

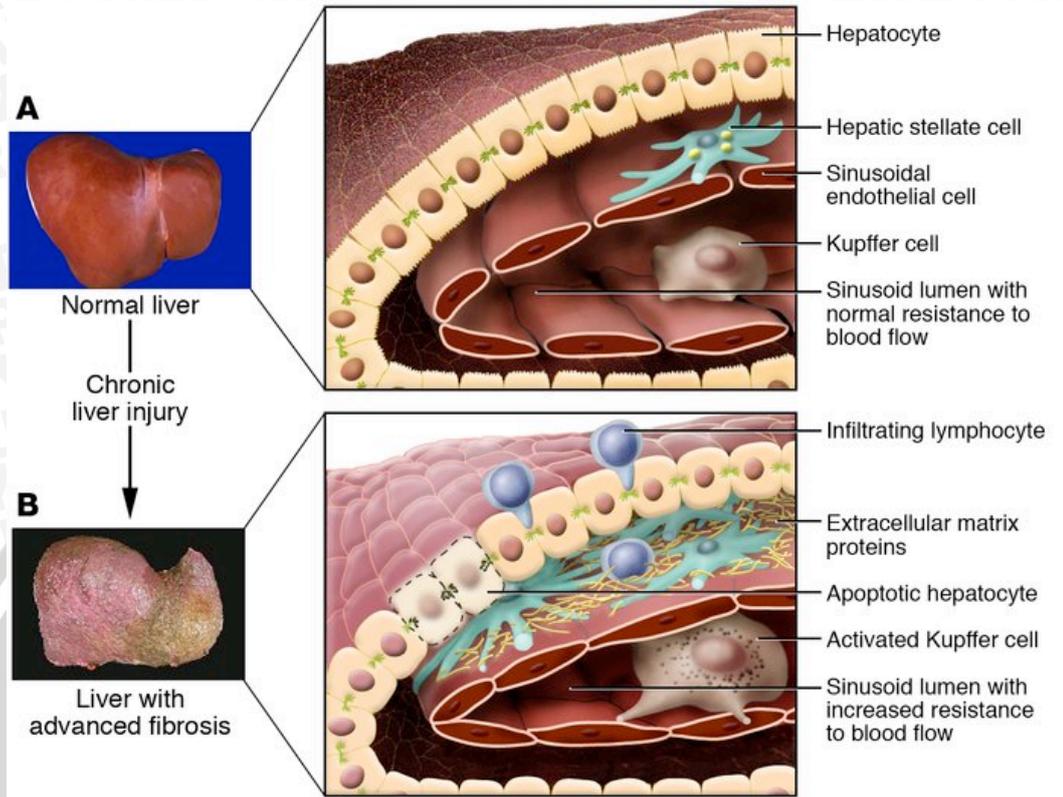
BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Fibrosis Hati

2.1.1 Pengertian Fibrosis Hati

Fibrosis hati adalah proses patofisiologi yang terjadi akibat injuri kronik pada hati, yang mempresentasikan mekanisme dasar pertahanan alami pada hati dan merupakan komplikasi klinik pada hampir seluruh penyakit hati kronik (Moreira, 2007). Fibrosis hati terjadi ditandai dengan aktivasi selular dari sel stellata hati (HSCs) dan mediatornya. Saat terjadi injuri di hati, HSCs berubah menjadi aktif menjadi *myofibroblast-like cell* yang berkontraksi, berproliferasi, dan bersifat fibrogenik. Pada saat yang bersamaan, terjadi pembentukan kolagen dan matriks ekstra selular secara berlebihan yang mengakibatkan terbentuknya jaringan sikatrik pada parenkim hati. Pengaktivasian HSC terjadi melalui dua fase utama, yaitu fase inisiasi (fase pre-inflamasi) dan fase persuasi yang akan diikuti dengan fase resolusi apabila injuri segera ditangani. Fibrosis hati merupakan proses dinamis dan reversibel yang merupakan hasil keseimbangan dari fibrogenesis dan kerusakan dari degradasi matriks yang dihasilkan (Poynard *et al.*, 2011).



Gambar 2.1 Skematik perubahan yang terjadi pada jaringan hati saat fibrosis.

2.1.2 Etiologi Fibrosis Hati

Hampir seluruh penyakit kronik pada hati mempunyai gambaran fibrosis hati dengan karakteristik penampakan rusaknya parenkim hati dan inflamasi (Bhala *et al.*, 2011). Fibrosis yang didapat merupakan suatu hasil dari faktor-faktor patogen dan keterpaparan yang lama terhadap zat yang toksik pada hati, seperti konsumsi alkohol dalam waktu lama, kolestasis, penyakit autoimun pada hati, kelebihan zat besi ataupun tembaga, virus hepatitis kronis, dan adanya penyakit *non-alcoholic fatty liver* (NAFLD) (Baranova *et al.*, 2011). Berikut adalah penyebab utama terjadinya fibrosis hati dan penjelasannya.

1. Alkohol

Konsumsi alkohol adalah faktor pencetus terjadinya penyakit hati paling banyak di dunia. Alkohol dapat menyebabkan terjadinya *fatty liver*,

alcoholik hepatitis, fibrosis/sirosis, dan hepatoseluler karsinoma (Bhala *et al.*, 2011). Proses dari pemecahan ethanol menghasilkan dua agen faktor fibrosis, yaitu asetaldehid dan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Asetaldehid merupakan hasil metabolisme dari alkohol yang dapat meningkatkan sekresi dari *transforming growth factor B1* (TGFB1) dan menginduksi ekspresi dari reseptor TGFB tipe II pada *hepatic stellate cell* (HSC) yang merupakan kunci produksi kolagen pada hati. Sedangkan keterpaparan hepatosit pada ROS yang dihasilkan oleh metabolisme alkohol membuat HSC sensitif terhadap berbagai faktor pro-inflamasi dan dapat memicu produksi mediator inflamasi yang berkontribusi terhadap perubahan ke arah fibrosis hati (Baranova *et al.*, 2011).

2. Hepatitis virus kronik

Infeksi virus kronis seperti virus hepatitis B dan virus hepatitis C mempunyai peran yang penting dalam memicu terjadinya fibrosis hati. Fibrosis yang terjadi biasanya berawal dari bagian portal hati. Patogenesis terjadinya fibrosis pada infeksi virus kronis ini merupakan proses yang multifaktorial, seperti gabungan berbagai pengaruh dari virus yang menginfeksi, faktor host-spesifik, oksidatif stres, steatosis hepatic, meningkatnya penumpukan besi, dan meningkatnya laju apoptosis dari sel hepatosit, yang keseluruhannya dapat diakibatkan oleh pengaruh protein dan replikasi virus yang menginfeksi (Baranova *et al.*, 2011).

3. Penyakit autoimun pada hati

Keadaan abnormal dimana adanya leukosit antigen kelas II pada hepatosit yang menyebabkan terjadinya *cell-mediated immune response* terhadap hati dan menimbulkan fibrosis hati (Bhala *et al.*, 2011).

4. Kelainan metabolik seperti hemakromatosis dan *Wilson's disease*

Pada hemakromatosis hereditas, penyerapan dan akumulasi besi yang berlebihan pada jaringan dan organ, termasuk hati, berhubungan dengan mutasi dari *high-iron gen* (HFE). Sedangkan *Wilson's disease*, atau biasa disebut degenerasi hepatolentikular, merupakan kelainan genetik yang mengarah pada akumulasi tembaga (*copper*) pada hati dan menyebabkan mutasi pada ATPase (ATP7B) yang bertugas membawa tembaga (Bhala *et al.*, 2011).

5. Kolestasis

Tersumbatnya saluran empedu dapat menyebabkan kronik portal fibrosis dan bahkan fibrosis (Baranova *et al.*, 2011).

6. Keterpaparan zat toksik yang kronis terhadap hati, seperti *N-nitrosodimethylamine*, karbon tetraklorida (CCl₄), dan *thiocetamide* (Bhala *et al.*, 2011).

Faktor faktor pencetus ini bisa menyebabkan fibrosis secara tunggal ataupun dengan adanya kombinasi antar faktor pencetus satu dan yang lainnya yang dapat menimbulkan efek kumulatif (Baranova *et al.*, 2011).

2.1.3 Molekular Patogenesis Fibrosis Hati

Pola yang berbeda dari molekular patogenesis pada fibrosis hati dapat terjadi karena penyebabnya yang berbeda, tempat terkena injuri, dan sumber sel

fibrogenous yang berperan didalamnya, serta mekanisme fibrogenik yang lebih dominan (Bhala *et al.*, 2011).

Berikut adalah beberapa mekanisme dari molekular patogenesis fibrosis hati:

1. Interaksi sel dengan sel serta interaksi sel dengan matriks.

Terganggunya interaksi normal antar sel dengan sel, serta interaksi antara sel dengan matriks mempunyai peranan penting dalam terjadinya fibrosis hati. Ketika interaksi tersebut terganggu akibat nekrosis sel hepatosit atau invasi dari sel sel inflamasi, interaksi yang baru akan terbentuk dan memicu terjadinya respon fibrogenik. Pada hati yang sudah terkena fibrosis, terdapat perubahan yang signifikan secara kuantitatif dan kualitatif dari komposisi matriks ekstra seluler pada area periportal dan perisinusoidal. Selain itu, kerusakan yang diakibatkan interaksi yang terganggu tersebut terdiri dari fibrillar kolagen tipe I dan III, proteoglikan, fibronektin dan asam hialuronat, yang sebagai hasilnya dapat menimbulkan perubahan pada arsitektur fisiologis hati, terutama pada *space of disse*, dimana densitas elektron yang rendah dari ekstra seluler matriks digantikan oleh zat yang kaya akan fibrillar kolagen dan fibronektin. Hal ini pada akhirnya akan memicu terjadinya hilangnya celah, yang memungkinkan hubungan antara endotelial sel mengganggu fungsi hepatosit dan kerusakan sel-sel lain selain sel non-parenkimal (Bhala *et al.*, 2011).

2. Stres oksidatif

Infeksi kronis dari HBV dan konsumsi alkohol jangka panjang dapat menginduksi terjadinya kerusakan sel melalui peningkatan ROS.

Stres oksidatif dapat memicu terjadinya nekrosis dan atau apoptosis hepatosit. ROS terutama dihasilkan melalui rantai transpor elektron di mitokondrial atau melalui aktivasi dari sitokrom P450, oksidasi NADPH, oksidasi xantin, ataupun kerusakan dari mitokondria itu sendiri. Pembentukan ROS dapat dengan langsung mempengaruhi sifat dari *Hepatic Stellate Cell* (HCS) dan miofibroblas. Sel-sel ini yang kemudian berkontribusi dalam memproduksi ekstra selular matriks dan memicu terjadinya fibrosis (Bhala *et al.*, 2011).

2.1.4 Penentuan Derajat Fibrosis Hati

Derajat suatu penyakit diukur untuk melihat sudah berapa jauh perubahan atau abnormalitas yang terjadi dari keadaan alaminya (Goodman, 2007). Derajat ini dapat diukur dalam berbagai hal yang merupakan pertanda dari keadaan abnormal tersebut. Menurut Masanori Abe, penanda fibrosis yang ideal adalah yang spesifik, berbasis biologis, non-invasif, mudah diulang pada semua pasien, berhubungan baik dengan beratnya penyakit serta *outcome*, serta tidak dipengaruhi oleh komorbiditas ataupun obat (Masanori Abe, 2013).

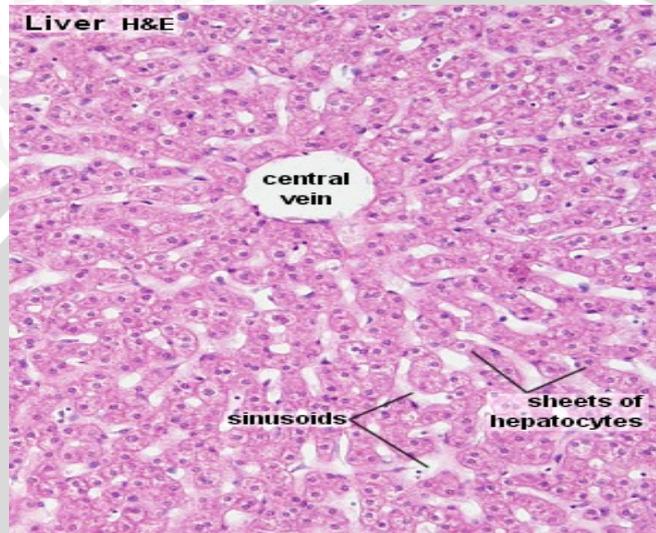
Sampai saat ini *gold standard* untuk menentukan derajat keparahan dari fibrosis hati adalah dengan melakukan biopsi hati (Poynard *et al.*, 2011). Pada dasarnya, biopsi hati mempunyai dua fungsi utama, yaitu menegakkan diagnosis penyakit hati yang merupakan bagian penting dalam evaluasi pasien yang memiliki berbagai penyakit hati. Selain itu, biopsi hati juga biasanya digunakan untuk menilai derajat dari keparahan penyakit tersebut, seperti derajat terbentuknya sikatrik, progresivitasnya untuk menjadi sirosis, dan berbagai komplikasi klinik lain yang mungkin terjadi (Goodman, 2007). Dua ciri khas yang menentukan akurasi biopsi hati adalah panjang dan lebar. Dimana panjang

minimal 2,5 cm umumnya dibutuhkan untuk mencapai pengambilan sampel yang adekuat. Kelemahan dari biopsi hati dalam mendiagnosis kelainan bawaan berupa distribusi fibrosis yang tidak merata di seluruh bagian hati. Biopsi hanya mengambil 1/50.000 hati sehingga sejumlah kesalahan dalam pengambilan sampel tidak dapat dihindari (Abe, 2013).

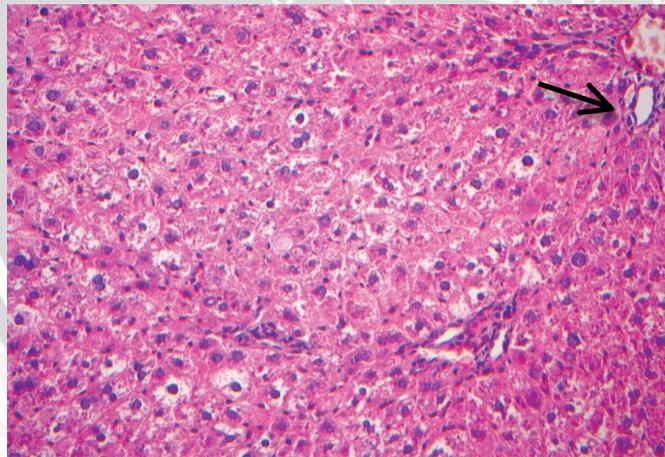
Dewasa ini, ada tiga metode yang paling sering digunakan dalam menilai derajat fibrosis hati berdasarkan biopsi tersebut, yaitu skor Metavir, Ishak, dan Desmet/Scheuer (Abe, 2013). Metode tersebut merupakan metode sederhana untuk menentukan derajat fibrosis hati dengan beberapa kategori. Skor Metavir menggunakan empat tingkatan derajat fibrosis (Goodman, 2007)(Poynard *et al.*, 2011). Sedangkan skor Ishak menggunakan tujuh kategori dari tingkat fibrosis 0 hingga tingkat 6 (Friedman, 2010). Masing masing metode menilai perkembangan progresif periportal, fibrosis septal, dan pembentukan nodul. Perbedaan utama adalah adanya dua stadium sirosis pada skor Ishak (stadium 5 dan 6), sedangkan pada metavir hanya ada satu (f4) (Abe, 2013). Sedangkan, penentuan derajat fibrosis hati menggunakan kriteria *Histological Grading and Staging of Chronic Hepatitis for Fibrosis established by the 10th World Digestive Disease Academic Conference in Los Angeles in September 1994* (Li *et al.*, 2012), dimana:

- S-0 : tidak ada fibrosis.
- S-1 : ada fibrosis terbatas di area porta, perisinusoidal dan intralobular. (Lihat gambar 1)
- S-2 : fibrosis perifer di area porta, terbentuk septum fibrosa, terjadi kerusakan arsitektur intralobular.(Lihat gambar 2)

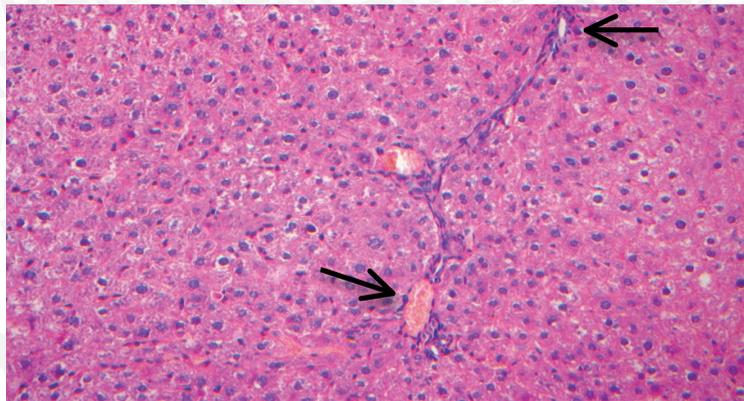
- S-3 : terjadi septum fibrosa disertai kerusakan struktur intralobular, belum terlihat sirosis. (Lihat gambar 3)
- S-4 : terjadi sirosis. (Lihat gambar 4)



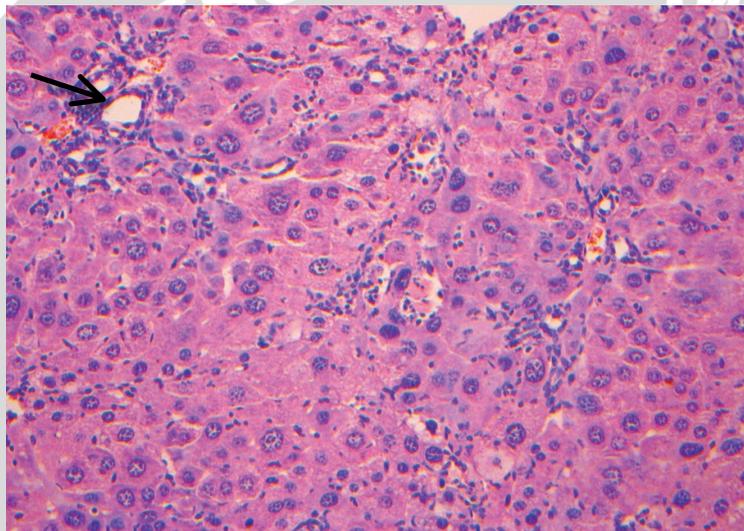
Gambar 2.2 Gambaran jaringan hati normal (fibrosis derajat 0)



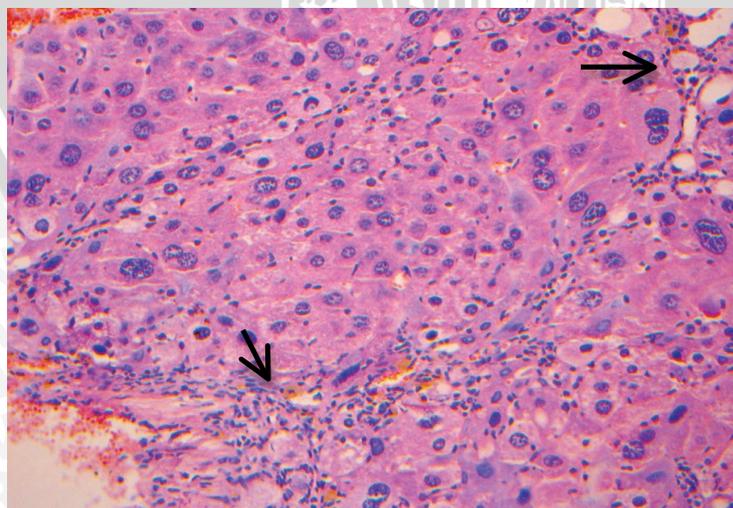
Gambar 2.3. Gambaran Histo-PA Fibrosis Hati Derajat S1 (Li *et al.*, 2012).



Gambar 2.4. Gambaran Histo-PA Fibrosis Hati Derajat S2 (Li *et al.*, 2012).



Gambar 2.5. Gambaran Histo-PA Fibrosis Hati Derajat S3 (Li *et al.*, 2012).



Gambar 2.6. Gambaran Histo-PA Fibrosis Hati Derajat S4 (Sirosis) (Li *et al.*, 2012).

Selain biopsi hati, ada beberapa metode yang dikembangkan untuk menentukan derajat dari fibrosis hati ini, seperti *Transient elastography* (TE), serum markers, teknik *imaging*, dan *FibroScan*. *Transient elastography* (TE) merupakan metode yang dikembangkan untuk menghindari biopsi hati pada pasien. Cara kerjanya adalah dengan menggunakan transmisi dari kecepatan gelombang ke hati dan menilai relativitas dari kekakuan yang mungkin disebabkan oleh fibrosis (Friedman, 2010). Penilaian dilakukan berdasarkan tingkatan dari jaringan sikatriks atau fibrosis yang terbentuk, yang membuat berkurangnya elastisitas. Penilaian ini dilakukan dengan berpedoman kepada sifat dari gelombang yang ditransmisikan akan menyebar lebih cepat pada hati yang mengalami fibrosis dibandingkan dengan jaringan yang masih elastis (Poynard *et al.*, 2011).

Diagnosis dengan metode non-invasif juga banyak dikembangkan, seperti serum marker yang dimaksudkan agar pengambilan sampel dapat lebih sering dilakukan, sehingga dapat juga dipakai untuk monitoring, serta untuk menghindari risiko dari biopsi perkutan yang lebih invasif. Secara keseluruhan, pendekatan assay serum tetap menjanjikan, sebagian karena tes tersebut dapat merepresentasikan bacaan terintegrasi dari aktivitas hati bukan pengambilan sampel kecil dari jenis yang diperoleh dari biopsi hati konvensional (Abe, 2013). Namun keterbatasan yang muncul dari assay serum ini adalah ia tidak spesifik hanya pada hati dan dapat dipengaruhi oleh perubahan dari eksresi dan klirens. Untuk pengukuran derajat fibrosis secara non-invasif juga dapat ditentukan melalui teknik *imaging*, yang dapat mendeteksi kelainan dari struktur yang berubah pada injuri kronik hati, seperti portal hipertensi, namun kurang spesifik untuk mendeteksi derajat fibrosis (Poynard *et al.*, 2011).

2.2 Interleukin-17

2.2.1 Tinjauan Umum Interleukin-17 (IL-17)

Sel limfosit T helper (Th) CD4 merupakan regulator esensial pada respon imun dan penyakit inflamasi. Setelah diaktivasi oleh *professional antigen-presenting cells* (APC), sel T helper berdiferensiasi menjadi sel-sel efektor yang berspesialisasi pada sekresi sitokin dan fungsi sitokin (Park *et al.*, 2005).

Efektor adaptif dari *T helper-mediated immune response* CD4⁺ sangatlah bervariasi, setiap efektor mempunyai karakter dan berbagai profil dari produksi sitokin tersendiri (Romagnani, 2008). Dewasa ini, ditemukan adanya famili baru dari sel T CD4, sehingga terdapat empat subset utama yang kini tergabung didalamnya berdasarkan ekspresi profil pada faktor transkripsinya dan sitokin yang disekresikan, yaitu Th1, Th2, Th17 dan sel T regulator (Treg) (Hammerich *et al.*, 2011). Dalam beberapa tahun terakhir, fakta mengenai famili baru dari CD4⁺ ini berkaitan dengan ditemukannya Th17 yang mempunyai kemampuan memproduksi berbagai sitokin inflamasi seperti IL-17A(IL-17), IL-17F, and IL-6 (Romagnani, 2008) (Wang *et al.*, 2010).

Interleukin-17 (IL-17) adalah sitokin pro-inflamasi yang disekresi oleh sel T yang aktif (Moseley *et al.*, 2003). IL-17 terutama disekresikan oleh limfosit T CD4⁺ dan CD8⁺ yang aktif, sedangkan reseptornya tersebar di seluruh jaringan. Interleukin-17 (IL-17) ini adalah bentuk dasar dari famili Th17 yang menghasilkan enam jenis sitokin baru yang berhasil diidentifikasi (Witowski *et al.*, 2003).

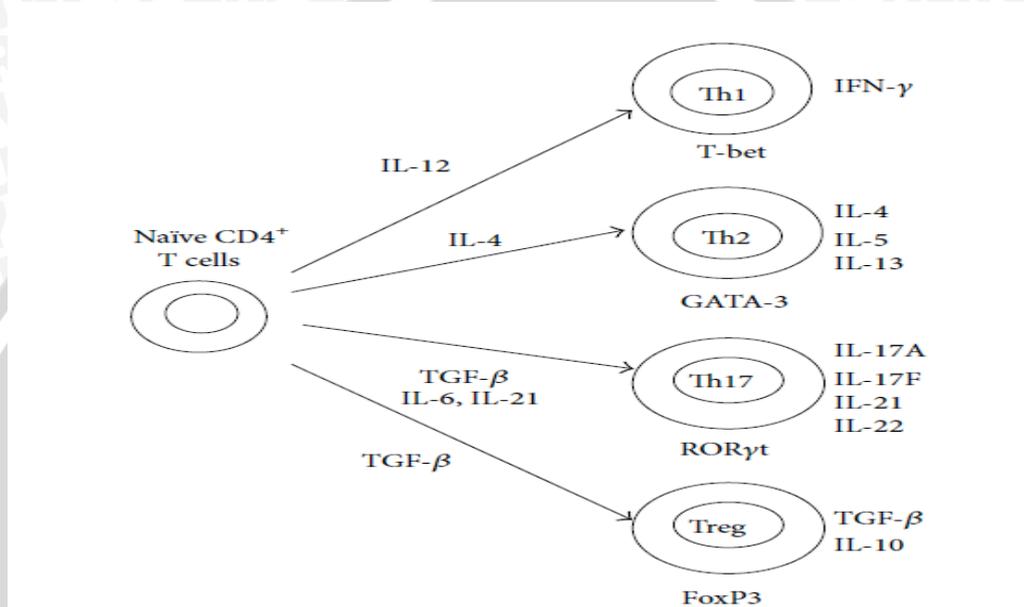
Meskipun banyak penelitian yang fokus kepada sel T CD4⁺ yang bertugas mensekresikan IL-17, namun ternyata IL-17 juga dapat disekresikan oleh banyak sel imunitas alami lain nya seperti *natular killer* sel (NK sel), neutrofil, sel T CD8⁺, sel T $\gamma\delta$, dan sel T regulator (Balanesu *et al.*, 2012).

Diferensiasi Th17 dari sel T naif membutuhkan sinyal dari TGF- β , IL-6, IL-21, IL-1b dan IL-23. Sitokin-sitokin tersebut mempengaruhi sel T naif untuk menjadi Th17 dalam 3 fase. Pertama, diferensiasi Th17 diinisiasi oleh stimulasi IL-6 dan *transforming growth factor- β* (TGF- β). Kemudian, sel T naif memproduksi IL-21 yang mengupayakan umpan positif pada diferensiasi Th17, dan menginduksi ekspresi dari reseptor IL-23. Pada tahap terakhir, sitokin IL-13 yang diproduksi oleh sel imunitas alami, seperti IL-21 yang diproduksi oleh sel T tadi, berpartisipasi dalam stabilisasi dari fenotip Th17 yang terbentuk. IL-6, IL-23, dan IL-21 mengaktifkan sinyal *transducer and activator of transcription-3* (STAT3) yang penting untuk menginduksi IL-22, IL-17A dan IL-17F yang merupakan famili dari IL-17 tersebut (Lafdil *et al.*, 2010).

Induksi dan fungsi dari IL-17 ini diatur oleh sitokin yang dihasilkan oleh sub tipe utama dari sel T yaitu IFN-c, IL-4, IL-10 dan TGF- β dalam konsentrasi yang cukup tinggi. Fungsi utama dari sel T mensekresikan IL-17 adalah untuk memediasi inflamasi dengan menstimulasi produksi dari sitokin inflamasi, seperti TNF-a, IL-1b, dan IL-6, serta kemokin pro-inflamasi yang membantu dalam pemanggilan neutrofil dan makrofag (Mills, 2008).

Berbagai famili sitokin dari IL 17 ini telah dilaporkan ikut berperan dalam berbagai proses imun, terutama dalam menginduksi dan memediasi respon proinflamasi (Du *et al.*, 2013). IL-17 bisa menginduksi, memanggil, dan mengaktifkan neutrofil yang dapat berakibat terjadinya inflamasi pada jaringan (Wang, 2010). Menigkatnya level dari IL-17 telah diketahui berhubungan dengan beberapa kondisi, termasuk inflamasi jalan nafas, rheumatoid arthritis, adesi dan abses intraperitonal, penyakit inflamasi usus, penolakan allograft pada pasien pasca transplantasi, kanker, dan multiple sklerosis (Witowski *et al.*, 2003). Selain

itu IL-17 juga ditemukan ikut serta dalam patogenesis dari keadaan injuri kronik pada hati. Pada penyakit hati alkoholik, IL-17 juga bertanggung jawab pada sinyal pemanggilan neutrofil ke hati (Wang *et al.*, 2010).



Gambar 2.7 Jalur diferensiasi sel T pada manusia (Masanori dkk,2013).

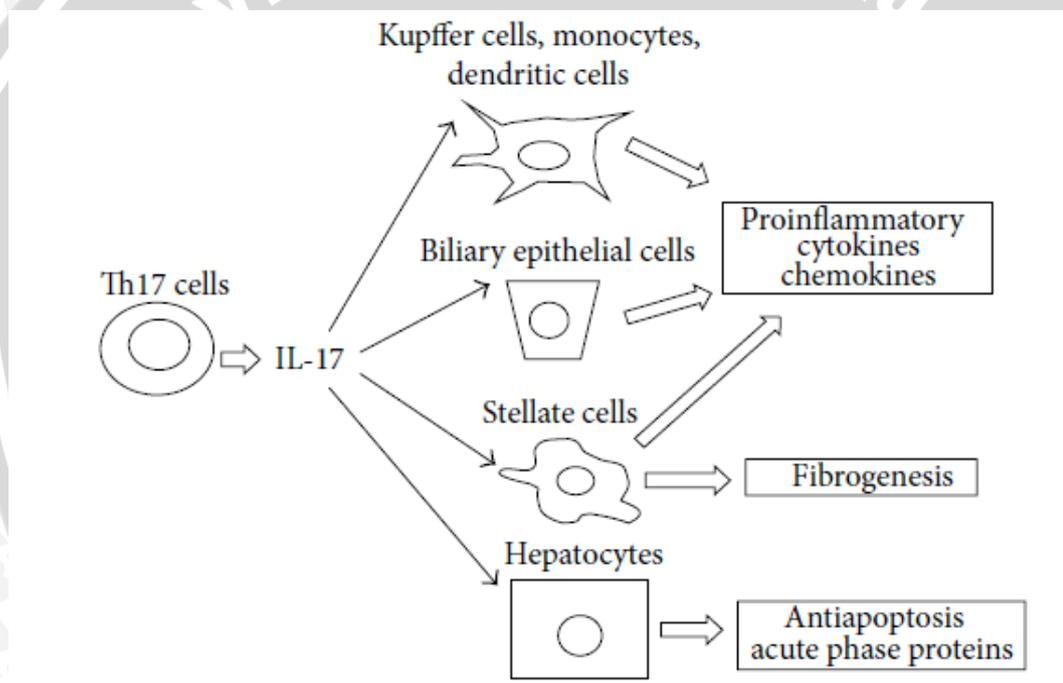
2.2.2 Hubungan IL-17 dan Fibrosis Hati

Eksresi dari IL-17R (reseptor dari IL-17) telah terdeteksi pada seluruh tipe sel di hati, termasuk hepatosit, sel Kupffer, sel stellata, sel epitel biliary, dan sel endothel sinusoidal. Aktivasi dari reseptor ini dapat terjadi saat adanya injur pad hati dan akan memicu ekspresi dari berbagai sitokin pro inflamasi ataupun kemokin kemokin pada sel sel tersebut (Lafdil *et al.*, 2010).

Interleukin-17 dan reseptor nya ini sangat terinduksi saat terjadinya injuri pada hati, dan mempunyai efek pro-fibrogenik yang kuat pada sel sel inflamasi disekitar tempat terkena injuri ataupun pada sel sel yang ada di hati tadi. Efek Pro Fibrogenik yang kuat pada induksi oleh IL-17 pada sel sel di hati mempunyai dua mekanisme, yaitu :

1. IL-17 menstimulasi sel Kupffer mengekspresikan sitokin inflamasi seperti IL-6, IL-1 dan TNF- α dan sitokin pro fibrogenik utama yaitu TGF- β 1.
2. IL-17 secara tidak langsung menstimulasi Hepatic Stellate cell (HSC) untuk mengekspresikan kolagen tipe 1 dan membantu aktivasi dari HSC menjadi fibrogenic myofibroblas melalui signal transducer and activator of transcription-3 (STAT-3) dari IL-17.

Dengan adanya mekanisme diatas, IL-17 dapat menginduksi terjadinya fibrosis di hati (Meng *et al.*, 2012).



Gambar 2.8 Jalur efek dari Interleukin-17 terhadap sel sel di hati (Abe, 2013).

2.2.3 IL-17 Jaringan dan Serum

Pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya telah dilakukan penilaian secara imunohistokimia mengenai ekspresi IL-17 pada hati yang mengalami penyakit kronis. Sel yang mengekspresikan IL-17 (sel IL-17⁺) berada di sinusoid hati pada subjek kontrol dan kebanyakan dari sel-sel tersebut

merupakan sel-sel polinuklear. Pada penyakit hati kronis, jaringan hati tersebut terinfiltrasi oleh sel-sel IL-17⁺ di septa fibrotik, area-area portal dan lobular hati. Hasil dari analisis kuantitatif terhadap sel-sel IL-17⁺ intrahepatik menyatakan bahwa hati yang masih mengalami proses inflamasi kronis terinfiltrasi oleh sel-sel IL-17⁺ lebih banyak dibandingkan dengan hati yang mengalami sirosis. Semakin parah proses inflamasi kronis yang terjadi pada jaringan hati, semakin banyak jaringan hati yang terinfiltrasi oleh sel-sel IL-17⁺ (Zhang *et al.*, 2010).

Dari pengecatan *immunostaining* pada penyakit *alcoholic liver disease* (ALD) diketahui bahwa reseptor IL-17 (IL-17R) diekspresikan terutama pada septa fibrotik dan lebih sedikit pada ruang perisinusoidal. Dengan menggunakan teknik pengecatan ganda dengan antibodi yang telah diberi label secara fluoresen, peneliti terdahulu menemukan bahwa IL-17R diekspresikan terutama oleh *hepatic stellate cells* (HSC) *in vitro*. Sel-sel ini mempunyai respon *dose-dependent* dengan sekresi *CXC-chemokines*. Pemeriksaan kemotaksis memperlihatkan bahwa HSC teraktivasi terstimulasi dengan *IL-17 recruited neutrophils* rekombinan dimana HSC teraktivasi tersebut memiliki sifat *dose dependent* dengan peningkatan maksimal sebanyak 1,8 kali dari indeks kemotaksis. Peningkatan kemotaksis ini bergantung pada IL-8 dan GRO α (Lemmers *et al.*, 2009).

Sel-sel IL-17⁺ perifer (serum) *in vitro* diidentifikasi melalui stimulasi *PMA/ionimycin*. Kebanyakan sel-sel IL-17⁺ adalah sel-sel CD4⁺, sebaliknya, sel CD8⁺, monosit, sel *natural killer* (NK), dan sel B mengekspresikan IL-17 dalam kadar yang rendah. Analisis fenotip mengindikasikan bahwa IL-17⁺ CD4⁺ T *cells* mengekspresikan marker memori CD45RO dalam kadar tinggi.

Penelitian terbaru menemukan bahwa IL-17⁺ CD4⁺ yang berada di perifer atau serum mengekspresikan CD161 pada permukaannya. Sel T CD161⁺ memiliki kemampuan untuk memproduksi IL-17, tanpa bantuan atau dengan bantuan IFN- γ , sebagai respon dari aktivitas IL-1 β dan IL-23 yang dikombinasi. Sel T limfosit naive CD161⁻ dapat diubah menjadi sel yang mengekspresikan CD161 di permukaannya dan menghasilkan IL-17 melalui transduksi dengan vektor RORC2 viral (Maggi, 2010).

2.3 Karbon Tetraklorida

2.3.1 Definisi

Karbon tetraklorida (CCL4) adalah zat volatil yang tidak berwarna, terasa panas, dan berbau seperti klorofom. 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. CCL4 dapat menyebabkan kerusakan pada lapisan ozon dan pemanasan global (Wicaksono, 2004).

2.3.2 Toksisitas Pada Manusia

Manusia bisa terpapar oleh CCL4 melalui beberapa cara paparan, yaitu :

- Orang yang bekerja di tempat dimana karbon tetraklorida digunakan atau dibuat. Manusia juga bisa terpapar CCL4 jika menghirup udara luar yang mengandung karbon tetraklorida.
- Meminum air yang mengandung karbon tetraklorida.

- Terkena tanah yang mengandung CCL₄, atau berenang atau mandi dengan air yang terkontaminasi (Delaware Health and Social Services)

Toksisitas CCL₄ dapat disebabkan oleh bentuk metabolitnya. Metabolisme CCL₄ menghasilkan radikal bebas *Trichloromethyl* (CCI₃). Selanjutnya CCI₃ akan menginduksi terjadinya peroksidasi lipid yang akan menyebabkan kerusakan membran dan hilangnya fungsi sel dan organel. (Junieva, 2006).

Paparan tinggi karbon tetraklorida dapat menyebabkan kerusakan hati, ginjal, dan susunan saraf pusat. Efek ini dapat terjadi setelah CCL₄ tertelan, terhirup, atau terkena kulit. Hati merupakan organ yang sangat sensitif terhadap CCL₄. Ginjal juga dapat rusak yang dapat menyebabkan terkumpulnya 'waste' di darah. Jika terjadi paparan dengan kadar rendah, hati dan ginjal dapat memperbaiki sel yang rusak dan dapat berfungsi normal kembali. Efek akan menurun jika paparan dihentikan (ATSDR, 2005).

2.3.3 Toksisitas Pada Hewan Coba

Pada hewan, CCL₄ bertindak sebagai agen hepatotoksik yang poten. Pada tikus, paparan berkelanjutan pada kadar 10-50 ppm mempunyai dampak pada hati. Toksisitas ginjal umumnya terjadi hanya pada paparan dengan dosis yang sangat tinggi. Pada reproduksi dan perkembangan, secara garis besar hasilnya negatif dan data yang ada menunjukkan bahwa fetus tidak sensitive terhadap karbon tetraklorida (ATSDR, 2005). Berdasarkan bukti yang ada, diprediksi bahwa toksisitas hati adalah dampak buruk yang paling sering terjadi pada hewan coba setelah dipapar oleh CCL₄.

2.3.4 Hepatotoksisitas

Karbon tetraklorida (CCL₄) adalah hepatotoksin yang sangat poten. Hepatotoksik yang ditimbulkan oleh CCL₄ disebabkan oleh senyawa hasil metabolisme yang bersifat radikal bebas. Mekanisme CCL₄ dalam menyebabkan luka di sel hepatosit adalah pertama, CCl₄ di metabolisme oleh sitokrom P-450 di retikulum endoplasma hati menjadi senyawa yang sangat reaktif yaitu *trychloromethyl* radikal (CCl₃) yang akan segera bereaksi dengan O₂ membentuk *peroxytrichloromethyl* radikal (CCl₃O₂). Radikal bebas tersebut akan bereaksi dengan makromolekul-makromolekul seluler terutama asam lemak tidak jenuh sehingga terjadi lipid peroksidasi yang berakibat rusaknya struktur dan fungsi sel (Slater, 1984) dan menyebabkan stress oksidatif yang serius pada sel. Lipid peroksidasi ini akan membuat radikal bebas yang baru yang akan bereaksi dengan protein, enzim dan molekul DNA yang bisa mengakibatkan berbagai macam penyakit. Rusaknya sel hepatosit menyebabkan perubahan fungsi transport dan permeabilitas membran.

Kerusakan sel hepar sendiri juga memicu aktivasi sel kupffer. Sel kupffer yang teraktivasi dapat melepaskan berbagai mediator pro-inflamasi, yang dapat memperberat kerusakan hepatosit, dan mediator antiinflamasi yang bersifat hepatoprotektor. Selain itu, sel kupffer juga dapat melepaskan ROS yang juga memperberat kerusakan hepatosit.

Gambaran histologi kerusakan jaringan hati juga dapat diamati secara langsung dengan melihat gambaran sediaan histologi jaringan hepar tersebut. Derajat kerusakan hati oleh karbon tetraklorida (CCl₄) tergantung kepada dosis, rute pemberian, dan juga lama paparan (Hidayati, 2007).