

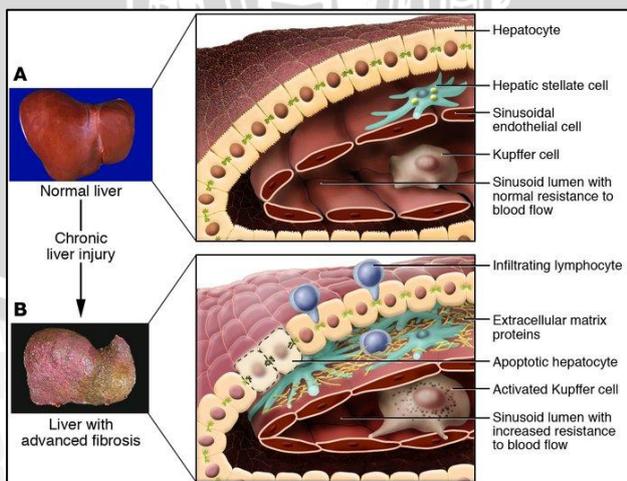
BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Fibrosis Hati

2.1.1 Pengertian Fibrosis Hati

Fibrosis hati adalah kerusakan hati kronis yang berhubungan dengan akumulasi protein matrik ekstraseluler (MES), yang merupakan karakteristik dari sebagian besar jenis penyakit hati kronis. Penyebab utama fibrosis hati pada negara-negara maju yaitu karena infeksi kronis HCV, penyalahgunaan alkohol, dan NASH. Akumulasi protein matrik ekstra seluler (MES) mengubah struktur hati dengan membentuk jaringan fibrosa, dan dapat berkembang menjadi nodul nodul di jaringan hati yang disebut dengan sirosis hati. Fibrosis hati merupakan hasil dari respon penyembuhan luka yang berulang (Friedman, 2003). Fibrosis hati terjadi ditandai dengan aktivasi selular dari *Hepatic stellate Cells* (HSC) dan mediatornya. Proses fibrosis hati dikaitkan dengan respon inflamasi terhadap *Hepatic stellate Cells* (HSC) dan akumulasi matriks ekstraseluler (Amirudin, 2007).



**Gambar 2.1.** Perubahan struktur hati (A) Berhubungan dengan fibrosis hati. (B). Setelah cedera hati kronis.



### 2.1.2 Etiologi Fibrosis Hati

Timbulnya fibrosis hati dapat berbahaya dan sebagian besar morbiditas dan mortalitas berkaitan dengan setelah terjadinya sirosis (Poynard *et al.*, 2000). Pada sebagian besar pasien, sirosis terjadi dalam waktu 15 hingga 20 tahun. Fibrosis yang tidak tertangani dengan baik dapat menyebabkan sirosis, komplikasi utama dari sirosis yaitu asites, gagal ginjal, enselopati, dan perdarahan varises. Dekompensasi sirosis berkaitan dengan kelangsungan hidup pada pasien dan transplantasi hati sering diindikasikan sebagai satu-satunya terapi yang efektif (Davis, Albright, Cook, dan Rosenberg, 2003). Sirosis juga merupakan faktor risiko untuk karsinoma hepatoseluler. Fibrosis hati dapat berkembang menjadi sirosis dalam beberapa kriteria klinis, termasuk hepatitis alkoholik akut, hepatitis subfulminant, dan kolestasis, infeksi berulang HCV setelah transplantasi hati (Berenguer, *et al.*, 2004). Fibrosis hati dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan. Studi epidemiologis telah mengidentifikasi polimorfisme di sejumlah kandidat gen yang dapat mempengaruhi perkembangan fibrosis hati pada manusia (Bataller, North, dan Brenner, 2003).

**Tabel 2.1.** Faktor genetik dan non genetik yang berhubungan dengan progresi fibrosis pada berbagai jenis penyakit hati kronis (Bataller R, North KE, Brenner DA., 2003).

Jenis Penyakit Hati	Candidate Genes	Candidate Genes (Full names)	Faktor Non genetic
Infeksi Virus Hepatitis	HFE	Hereditary hemochromatosis gene	Konsumsi alkohol
	Angiotensinogen	Angiotensinogen	Koinfeksi HIV dan/atau virus hepatitis B
	TGF $\beta$ 1	Transforming growth factor $\beta$ 1	Usia saat terjadi infeksi akut
	TNF- $\alpha$	Tumor necrosis factor $\alpha$	Transplantasi hati
	ApoE	Apolipoprotein E	Diabetes Melitus
	MEH	Microsomal epoxide hydroxylase	Tidak berespon terhadap terapi

	<i>MCP-1</i>	Monocyte chroamtactic protein type 1	
	<i>MCP-2</i>	Monocyte chroamtactic protein type 2	
	<i>Factor V</i>	Factor V (Leiden)	
<b>Diinduksi alcohol</b>	<i>IL-10</i>	Interleukin 10	<b>Konsumsi Alkohol</b>
	<i>IL-1<math>\beta</math></i>	Interleukin 1 $\beta$	<b>Episode hepatitis alkoholik</b>
	<i>ADH</i>	Alcohol dehydrogenase	
	<i>ALDH</i>	Aldehyde dehydrogenase	
	<i>CYP2E1</i>	Cytocrome P450, family 2, subfamily e, polypeptide 1	
	<i>TNF-<math>\alpha</math></i>	Tumor necrosis factor $\alpha$	
	<i>CTLA-4</i>	Cytotoxic T lymphocyte antigen type 4	
	<i>TAP2</i>	Transporter associated processing type 2	
	<i>MnSOD</i>	Manganse superoxide dismutase	
<b>NASH</b>	<i>HFE</i>	Hereditary hemochromatosis gene	<b>Usia</b>
	Angiotensinogen	angiotensinogen	<b>Beratnya obesitas</b>
	<i>TGF-<math>\beta</math>1</i>	Transforming growth factor $\beta$ 1	<b>Diabetes Melitus</b>
			<b>Hipertrigleserida</b>
<b>Sirosis bilier primer</b>	<i>IL-1<math>\beta</math></i>	Interleukin 1 $\beta$	
	<i>TNF-<math>\alpha</math></i>	Tumor necrosis factor $\alpha$	
	<i>ApoE</i>	Apolipoprotein E	
<b>Hepatitis autoimun</b>	<i>HLA-II</i>	Human leukocyte antigen type II haplotypes	<b>Hepatitis autoimun tipe II</b>
			<b>Tidak berespon terhadap terapi</b>

### 2.1.3 Patogenesis Fibrosis Hati

Fibrosis hati merupakan respon penyembuhan luka terhadap lesi berulang. Hal penting dalam terjadinya fibrosis adalah cedera pada sel hepatosit. Sel hepatosit yang cedera akan mengundang beberapa sitokin mediator inflamasi untuk mengaktivisi HSC. HSC yang teraktivasi menjadi fenotip miofibroblast

ini akan meningkatkan produksi matriks ekstraseluler, yang berakibat pada penimbunan kolagen (Tipe I, III, dan IV), proteoglikan (dekorin, biglikan, lumikan, agrekan), dan glikoprotein (fibronektin, laminan, tenaskin, danuduin) di ruang Disse. Terjadinya fibrogenesis pada hati dipengaruhi oleh matriks ekstraseluler yang meningkat (Rockey, 2000).

#### 2.1.4 Aktivasi *Hepatic stellate Cells* (HSC)

##### 2.1.4.1. Fase Inisiasi

Merupakan fase aktivasi HSC menjadi miofibroblas yang bersifat proliferasi, fibrogenik, dan kontraktile. Perubahan paling awal sel HSC adanya stimulasi parakrin yang berasal dari sel-sel inflamasi, hepatosit yang rusak, sel-sel duktus biliaris serta perubahan awal komposisi MES. Perubahan tersebut menyebabkan HSC responsif terhadap berbagai sitokin dan stimulasi lokal lainnya. Stimulasi parakrin awal, termasuk paparan peroksida lipid, hasil sel hepatosit yang rusak, sinyal sel Kupffer dan sel endotel, mendorong aktivasi awal, serta menyebabkan perubahan komposisi matriks ekstraseluler. Stimulasi Parakrin berupa :

1. Inflamasi akibat pelepasan berbagai sitokin seperti IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 yang dihasilkan oleh limfosit Th2, pelepasan sitokin, factor-faktor nekrosis dan interferon yang dihasilkan oleh sel kupffer (Winnock, Garcia, Lukomska, *et al.*, 1995; Tiegs, Hentschel, dan Wendel, 1992)
2. Oksidasi, terutama oleh *reactive oxygen species* (ROS) yang dihasilkan oleh sel kupffer. ROS diproduksi secara internal oleh sel HSC atau dilepaskan ke lingkungan ekstraseluler yang mampu

meningkatkan aktivasi sel dan sintesis kolagen. Sel Kupffer juga memproduksi *nitric oxide* (NO), yang dapat mengimbangi efek stimulasi dari ROS dengan mengurangi proliferasi sel dan kontraktilitas (Nieto, Friedman, Greenwel, Cederbaum, 1999; Svegliati, Saccomanno, Van, Jansen, Benedetti, Moshage, 2001).

3. Pelepasan dan aktivasi berbagai faktor pertumbuhan yang dihasilkan oleh sel *kupffer* yang teraktivasi oleh sel-sel endotel lainnya.
4. Pengeluaran proteinase

#### **2.1.4.2. Fase Pengkekalan (*Perpetuation Phase*)**

Beberapa jenis sel terlibat dalam hati yang normal, seperti sel *kupffer*, sel sinusoid endotel, trombosit, dan HSC diaktifkan dalam memproduksi sitokin dan mediator lain. Setelah diaktifkan, HSC akan mengatur ekspresi komponen gen matrik ekstraseluler. Fase pengkekalan ini merupakan hasil stimulasi parakrin, autokrin, yang meliputi tahap proliferasi, fibrogenesis, peningkatan kontraktilitas, pelepasan sitokin proinflamasi, kemotaksis, *retinoid loss* dan degradasi matriks.

Tahap akhir dari fase pengkekalan adalah degradasi matrik. HSC membutuhkan semua komponen kunci untuk degradasi matriks yang diatur oleh keseimbangan antara *Matrix Metalloproteinase* (MMP) dan antagonisnya yaitu *Tissue Inhibitor Metalloproteinase* (TIMP). Enzim *matrix metalloproteinase* telah diidentifikasi dapat menurunkan kolagen dan substrat non kolagen. Secara umum enzim ini dibagi menjadi 5 berdasarkan spesifisitas substrat salah satunya adalah MMP-2 (Arthur,

Stanley, Iredale, Rafferty, Hembry, dan Friedman, 1992; Milani, Herbst, Schuppan *et al.*, 1994).

#### 2.1.4.3. Fase Resolusi

Pada fase ini HSC yang aktif mulai berkurang sebagai integritas jaringan yang dipulihkan atau kembali normal. Terjadi 2 keadaan pada fase ini yaitu *reverse* (pengembalian) yaitu pada *Peroksisom proliferasi-activated receptor  $\gamma$*  (PPAR  $\gamma$ ) merupakan bagian dari reseptor hormon tiroid yang terlibat dalam beberapa penyakit metabolik dan bertindak sebagai heterodimerobligat dengan reseptor retinoid X untuk mengatur transkripsi gen dan diferensiasi sel. Ekspresi protein PPAR  $\gamma$  berkurang di HSC ketika diaktifkan (Miyahara, Schrum, Rippe, Xiong, Yee, Motomura, *et al.*, 2000). Fase berikutnya adalah Apoptosis HSC untuk menurunkan jumlah HSC yang aktif selama fase resolusi fibrosis hati.

#### 2.1.5 Penentuan Derajat Fibrosis Hati

Derajat suatu penyakit diukur untuk mengetahui sudah seberapa jauh progresi abnormalitas yang terjadi dari keadaan normalnya (Goodman, 2007). Sejauh ini, standar emas penentuan derajat keparahan fibrosis hati adalah biopsi hati (Poynard *et al.*, 2011). Biopsi hati memiliki dua fungsi utama, yaitu untuk mendiagnosis penyakit hati sebagai evaluasi pasien yang memiliki berbagai penyakit hati dan menilai derajat keparahannya, termasuk derajat pembentukan sikatrik, progresivitas fibrosis, serta berbagai komplikasi lain yang dapat terjadi (Goodman, 2007). Biopsi hati yang akurat dapat ditentukan dari panjang dan lebar. Panjang minimal 2,5 cm diperlukan untuk mendapatkan sampel yang adekuat. Kekurangan dari biopsi hati akan terasa dalam mendiagnosis kelainan

herediter berupa distribusi fibrosis yang tidak merata pada seluruh bagian hati. Hanya 1/50.000 bagian hati saja yang diambil dari biopsi sehingga kemungkinan adanya kesalahan dalam pengambilan sampel tidak dapat dihindari (Anom dan Wibawa, 2010).

Saat ini, terdapat tiga metode sederhana yang sering digunakan untuk menilai derajat fibrosis hati berdasarkan biopsi, yakni skor Metavir, Desmet/Scheuer, dan Ishak, yang selanjutnya akan dibagi menjadi beberapa kategori. Terdapat empat tingkatan derajat fibrosis pada skor Metavir (Goodman, 2007) (Poynard *et al.*, 2011).

- F0 : tidak ada fibrosis
- F1 : ada fibrosis terbatas di area porta
- F2 : fibrosis perifer di area porta, terbentuk septum fibrosa, terjadi kerusakan arsitektur intralobular.
- F3 : terjadi septum fibrosa disertai kerusakan struktur intralobular, belum terlihat sirosis.
- F4 : terjadi sirosis.

Selain biopsi hati, terdapat beberapa metode yang dikembangkan untuk penentuan derajat fibrosis hati, seperti *Transient elastography* (TE), serum markers, teknik *imaging*, dan *fibroscan*. *Transient elastography* (TE) dikembangkan untuk menghindari biopsi hati pada pasien. Cara kerjanya dengan transmisi kecepatan gelombang suara ke hati dengan menilai relativitas dari kekakuan yang diduga akibat fibrosis (Friedman, 2010).

## 2.2 Matrix Metalloproteinase

### 2.2.1 Tinjauan Umum Matrix Metalloproteinase (MMP)

*Matriks Metalloprotease* (MMP) merupakan sekelompok enzim *zinc-dependent endopeptidases* yang diaktivasi oleh proteinase lain, misalnya plasmin yang memainkan peran dalam perbaikan dan *remodeling* jaringan (Kessenbrock, Plaks, Werb, 2010). MMP merupakan enzim proteolitik yang penting dalam fisiologi dan penyakit yang berhubungan *remodeling* matriks ekstraseluler. MMP berperan penting dalam perkembangan kanker, *remodeling* pembuluh darah, fibrosis dan peradangan (Shapiro, 1998; Sternlicht, Werb, 2001). Dalam beberapa tahun terakhir MMP terbukti memiliki peran jelas terhadap beragam patogenesis proses fisiologi seperti fibrosis, karsinoma hepatoseluler dan transplantasi hati (Verspaget *et al.*, 2006). MMP diproduksi oleh sel stelata hati (HSC) dalam ikatan fibrosis yang mengelilingi nodul hepatosit. MMP juga disekresikan oleh sel intrahepatik termasuk sel-sel inflamasi dan hepatosit (Thomas, Pope, Wojtacha, Robson, Gordon-Walker, *et al.*, 2011; Fallowfield, Mizuno, Kendall, Constandinou, Benyon *et al.*, 2007; Garciade, Montfort, Tello Montes, Lopez, Olivos *et al.*, 2006).

Peran MMP yaitu mendegradasi protein matriks ekstraseluler (MES) dan bertindak pada substrat non MES seperti sitokin dan kemokin yang memiliki fungsi regulasi dalam peradangan dan imunitas (Parks, Wilson, Lopez-Boado, 2004). MMP disekresikan ke daerah ekstraseluler (Nissinen dan Kahari, 2014). Aktivitas MMP dalam proses mengontrol dan berlangsung pada saat transkripsi, pasca transkripsi dan tingkat protein (Sternlicht dan Werb, 2001). Aktivitas MMP yang tidak diregulasi dapat menghasilkan kerusakan jaringan dan perubahan fungsional (Visse dan Nagase, 2003). Aktivitas MMP diatur oleh berbagai faktor

dan dikendalikan oleh pengaturan aktivasi dari laten pro-enzim dan oleh interaksi dengan *inhibitor* endogen seperti *Tissue inhibitors of metalloproteinases* (TIMPs).

### 2.2.2 Tinjauan Umum *Matrix Metalloproteinase 2* (MMP-2)

*Matriks metalloproteinase 2* (MMP-2) adalah anggota dari keluarga MMPs, yang diproduksi oleh sel stelata hati (HSC) dalam ikatan fibrosis yang mengelilingi nodul hepatosit. Aktivasi HSC akan lebih cepat oleh peningkatan regulasi MMP-2 karena enzim ini mendegradasi matriks subendotelial normal, mempercepat penggantian kolagen fibril. Aktivitas MMP-2 yang diatur secara ketat oleh *inhibitor* spesifiknya yaitu TIMP-2 dan dengan aktivator termasuk *membrane tipe matriks metalloproteinase-1* (MT1-MMP) (Butler, *et al.*, 1998; Werb, 1997). Ketika diaktifkan, MMP-2 akan mendegradasi matriks ekstraseluler dari *membrane basal* dan memfasilitasi pergerakan sel epitel. Aktivitas tersebut akan dihambat oleh TIMP-2 sehingga degradasi terlalu luas dapat dihindari (Fassina, Ferrari, Brigati, *et al.*, 2000; Brew, Dinakarpanian, Nagase, 2000). Peran dari TIMP-2 adalah menarik, tidak hanya dalam keterlibatan dalam proses aktivasi MMP-2 tetapi juga karena fungsi penghambatan dari aktivasi MMP-2. Dalam tubuh manusia, ekspresi MMP-2 dan TIMP-2 tumpang tindih dalam berbagai jaringan yang berbeda dan proteolisis terjadi sebagai akibat dari ketidakseimbangan aktivitas antara MMP-2 dan TIMP-2. MMP-2 telah terlibat dalam sejumlah keadaan seperti pengembangan, morfogenesis dan perkembangan sel tumor, terjadi *remodeling* dari jaringan dan perubahan matriks ekstraseluler. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa meningkatnya MMP-2 merupakan regulasi dalam keganasan dan metastasis (Murphy dan Gavrilovic, 1999; Kohn dan Liotta, 1995).

### 2.2.3 Hubungan MMP-2 dan Fibrosis Hati

*Matriks metalloproteinase-2* (MMP-2) adalah matriks yang terlibat dalam perbaikan matriks ekstraseluler selama morfogenesis dan perbaikan jaringan didalam proses invasi tumor dan metastasis (Sato dan Seiki, 1996; Stetler-Stevenson, Aznavoorian, Liotta, 1993; Woessner, 1991). Dalam fibrosis hati MMP-2 diekspresikan oleh myofibroblas dan memiliki peran profibrogenik. Mekanisme aktivasi dalam hati masih belum jelas. MMP-2 disebut gelatinase A degradasi enzim kolagen tipe IV, denaturasi kolagen interstitial (gelatin), dan berbagai protein matriks lainnya. Seperti keluarga MMP yang lain, enzim disekresikan dalam bentuk proenzim meskipun konversi ke bentuk aktif melibatkan proses yang unik. Aktivasi juga diatur oleh *Tissue Inhibitor Metalloproteinases* (TIMP-2), ketika pada konsentrasi rendah, TIMP-2 berhubungan dengan MT1-MMP, membentuk biomelekuler yang mengikat MMP-2 dan mengarah ke aktivasinya. Sebaliknya konsentrasi TIMP-2 yang tinggi dapat menghambat aktivasi MMP-2 (Strongin, Collier, Bannikov, Marmer, Grant, Goldberg, 1995; Butler *et al.*, 1998).

Beberapa bukti menunjukkan bahwa regulasi ekspresi MMP-2 terdapat perubahan selama fibrogenesis hati. Pada keadaan normal MMP-2 tidak terdeteksi tetapi pada keadaan sirosis MMP-2 aktif terdeteksi. Enzim yang dominan diekspresikan oleh otot polos *sel a-actin* dan ekspresi dari kedua protein serta mRNA meningkat pada keadaan fibrosis hati dan penyakit hati kronik pada manusia (Benyon, Iredale, Goddard, Winwood, Arthur, 1996).

#### 2.2.4 Sekresi MMP-2

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa sekresi MMP-2 berhubungan dengan fibrosis hati dari paparan tikus yang diinduksi oleh CCl<sub>4</sub>. Produksi MMP-2 terjadi selama pemberian CCl<sub>4</sub>. Tetapi peran MMP-2 dalam regulasi fibrosis hati masih belum jelas. Dalam hati, MMP-2 diproduksi berlimpah dan diaktifkan oleh HSC dan fibroblast. MMP-2 terlibat selama proliferasi HSC, karena MMP-2 dapat memfasilitasi gerakan sel dan proliferasi HSC. MMP-2 juga diproduksi oleh banyak sel seperti sel hepatosit, sel *kupffer*, neutrofil, eosinofil dan sel T. MMP-2 diyakini penting dalam angiogenesis. Karena sirkulasi porta dapat terganggu dalam keadaan fibrosis hati dengan kadar IL-10/IFN yang menurun. Ekspresi MMP-2 yang meningkat dapat membentuk penyumbatan sirkulasi kolateral (Vaillant, Chiaramonte, Cheever, Solowa, Wynn, 2001). Fibrogenesis menyebabkan peningkatan signifikan jumlah matriks ekstraseluler di area periportal dan perisinusoidal.

#### 2.2.5 MMP-2 Serum

Ekspresi MMP-2 serum dalam darah dilepaskan oleh sel fibroblast, makrofag, monosit, sel dendritik, sel limfosit, neutrofil, sel epithelial, sel endotel dari mesensimal dan sel-sel otot polos. Pada beberapa penyakit seperti pada kanker usus MMP-2 serum terutama terlokalisasi dalam sel fibroblast yang kemudian masuk dalam sinusoid dan ikut dalam aliran darah sistemik (Opdenakker *et al.*, 2001). Dalam keadaan normal MMP-2 tidak terlihat tetapi dalam keadaan *injury* MMP-2 mulai teraktivasi. Aktivasi MMP-2 ini dapat dihambat dengan enzim penghambatnya yaitu TIMP-2, sehingga dalam keadaan normal dibutuhkan keseimbangan antara keduanya (Liabakk *et al.*, 1996).

### 2.3 *Tissue Inhibitor of Metalloproteinase (TIMP)*

Fibrosis hati merupakan proses patologis dengan matriks ekstraseluler yang berlebih. Perubahan matriks ekstraseluler terutama diatur oleh MMP yang merupakan keluarga dari enzim proteolitik yang mampu menurunkan matriks ekstraseluler (Abraham, Panticos, dan Nagase, 2005; Schuppan *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2005). Aktivitas MMP diatur secara ketat oleh jumlah protein aktif dan konsentrasi inhibitor spesifik yang disebut *tissue inhibitor of metalloproteinase* (TIMP) (Parsons *et al.*, 2004; Shi dan Li, 2005). Studi ekstensif telah mengidentifikasi bahwa TIMP memainkan peran kunci dalam pengembangan fibrosis (Cai *et al.*, 2004). Empat jenis TIMP yang telah diketahui yaitu TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3, dan TIMP-4. Umumnya semua TIMP mampu menghambat semua MMP yang diketahui, namun khasiat penghambatan MMP bervariasi dengan masing-masing TIMP. Seperti TIMP-1 dan TIMP-2 mampu menghambat semua aktivitas MMP, sehingga memainkan peran kunci dalam menjaga keseimbangan antara deposisi matriks ekstraseluler dan degradasinya dalam proses fisiologis yang berbeda termasuk pengembangan fibrosis hati. Dalam hati, TIMP-1 dan TIMP-2 diidentifikasi dan TIMP-1 memainkan peran yang lebih penting dalam proses patologis hati daripada TIMP-2 (Iredale, 1997). Keseimbangan MMP dan TIMP berperan dalam proteolisis matriks ekstraseluler dan pergeseran keseimbangan dalam MMP mengakibatkan peningkatan proteolisis matriks ekstraseluler sedangkan pergeseran keseimbangan dalam mendukung TIMP mengakibatkan perlindungan matriks ekstraseluler dan menurunkan proteolisis. Hal tersebut berarti bahwa keseimbangan antara MMP dan TIMP mengontrol lebih dari sekedar proteolisis matriks ekstraseluler (Arpino, Brock, dan Gill, 2015).

## 2.4 Karbon Tetraklorida (CCl<sub>4</sub>)

### 2.4.1 Definisi

Karbon tetraklorida (CCl<sub>4</sub>) adalah zat volatil yang tidak berwarna, terasa panas, dan berbau seperti kloroform. Karbon tetraklorida tidak dapat larut dalam air, namun dapat larut dalam alkohol, kloroform, ether dan minyak volatil (Winaya dan Suarsana, 2005). Karbon tetraklorida sangat mudah menguap sehingga jarang ditemukan dalam bentuk cair dan lebih banyak dijumpai dalam bentuk gas. Karbon tetraklorida tidak mudah terbakar, sangat stabil dengan adanya udara dan cahaya di alam. CCl<sub>4</sub> dapat menyebabkan kerusakan pada lapisan ozon dan pemanasan global.

### 2.4.2 Hepatotoksisitas

Intoksikasi kronis karbon tetraklorida (CCl<sub>4</sub>) adalah model terkenal untuk memproduksi stres oksidatif dan cedera hati. Biotransformasi yang menghasilkan hepatotoksik metabolit, sangat reaktif *trichloromethyl* radikal bebas, yang dikonversi ke radikal *peroxytrichloromethyl*. Oksidan reaktif cenderung berkontribusi untuk kedua onset dan perkembangan fibrosis. CCl<sub>4</sub> telah banyak digunakan untuk menginduksi cedera jaringan akut dan kronis. Dosis tunggal CCl<sub>4</sub> dapat mengakibatkan nekrosis pada zona sentral dan steatosis (Pierce, Glaug, Greco, Mackenzie, Boyd, dan Deak, 1987). Sementara, administrasi berkepanjangan CCl<sub>4</sub> dapat menyebabkan fibrosis hati yang disebabkan oleh metabolit *trichloromethyl* yang sangat aktif (CCl<sub>3</sub>) yang dihasilkan oleh sitokrom p450 selama metabolisme CCl<sub>4</sub> di hepatosit (Manibusan, Odin, dan Eastmond, 2007). Radikal *trichloromethyl* dikenal untuk memicu kaskade kejadian yang mengakibatkan peradangan hati dan fibrosis (Kamalakkannan, Rukkumani,

Varma, Viswanathan, Rajasekharan, dan Menon, 2005) melalui aktivasi HSC (Wernke dan Schell, 2004). ditandai perubahan dalam matriks ekstraselular (MES) berlangsung sebagai fibrogenesis hati dengan ekspresi yang berlebih kolagen tipe-1 yang merupakan protein MES paling melimpah di fibrosis hati (Lee, Buck, Houglum, dan Chojkier, 1995).

## 2.5 Kurkumin

### 2.5.1 Definisi

Kurkumin adalah komponen fitokimia yang ditemukan dalam kunyit. Kurkumin atau kunyit, berasal dari rimpang ramuan *Curcuma longa*, telah digunakan selama berabad-abad di Asia baik sebagai bumbu makanan dan pengobatan untuk radang, luka pencernaan, paru-paru dan gangguan hati. Kurkumin (*diferuloylmethane*) dianggap konstituen yang paling aktif dalam kunyit dan memiliki efek biologis pada beberapa penelitian in vitro dan in vivo (Sharma *et al.*, 2005; Aggarwal *et al.*, 2007.). Hal ini memiliki beberapa kelompok fungsional yang menunjukkan aktivitas antioksidan (Weber *et al.*, 2005) yang memungkinkan untuk memodulasi jalur *redox signalling* dalam sel. Ini juga mengaktifkan sistem pertahanan antioksidan intraseluler melalui stimulasi *Nuklir Erythroid Factor 2* (Nrf2), faktor transkripsi, yang mengikat elemen respon antioksidan di regulasi beberapa gen koding untuk antioksidan intraseluler, sitoprotektif dan protein detoksifikasi (Chen dan Kunsch, 2004).

### 2.5.2 Kurkumin sebagai Hepatoprotektor

Rimpang temulawak sejak lama dikenal sebagai tanaman obat, diantaranya memiliki efek farmakologis sebagai pelindung terhadap hati

(hepatoprotektor), meningkatkan nafsu makan, anti radang, memperlancar pengeluaran empedu (kolagogum), dan mengatasi gangguan pencernaan seperti diare, konstipasi, dan disentri (Wijayakusuma, 2007). Komponen senyawa yang bertindak sebagai antioksidan dari rimpang temulawak adalah flavonoid, fenol dan kurkumin (Jayaprakasha, Jaganmohan, dan Sakariah, 2006). Mekanisme hepatoprotektif terjadi karena efek kurkumin sebagai antioksidan yang mampu menangkap ion superoksida dan memutus rantai antar ion superoksida ( $O_2^-$ ) sehingga mencegah kerusakan sel hepar karena peroksidasi lipid dengan cara dimediasi oleh enzim antioksidan yaitu *superoxide dismutase* (SOD) dimana enzim SOD akan mengonversi  $O_2^-$  menjadi produk yang kurang toksik (Rivera, 2009; Samuhasaneeto, 2009). Kurkumin juga mampu meningkatkan *Gluthation S-transferase* (GST) dan mampu menghambat beberapa faktor proinflamasi seperti *nuclear factor- $\kappa$ B* (NF- $\kappa$ B) dan profibrotik sitokin (Sharma, 2004; Chattopadhyay, 2006).

Aktifitas penghambatan pembentukan NF- $\kappa$ B merupakan faktor transkripsi sejumlah gen penting dalam proses imunitas dan inflamasi, salah satunya untuk membentuk TNF- $\alpha$ . Dengan menekan kerja NF- $\kappa$ B maka radikal bebas dari hasil sampingan inflamasi berkurang. Virus hepatitis B menginfeksi hati dan menggunakan sel hospes untuk ekspresi gen dan perkembangbiakan. Oleh karena itu, sasaran faktor hospes untuk ekspresi gen virus hepatitis B merupakan strategi dari antiviral. Penelitian yang dilakukan oleh Rechtman (2010), menjelaskan bahwa kurkumin mampu menghambat ekspresi gen dan replikasi virus hepatitis B melalui *downregulation* dari PGC-1 $\alpha$ . PGC-1 $\alpha$  adalah protein penginduksi lapar yang merangsang glukoneogenesis dan koaktifasi dari transkripsi virus hepatitis B.

### 2.5.3 Pengaruh Kurkumin terhadap Kadar MMP-2 Serum

Kurkumin mempunyai efek anti-inflamasi dalam sel untuk menghambat sitokin pro-inflamasi dan kemokin, molekul adesi, *cyclooxygenase-2*, dan faktor jaringan (Pendurthi *et al.*, 1997; Sharma *et al.*, 2005; Shishodia *et al.*, 2007). Efek penekanan disebabkan oleh penghambatan jalur NF-kB dan jalur sinyal pro-inflamasi lainnya termasuk AP-1, Egr-1, anggota STAT dan kinase MAP (Pendurthi *et al.*, 1997; Duvoix *et al.*, 2005; Sharma *et al.*, 2005; Shishodia *et al.*, 2007). Efek kemo preventif dan kemoterapi kurkumin juga menghambat proliferasi sel, menginduksi apoptosis dan penangkapan pertumbuhan dalam fase yang berbeda dari siklus sel (tergantung pada jenis sel) dan menghambat angiogenesis (Shishodia *et al.*, 2007). Beberapa mekanisme yaitu untuk mengatur efek ini termasuk aktivasi *PPAR*  $\gamma$ , degradasi p53, aktivasi gen pro-apoptosis (termasuk caspases, Bax dan Bak), *downregulation* gen kelangsungan hidup, untuk misalnya Bcl2, dan penghambatan NF-kB, AP-1, Akt, kinase MAP dan jalur sinyal lain (Duvoix *et al.*, 2005; Sharma *et al.*, 2005; Bhattacharyya *et al.*, 2007; Shankar dan Srivastava, 2007; Shishodia *et al.*, 2007). Karena efek biologis, kurkumin memiliki manfaat terapeutik pada beberapa penyakit. Dalam beberapa model hewan, kurkumin mampu mencegah pengembangan beberapa jenis kanker (Sharma *et al.*, 2005; Shishodia *et al.*, 2007).

Kurkumin sebagai senyawa terapi yang potensial pada penyakit hati kronis, penyebab utama morbiditas dan mortalitas di seluruh dunia. Kurkumin memberikan efek menguntungkan pada model binatang dari luka hati dan sirosis (Bruck *et al.*, 2007.). Kerusakan hati yang disebabkan oleh virus, alkohol dan racun lainnya, mengarah ke proses inflamasi kronis dengan fibrosis hati yang progresif di mana jaringan hati yang normal digantikan dengan matriks

ekstraselular kaya kolagen dan akhirnya, jika tidak diobati, dapat menyebabkan sirosis. Sel stelata hati (HSC) memainkan peran sentral dalam perkembangan fibrosis. Pada luka hati, HSC diaktifkan dan berkembang biak memproduksi sitokin pro-inflamasi dan kemokin, faktor pertumbuhan, sitokin pro-fibrogenik (termasuk ikat faktor pertumbuhan jaringan CTGF) dan *inhibitor metalloproteinase* menghasilkan matriks ekstraselular kaya kolagen yang berkembang menjadi fibrosis. Beberapa jalur sinyal yang terlibat dalam proses ini (Elsharkawy *et al.*, 2005). Bukti menunjukkan bahwa fibrosis dan sirosis berpotensi reversibel. Induksi apoptosis HSC melalui pemberian kurkumin dikaitkan dengan perbaikan fibrosis karena MMP-2 merupakan produk dari HSC, dalam keadaan fibrosis hati MMP-2 mengalami peningkatan ekspresi sehingga dengan pemberian kurkumin dapat menyeimbangkan kadar MMP-2 dan enzim penghambatnya (Elsharkawy *et al.*, 2005). Kurkumin sebagai antioksidan, antiinflamasi, antifibrogenik dan efek antiproliferatif. Menurut Bruck *et al.* (2007) menunjukkan bahwa kurkumin menghambat fibrosis hati pada model tikus fibrosis dengan mengurangi stres oksidatif dan menghambat aktivasi HSC dan kolagen  $\alpha 1$  (I) ekspresi gen. Secara *In vitro*, kurkumin menginduksi apoptosis dan menghambat aktivasi dan proliferasi HSC. Selain itu, mencegah pembentukan dan pengembangan matriks ekstraselular dengan menghambat kolagen  $\alpha 1$  (I), fibronektin dan aktin otot ekspresi gen. (Xu *et al.*, 2003; Zheng dan Chen, 2006; Cheng *et al.*, 2007).