLA digunakan untuk melawan ROS, membalikkan perpanjangan peroksidase lipid, dan memperbaiki enzim penangkap ROS pada testis. Menurut Abdul, *et al.* (2010), terdapat 2 mekanisme hepatoprotektif dari LOLA, yaitu :

- a. Memperkuat pertahanan antioksidan endogen
- b. Stabilisasi membran sel hepar sehingga mempertahankan integritas membran sel sehingga dalam jangka lama dapat menurunkan kadar ROS yang masuk sel hepar.

Mekanisme kerja lain dari LOLA adalah dengan menurunkan kadar amonia dan meningkatkan detoksifikasi amonia. Urea di sintesis urea dengan kapasitas yang tinggi dan afinitas rendah pada sebagian besar hepatosit periportal. LOLA merupakan substrat penting bagi urea dan jalur utama sintesis glutamin pada detoksifikasi amonia dalam hati. Ornitin bertindak sebagai substrat untuk pembentukan urea, oleh karena itu LOLA dapat mengaktivasi siklus urea periportal (Gambar 2.7) sehingga sintesis glutamin dilakukan dengan kapasitas yang tinggi dan afinitas relatif rendah yang terletak di hepatosit perivenous. Ornitin akan diubah menjadi α -ketoglutarat yang akan di *uptake* oleh hepatosit perivenous sebagai sumber karbon untuk sintesis glutamine. LOLA juga meregulasi sintesis glutamin dalam otot rangka dengan bantuan enzim glutamin sintetase (GS). LOLA telah terbukti mengurangi kadar amonia dalam model eksperimental hiperamonemia dan pada pasien sirosis (Acharya *et al.*, 2009)



Gambar 2.8 Jalur Amonia yang Diinduksi oleh LOLA.

LOLA merupakan substrat perantara pada siklus urea. LOLA menurunkan kadar amonia dengan merangsang ureagenesis. L-ornitin dan L-aspartat dapat bereaksi dengan α-ketoglutarat menjadi glutamat, melalui ornithin aminotransferase (OAT) dan aspartat aminotransferase (AAT), berurutan. Molekul glutamat yang dihasilkan dapat digunakan untuk menstimulasi glutamin sintetase, sehingga membentuk glutamin dan mengeluarkan amonia. Meskipun demikian, glutamin dapat dimetabolisme oleh *phosphate-activated glutaminase* (PAG) dan menghasilkan amonia kembali (Acharya, 2009).