

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Inflammatory Bowel Disease* (IBD)

2.1.1 Definisi

Inflammatory Bowel Disease (IBD) merupakan suatu kondisi inflamasi kronik di saluran pencernaan yang disebabkan oleh kegagalan sistem imun, genetik dan rangsangan flora normal. Secara umum kasus *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) pada hewan di Indonesia masih belum tercatat dengan jelas (Kathrani *et al.*, 2011), sedangkan kasus *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) pada hewan di Belgia dan pada peternakan di Spanyol dilaporkan bahwa dari 300 sampel serum sapi terindikasi sebanyak 12% dan 67% positif *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) (*European Comission Directorate General Health & Consumer Protection*, 2000).

Inflammatory Bowel Disease (IBD) terdiri dari 3 jenis, yaitu *Ulcerative Colitis* (UC), *Chrohn's Disease* (CD) dan bila sulit membedakan kedua hal tersebut, maka dimasukkan dalam kategori *indeterminate colitis* (Djojoningrat, 2006). *Crohn's disease* (CD) merupakan inflamasi yang terjadi pada bagian saluran pencernaan meliputi mulut, esophagus, lambung dan usus halus, sedangkan *Ulcerative Colitis* (UC) hanya terbatas pada usus besar dan rektum (Kappelmen *et al.*, 2007).

2.1.2 Etiologi

Etiologi pasti IBD belum sepenuhnya dimengerti, banyak teori diajukan namun belum ada kausa tunggal yang diketahui sebagai penyebab IBD. Salah satu teori yang diyakini adalah peranan mediasi imunologi pada individu yang memang rentan secara genetik. IBD diyakini merupakan hasil respon imun yang

menyimpang dan berkurangnya toleransi pada flora normal usus yang berakibat terjadinya inflamasi kronik pada usus (Bengson *et al.*, 2010).

2.1.3 Gejala Klinis

Secara umum, gejala klinis dari IBD berupa diare kronik dengan atau tanpa darah serta nyeri abdomen. Selain itu, dijumpai dampak sistemik *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) berupa anemia, demam dan gangguan nutrisi (Bernstein *et al.*, 2010).

2.1.4 Patogenesis

Secara umum, diperkirakan bahwa proses patogenesis IBD diawali adanya infeksi, toksin, produk bakteri serta dipengaruhi oleh faktor genetik, defek imun dan lingkungan sehingga terjadi kaskade proses inflamasi pada dinding usus (Bernstein *et al.*, 2010). Banyak mediator inflamasi telah dikenali dalam patogenesis IBD. Sitokin yang dilepaskan oleh makrofag sebagai respon terhadap berbagai stimulus antigenik akan berikatan dengan beragam reseptor. Respon imun ini merusak mukosa saluran cerna dan memicu terjadinya kaskade proses inflamasi kronik. Aktivasi makrofag juga menyebabkan pelepasan *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) sebagai mediator inflamasi sehingga menyebabkan inflamasi berkelanjutan dan merusak jaringan usus (Laroux *et al.*, 2001).

Peningkatan produksi ROS dapat merusak asam nukleat, protein, dan lemak yang menyebabkan hasil akhir berupa kerusakan jaringan dan inflamasi pada usus yang akut maupun kronis. Apabila produksi ROS dalam sel meningkat maka terjadi aktivasi NF- κ B dan fosforilasi inhibitor NF- κ B (I κ B) yang diagregasi oleh sistem proteasome. Namun, akibat tidak adanya inhibitor bagi NF- κ B, maka NF- κ B

berpindah menuju nukleus untuk mengekspresi sitokin (Campbell *et al*, 2006).

Kerusakan pada jaringan akan menyebabkan produksi sitokin pro-inflamasi dan aktivasi neutrofil serta melepaskan enzim protease (Suryanto, 2003).

2.2 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Inflammatory Bowel Disease

Tikus *Rattus norvegicus* merupakan hewan yang umum digunakan dalam penelitian karena mudah dipelihara, secara garis besar fungsi, bentuk organ serta proses biokimianya antara tikus dan manusia memiliki banyak kesamaan. Tikus memiliki beberapa keunggulan yaitu pemeliharaannya dan perawatannya mudah, kemampuan reproduksi tinggi dan masa kebuntingan singkat. Rata-rata berat badan umum tikus jantan dewasa berkisar antara 267 sampai 500 gram dan betina 225 sampai 325 gram (Suckow, 2006).

Klasifikasi tikus yang digunakan dalam penelitian menurut Krinke (2000), adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>



Gambar 2.1 Tikus (*Rattus norvegicus*) (Ronaghy *et al.*, 2002)

Pembuatan hewan model *Inflammatory Bowel Disease* dengan cara pemberian indometasin karena salah satu penyebab IBD adalah efek samping dari penggunaan obat golongan NSAID seperti indometasin. Indometasin merupakan obat yang digunakan untuk pengobatan *Rheumatoid Arthritis*. Indometasin merupakan salah satu obat NSAID yang sangat efektif dalam menekan kejadian inflamasi, namun dalam penggunaan jangka panjang indometasin mampu menyebabkan IBD pada saluran pencernaan (Kazuhide *et al.*, 2009).

Dosis indometasin untuk menghasilkan saluran pencernaan mengalami IBD akut yaitu 15 mg/kg BB dengan pemberian per oral. Indometasin bekerja dengan menghambat jalur COX-1 dan COX-2. Indometasin melakukan hambatan COX-2 untuk mengurangi inflamasi dan rasa sakit. Pada COX-1 indometasin akan mengakibatkan penurunan sintesis prostaglandin dan jumlah mukus pada saluran pencernaan (Aulanni'am *et al.*, 2012).

2.3 Indometasin

Indometasin adalah obat anti-inflamasi yang termasuk golongan NSAID. Golongan obat ini sering digunakan untuk pengobatan penyakit karena dapat menghilangkan/mengurangi tanda dan gejala radang. Indometasin bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase yang mengkonversi asam arakidonat menjadi prostaglandin. *Siklooksigenase* (COX) mempunyai dua isoform yaitu COX-1 dan COX-2, Kedua isoform mengkatalisir perubahan asam arakidonat menjadi endoperoksidase (termasuk didalamnya prostaglandin) (Indraswari dkk., 2004). Absorpsi indometasin setelah pemberian oral cukup baik yaitu 92-99%, indometasin terikat pada protein plasma yang metabolismenya terjadi di hepar.

Diekskresikan dalam bentuk asal maupun metabolit. Pemberian indometasin memberikan efek pada saluran pencernaan meliputi nyeri abdomen, diare dan perdarahan saluran pencernaan. Mekanisme kerusakan usus akibat indometasin ditunjukkan oleh penurunan prostaglandin mukosa. Penurunan prostaglandin mukosa maka tidak ada perlindungan terhadap *barier* mukosa dan peningkatan motilitas usus yang dilanjutkan dengan adanya penyerbuan enterobakteri. Penyerbuan bakteri menyebabkan aktivasi makrofag, aktivasi neutrofil dan pembentukan ROS sehingga menyebabkan kerusakan usus. Indometasin dapat meredakan gejala peradangan seperti nyeri, tetapi dapat menyebabkan kerusakan usus (Takeuchi *et al.*, 2003). Pada **tabel 2.1** dapat dilihat keuntungan dan kerugian dari model hewan IBD hasil induksi kimia (Szalai, 2014).

Tabel 2.1 *Chemical-Induced Inflammatory Bowel Disease (IBD)*

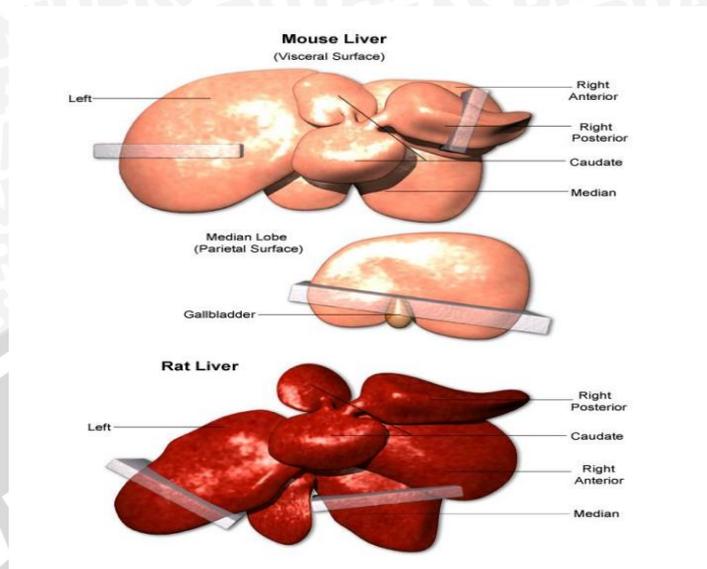
Induksi	Keuntungan	Kerugian
Indometasin	Peradangan tidak terlokalisasi di usus besar saja tetapi diseluruh bagian gastrointestinal. Sediaan indometasin mudah diperoleh.	Peradangan tidak terlokalisasi di usus besar.
DSS (Dextran Sulfate Sodium)	Dapat menginduksi peradangan akut, kronis atau bentuk kambuh. DSS secara signifikan menyebabkan peningkatan produksi semua sitokin proinflamasi.	Durasi yang lebih lama bila digunakan untuk eksperimen.
Acetic acid	Memberikan perubahan signifikan dalam morfologi, sifat mekanik dan respon farmakologis dari kolon distal seperti kolitis ulserativa pada manusia.	Peradangan terlokalisasi di kolon
TNBS (2,4,6-Trinitrobenzen esulfonic Acid)	Dapat diaplikasikan luas pada hewan vertebrata (tikus, marmut, kelinci), dimana patologinya mirip dengan patologi pada manusia.	Tidak bisa menyerupai fase dari <i>Crohn diseases</i> .

2.4 Organ Hepar

Anatomi dari organ hepar yaitu organ ini dibungkus oleh jaringan ikat (kapsula Glisson). Hepar terletak dipermukaan caudal dari diafragma. Bagian cranial hepar berbentuk cembung yang bersentuhan dengan otot diafragma dan bagian visceral berbentuk cekung karena bersentuhan dengan duodenum (Bredo, 2011).

Hepar tikus terbagi menjadi empat lobus yaitu lobus sinister, lobus median, lobus dexter dan lobus caudatus. Masing-masing lobus dibentuk oleh lobulus-lobulus yang merupakan unit fungsional dasar hepar. Secara keseluruhan, hepar dibentuk oleh sekitar 100.000 lobulus yang terdiri dari hepatosit, saluran sinusoid dan sel kupfer. Setiap lobulus hepar merupakan badan heksagonal yang terdiri atas lempeng-lempeng sel hepar berbentuk kubus, tersusun radial mengelilingi vena sentralis yang mengalirkan darah dari lobules (Price and Lorraine, 2006)

Hepar merupakan salah satu organ vital yang memiliki peranan penting dalam metabolisme. Hepar disusun oleh sel utama penyusun hepar yaitu hepatosit. Hepatosit merupakan sel utama yang bertanggung jawab terhadap peran sentral hepar dalam metabolisme. Di dalam hepar sel hepatosit terdapat sebanyak 60% dari total sel yang terdapat di dalam hepar. Pada struktur hepar terdapat lubang yang merupakan pembuluh darah kapiler yang disebut sinusoid, dinding sinusoid mengandung sel kupfer yang bertugas memfagositosis dan menghancurkan partikel padat bakteri dalam sel darah mati. Selain sel-sel tersebut, sel lain yang dapat ditemukan dalam hepar normal yaitu sel darah, sel epitelium, limfosit, fibroblast dan hepatic stellate cells (Bredo, 2011).

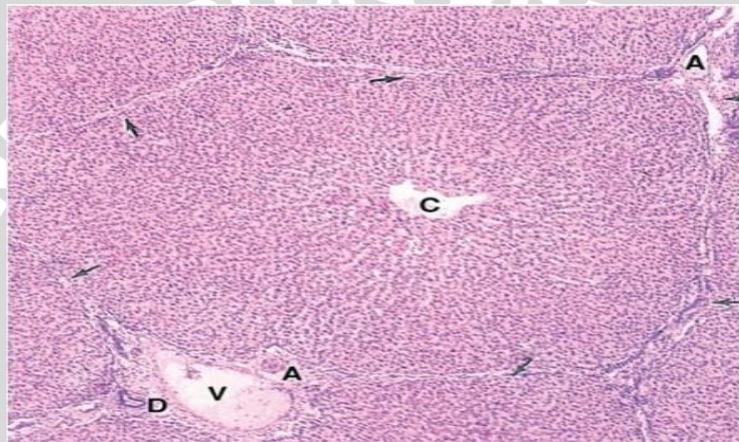


Gambar 2.2 Hepar Tikus (Bredo, 2011).

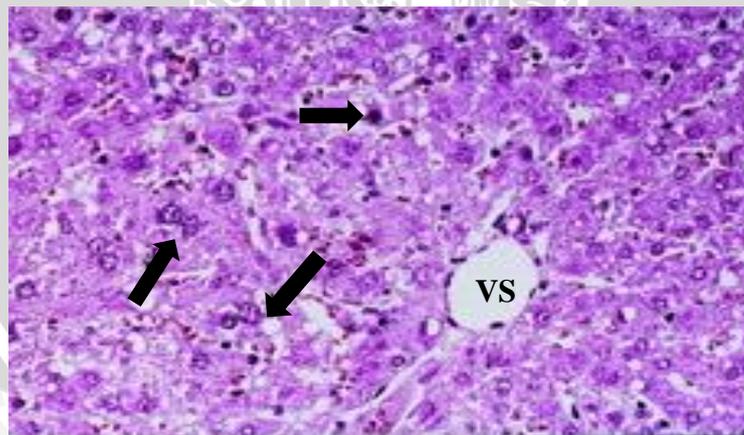
Kerja terpenting hepar adalah pengambilan komponen yang diantarkan dari saluran cerna melalui vena porta ke dalam hepar, detoksifikasi senyawa-senyawa toksik dan sebagai pembuat dan penyimpanan hasil metabolisme. Selain itu fungsi hepar juga untuk melindungi tubuh terhadap terjadinya penumpukan zat berbahaya dari luar maupun dari dalam. Hepar juga merupakan tempat dimana obat dan bahan toksik lainnya dimetabolisme (Sativani, 2010).

Infeksi, obat atau virus menyebabkan kerusakan menetap pada sel-sel hepar yang berakibat pada peradangan maupun kematian pada sel-sel hepar (nekrosis). Salah satu penyebab kerusakan hepar adalah senyawa radikal bebas (Indrayana, 2008). Menurut Paderi (2007) Hepar merupakan organ yang paling umum mengalami kerusakan akibat racun hal ini disebabkan hepar menerima suplai darah dari vena porta sekitar 8% yang mengalir dari saluran pencernaan. Hepar menerima darah dari vena porta dan arteri hepatica, kemudian disalurkan ke vena sentralis dan vena hepatica ke vena cava. Sebagian besar toksikan memasuki tubuh melalui

sistem gastrointestinal dan diserap oleh vena porta ke hepar. Hepar memiliki enzim untuk memetabolisme xenobiotik (terutama sitokrom p-450), hal ini menyebabkan sebagian besar toksikan menjadi kurang toksik dan mudah larut air sehingga lebih mudah disekresikan. Toksikan dapat menyebabkan berbagai perubahan pada organel sel hepar, sehingga mengakibatkan sel hepatosit mengalami nekrosis, degenerasi hidropik serta terjadi pelebaran pada sinusoid (Crawford, 2005).



Gambar 2.3 (A) arteri hepatic (V) vena portal dan arteriol (D) ductus biliaris (C) vena sentralis (Pembesaran 40 x dengan pewarnaan HE) (Mescher, 2010)



Gambar 2.4 Histopalogi hepar yang mengalami inflamasi dengan pewarnaan HE perbesaran 400 x, ditandai dengan adanya nekrosis pada sel hepatosit pada daerah sentrolobuler yakni di sekitar daerah vena sentralis (Hall *et al.*, 2000).

2.5 Enzim Protease

Enzim adalah molekul protein kompleks yang dihasilkan oleh sel hidup dan bekerja sebagai katalisator dalam berbagai proses kimia di dalam tubuh. Enzim pemecah protein atau protease sangat penting dalam proses pencernaan untuk memecah ikatan peptida dari protein yang dikonsumsi menjadi asam-asam amino yang mudah diabsorpsi (Soeka *et al.*, 2011). Protease merupakan enzim proteolitik sebagai respon pertahanan tubuh terhadap bahan patogen. Tingkat kerusakan hepar bisa juga dilihat dari aktivitas enzim protease. Aktivitas protease yang meningkat dapat dipergunakan sebagai penanda adanya inflamasi. Mekanisme kerja pelepasan protease pada jaringan dimulai dengan adanya rangsangan berupa produk bakteri, cedera fisik, toksin maupun obat-obat memicu aktivasi makrofag (proses fagositosis). Aktivasi makrofag tersebut dapat merangsang terbentuknya sitokin yang dihasilkan selama terjadi respon inflamasi dan imun. Sitokin menyebabkan aktivasi neutrofil serta pelepasan enzim proteolitik sehingga berperan dalam kerusakan jaringan (Kumar *et al.*, 2007). Enzim protease yang terlibat pada kerusakan jaringan adalah protease serin yaitu jenis protease yang tersimpan dalam neutrofil yang berfungsi sebagai pertahanan anti-mikroba dengan mekanisme fagositosis mikroorganisme di dalam fagolisosom neutrofil. Neutrofil merupakan salah satu sel yang berperan pada proses inflamasi. Neutrofil berfungsi menghancurkan mikroorganisme tetapi juga dapat merusak sel maupun jaringan inang (Segal, 2005).

Enzim protease selalu ada dalam tubuh, enzim protease secara normal terdapat dalam jaringan berperan dalam pertahanan yaitu pemecahan protein asing

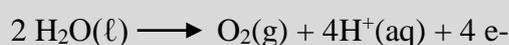
yang masuk kedalam tubuh, perbaikan sel yang mengalami kerusakan dan membunuh bakteri pada jaringan inflamasi. Peningkatan jumlah protease pada jaringan yang mengalami inflamasi menyebabkan aktivitas protease berlebih dan tidak terkendali, sehingga menyebabkan kerusakan sel (Bratawidjaya dan Rengganis., 2010). Respon inflamasi yang tidak berhenti, disebabkan tidak seimbangnya aktivitas proteolitik (Eming *et al.*, 2007). Peningkatan jumlah protease dalam jaringan yang mengalami inflamasi dapat menyebabkan aktivasi protease tidak terkendali sehingga merusak faktor pertumbuhan dan reseptornya, mencegah angiogenesis dan memecah granulasi jaringan sehingga menyebabkan kerusakan jaringan (Segal, 2005).

Hepar yang mengalami kerusakan atau inflamasi akan menimbulkan peningkatan aktivitas enzim protease dan pemecahan protein yang berlebihan menyebabkan tingginya produksi ROS, sehingga terjadi inflamasi jaringan. Oksigen yang masuk ke tubuh diubah sel secara konstan menjadi senyawa yang sangat reaktif disebut dengan ROS (Wu dan Cederbaum, 2009). Aktivitas protease yang berlebihan menyebabkan sel hepatosit menjadi melemah, faktor inilah yang diduga sebagai penyebab gangguan fungsi hepatoseluler dimana semakin banyak protease yang disekresikan, maka kerusakan membran sel semakin parah (Jaeschke, 2011).

2.6 Potensi air alkali sebagai terapi *Inflammatory Bowel Disease* (IBD)

Air alkali adalah air yang digunakan untuk pencegahan dan pengobatan penyakit. Air alkali disebut pula dengan *Electrochemically Reduced Water* (ERW), *Alkaline Electrolyzed water*, *Alkali-Ionic Water*, *Alkaline Cathodic Water* dan

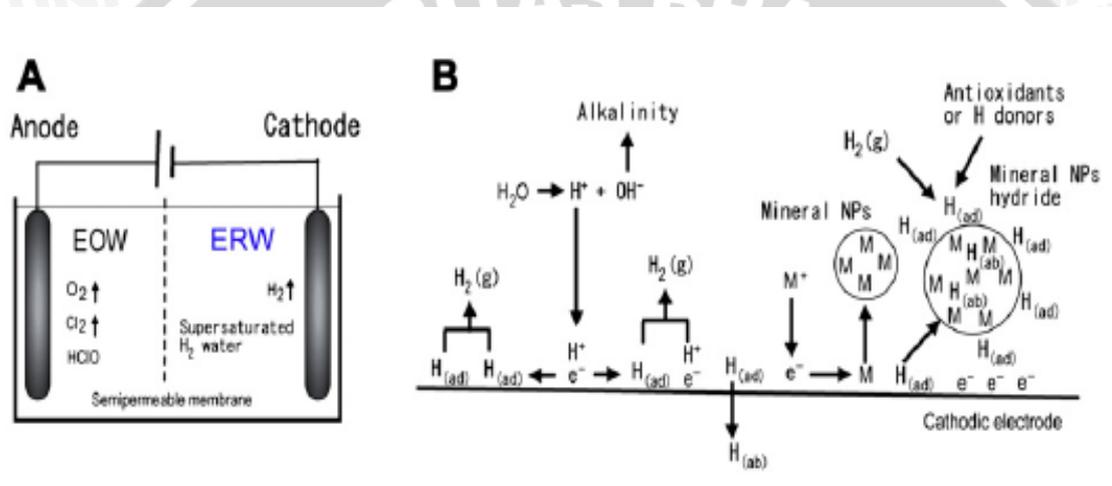
Alkaline Ionized Water. Selain itu, air alkali disebut pula sebagai *kangen water*, *hexagonal water*, *spawater*, *microwater*, *ionized water* dan *living water* (Shirahata *et al.*, 2007). Tahapan pertama proses elektrolisis yaitu air akan difiltrasi dengan menggunakan karbon aktif yang merupakan sebuah material atau bahan yang memiliki pori-pori sangat banyak dan luas. Pori-pori ini berfungsi untuk menyerap setiap kontaminan yang melaluinya. Artinya, jika air disaring dengan karbon aktif, maka kontaminan dalam air dapat masuk dalam pori-pori dan terjebak di dalamnya serta dapat menjernihkan air yang keruh, menghilangkan bau dari air tersebut dan mengurangi tingkat klorida sehingga menghindari kerusakan pada sel elektrolit. Selanjutnya, air akan dimasukkan dalam filter keramik yang memiliki pori-pori keramik dengan otomatis menyaring air tersebut hingga steril dari bakteri. Pori-pori yang dibentuk oleh sekam itu berukuran 0,2-3 nanometer dan berlapis perak sehingga mematikan bakteri di dalamnya. Air yang sudah disaring akan masuk kedalam *electrolysis chamber* yang didalamnya sudah ada elektroda katoda dan anoda yang dipisahkan oleh semi-permeabel diafragma terbuat dari plastik. Elektroda yang digunakan merupakan platinum berlapis titanium kemudian terjadilah proses elektrolisis yaitu pemecahan molekul air :



Pada anoda, terjadi akumulasi mineral ion (HCO_3^- , Cl^- , HSO_4^- , NO_3^- , ...) serta proton dan oksigen dibebaskan. Pada anoda menghasilkan air dengan pH antara 4 dan 6 dengan nilai ORP +900 mV. Selain itu, pada bagian katoda terjadi proses sebagai berikut :



Pada katoda, terjadi penumpukan kation mineral (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , ...) dan selanjutnya ion hidroksil dan hidrogen diproduksi kemudian terjadilah perubahan pH air yaitu antara 8 dan 10 dengan nilai ORP -600 mV. Kemudian masing-masing air dengan pH asam maupun basa dipisahkan dan dikeluarkan dengan menggunakan saluran yang berbeda untuk memisahkan antara air dengan pH basa dan air dengan pH asam (Henry and Chambron, 2013).

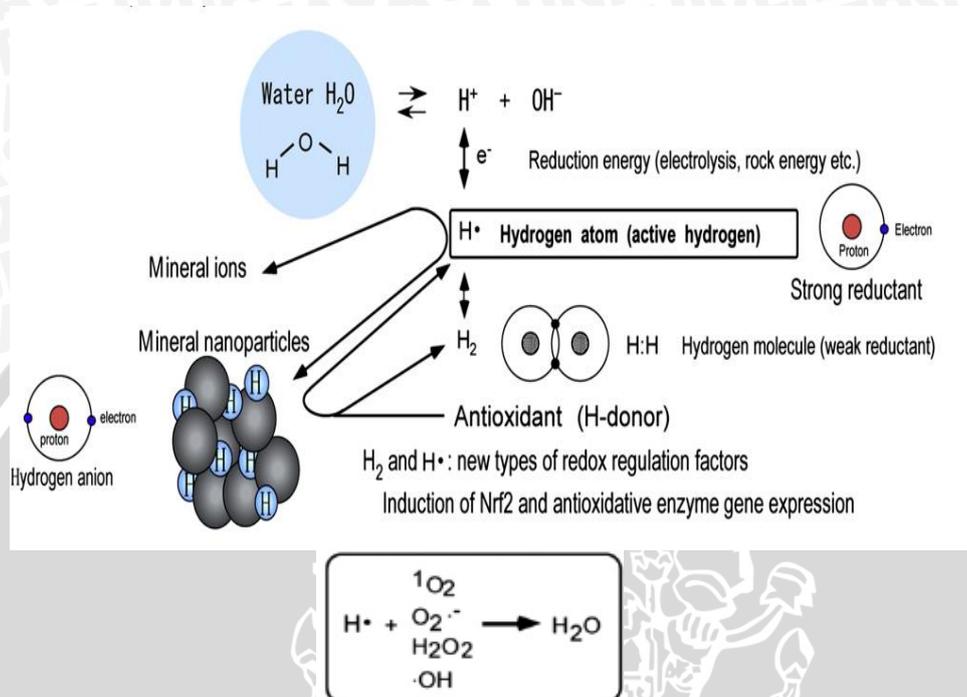


Gambar 2.5 Prinsip elektrolisis air (Shirahata *et al.*, 2012).

Keterangan: **A.** Secara elektrokimia air direduksi di sekitar katoda adalah air yang kaya dengan molekul hidrogen sedangkan air dioksidasi di sekitar anoda adalah air yang mengandung gas oksigen, gas klorida dan asam hipoklorit. **B.** Terjadi reaksi pada permukaan elektroda platinum. Proton yang lepas dari air direduksi menjadi atom H teradsorpsi (H_{ad}) pada permukaan pelat platinum kemudian H_{ad} diubah menjadi atom H_2 . H_{ad} diserap ke dalam logam Pt untuk menghasilkan H teradsorpsi (H_{ab}). Ion mineral dalam *original water* direduksi menjadi atom logam dan kemudian terorganisir membentuk mineral nanopartikel. Mineral nanopartikel dilindungi oleh pelindung organik yang stabil dan tersebar di dalam air untuk waktu yang lama. Mineral nanopartikel *adsorb* atau atom H teradsorpsi dengan adanya H_2^- atau H-donor.

Elektrolisis air menghasilkan keadaan pereduksi yang kuat di sekitar katoda, karena sebagian besar tegangan diterapkan pada lapisan air di dekat katoda, membentuk medan listrik yang sangat tinggi. Mineral nanopartikel dan mineral

nanopartikel hidrida juga terbentuk. Nanopartikel yang dihasilkan mengaktifkan atom hidrogen (Hamasaki *et al.*, 2008; Kajita *et al.*, 2007).



Gambar 2.6 Proses Hidrogen Aktif dalam Air Alkali (Shirahata *et al.*, 2012).

Air direduksi dengan energi listrik dan energi lainnya untuk menghasilkan hidrogen aktif (H atom) dan mineral nanopartikel. Atom H menghasilkan molekul hidrogen, H_2 berfungsi sebagai H-donor. Mineral nanopartikel dapat mempertahankan *reduction energy*, karena nanopartikel secara bertahap memisahkan ion mineral, dan melepaskan elektron. Mineral nanopartikel merangsang atom H merilis berbagai zat organik seperti antioksidan dan metanol untuk meningkatkan *reducibility*. Mineral nanopartikel hibrida dapat melepaskan anion hidrogen, yang dapat berfungsi sebagai reduktan. Molekul hidrogen dan hidrogen aktif merupakan faktor regulasi redoks yang dapat menginduksi ekspresi

enzim antioksidan. Enzim antioksidan adalah jalur utama pertahanan terhadap radikal bebas pada sel hewan dan tumbuhan (Shirahata *et al.*, 2012).

Air alkali memiliki beberapa manfaat yaitu untuk peningkatan fermentasi usus yang abnormal, pengobatan diare kronis, *gastric hyperacidity* karena menetralkan keadaan basa di abdomen dan *dyspepsia*, menekan akumulasi lemak tubuh, menghilangkan ROS dan pengobatan diabetes. Namun, air alkali memiliki fungsi utama sebagai antioksidan karena memiliki kandungan hidrogen yang tinggi. Air alkali atau air basa berfungsi sebagai penyeimbang kelebihan asam dalam tubuh. Air alkali merupakan air yang mengandung beberapa komponen tertentu seperti pH diatas 7 (pH 9.1), molekul air mikro kluster, nilai *Oxidation Reductional Product* (ORP) negatif dan hidrogen sangat tinggi sebagai antioksidan. Semakin negatif nilai ORP suatu cairan maka semakin besar potensi dalam menyumbangkan elektron ke sel-sel yang kehilangan elektron akibat diambil oleh radikal bebas. Air alkali tidak hanya memiliki pH tinggi dan nilai *Oxidation Reductional Product* (ORP) negatif, tetapi juga mengandung ion magnesium dan kalsium yang mampu mencegah penyakit dan menetralkan keadaan tubuh yang asam (Vorobjova, 2005).

Air alkali mengandung hidrogen yang cukup tinggi sehingga minum air hidrogen menunjukkan perlindungan terhadap oksidatif penyakit. Pemberian air alkali pada hewan model diinduksi dengan penyakit metabolik menunjukkan bahwa kadar glukosa, kolesterol total dan trigliserida mengalami penurunan secara signifikan (Jin *et al.*, 2006; Kim, 2006). Penggunaan air alkali dalam jangka panjang dapat menormalkan glukosa yang abnormal dan tingkat lipid darah. Air alkali

bekerja dengan mempengaruhi sistem imun, bertindak pada respon imun lokal mempengaruhi penurunan ekspresi sitokin pro-inflamasi (Kim dan Yokoyama, 1997; Watanabe *et al*, 1997).

