

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kolestasis merupakan gangguan aliran asam empedu yang dapat disebabkan gangguan intrahepatal maupun ekstrahepatal. Insidensi kolestasis dilaporkan tiap 5 dari 1000 orang di Amerika.<sup>1</sup> Asam empedu disintesis secara *de novo* di hati 500-600 mg per hari dan lebih dari 90% asam empedu di reabsorpsi di ileum terminal untuk digunakan kembali, hal ini dikenal sebagai siklus enterohepatik yang berlangsung 6-10 kali per hari pada keadaan normal.<sup>2</sup> Pada kolestasis, siklus ini terganggu dan menyebabkan perubahan bentuk dan fungsi ileum terminal.<sup>3,4</sup>

Saluran pencernaan melakukan berbagai fungsi dalam pencernaan, penyerapan selektif, dan sekresi. Namun, fungsi barrier yang mencegah penyebaran bakteri intraluminal dan endotoksin ke organ dan jaringan, memainkan peran yang sangat penting. Kegagalan barrier usus dikaitkan dengan peningkatan insiden translokasi bakteri dan toksin dari lumen usus ke sirkulasi sistemik, menyebabkan infeksi sistemik dan kegagalan organ multipel. Kegagalan barrier usus dapat terjadi akibat satu atau lebih dari tiga kondisi patofisiologis dasar yakni gangguan keseimbangan ekologi normal mikroflora usus, gangguan pertahanan kekebalan tubuh *host*, dan gangguan fisik barrier mukosa usus.<sup>5</sup>

Pada keadaan obstruksi saluran empedu, lingkungan mikroflora usus menjadi berubah dan terjadi peningkatan permeabilitas intestinal.<sup>6</sup> Kondisi tersebut menyebabkan gangguan pada fungsi barrier usus sehingga menyebabkan translokasi bakteri dan endotoksin ke kelenjar getah bening mesenterika, sirkulasi portal dan hati serta penurunan kapasitas sel Kupffer sebagai makrofag hati yang utama memungkinkan terjadinya "*spillover*" endotoksin dari portal ke sirkulasi sistemik dan menyebabkan pelepasan sitokin proinflamasi seperti *tumor necrosis factor alfa* (TNF- $\alpha$ ), *interleukin-1 beta*, *interleukin-6*, sehingga menyebabkan "*gut derived sepsis*".<sup>6,7</sup>

TNF- $\alpha$  adalah protein 43-kd yang tersintesis dan tersekresi dari makrofag serta sel-sel lain setelah adanya stimulasi endotoksin. TNF- $\alpha$  dianggap sebagai

mediator kunci pada syok septik dan penyakit inflamasi lainnya. TNF- $\alpha$  menyebabkan peningkatan permeabilitas *tight junction* usus.<sup>8</sup> TNF- $\alpha$  juga bekerja dengan *lipopolisakarida* (LPS) dan *Platelet Activating Factor* (PAF) untuk menghasilkan nekrosis usus.<sup>9</sup>

Pembedahan merupakan terapi utama pada pasien dengan post hepatal kolestasis namun pembedahan dikaitkan dengan tingginya prevalensi komplikasi pasca operasi dan angka kematian. Terapi medikamentosa semakin berkembang pada kasus kolestasis terutama dalam mencegah kerusakan selular lebih lanjut.<sup>10</sup> *Ursodeoxycholic acid* (UDCA) merupakan obat lini pertama pada kolestasis<sup>11</sup> dan juga dianggap sebagai standar baku emas untuk penanganan *Primary Biliary Cirrhosis* (PBC).<sup>12</sup> UDCA adalah contoh asam empedu hidrofilik fisiologis, yang mencakup 3% dari keseluruhan asam empedu. Pemberian UDCA meningkatkan jumlah asam empedu hidrofilik nontoksik di hepar dan berfungsi sebagai agen koleretik, agen imunomodulator, serta agen sitoprotektif terhadap hepatosit dan sel duktus biliaris.<sup>13</sup> UDCA merangsang migrasi sel epitel usus setelah cedera seluler dan juga melindungi barrier usus dalam model hewan coba.<sup>14</sup> Dosis optimal pemberian UDCA adalah 13-15 mg / kg / hari. Pemberian UDCA jangka Panjang atau minimal 2 tahun tidak menimbulkan efek samping dan mampu menghambat progresifitas penyakit.<sup>15</sup> Namun 35-40% penderita PBC tidak berespon terhadap pemberian UDCA dan kelompok ini memiliki prognosis yang buruk,<sup>16</sup> sehingga memerlukan pemberian terapi lainnya. *Ursodeoxycholic Acid* (UDCA) dan *S-Adenosyl-L-methionine* (SAME) adalah dua agen yang telah digunakan untuk mengobati cedera hati kolestatik. Menggabungkan UDCA dan SAME ternyata memberikan efek terapeutik yang lebih baik.<sup>17</sup> SAME sendiri merupakan suatu protein utama dalam proses metilasi yang penting dalam sintesis Glutathione.<sup>18</sup> Pemberian UDCA pada galur sel HepG2 ternyata meningkatkan kadar Glutathione.<sup>19</sup> Interaksi ini memungkinkan adanya efek sinergistik pada pemberian kombinasi UDCA dan Glutathione, namun dosis optimal kombinasi UDCA dan glutathione belum diketahui sehingga membutuhkan penelitian lebih lanjut dengan dosis bertingkat.

Glutathione (GSH) disintesis di semua sel mamalia dan ada dalam bentuk tereduksi tiol (GSH) dan disulfida-oksidasi (GSSG). GSH memiliki beberapa fungsi penting salah satunya memodulasi proses seluler penting seperti pertumbuhan dan kematian, proses terkait mikrotubulus, fungsi imun, dan fibrogenesis. Glutathione adalah salah satu antioksidan endogen di hepar. Glutathione menghancurkan radikal bebas secara langsung maupun tidak langsung dengan menjadi kofaktor enzim *glutathione peroxidase*.<sup>20</sup> Sistem pertahanan antioksidan terganggu oleh penurunan *glutathione reduktase* dan aktivitas *glutathione peroxidase* pada kondisi kolestasis.<sup>21</sup> Kadar glutathione yang tinggi dapat mencegah kerusakan seluler yang disebabkan stress oksidatif oleh karena *Reactive Oxygen Species* (ROS).<sup>22</sup> ROS memiliki peran penting dalam pathogenesis kolestasis. ROS menyebabkan gangguan pertumbuhan sel endothel dan kematian seluler.<sup>23</sup> Pemberian glutathione eksogen dapat mengurangi fibrosis hepar<sup>24</sup> dan juga memperbaiki fungsi mukosa pada kolitis akut.<sup>25</sup>

Karena tingginya potensi Glutathione sebagai antioksidan serta adanya penurunan kadar Glutathione saat kolestasis inilah peneliti memilih penggunaan Glutathione sebagai kombinasi dengan UDCA dengan multidosis selama 21 hari dalam manajemen kolestasis dan hubungannya dengan ekspresi TNF- $\alpha$  dan tinggi vili mukosa ileum terminal pada tikus *Sprague Dawley* jantan. Tikus dipilih sebagai hewan coba dengan cepat tumbuh dan mengalami maturitas pada usia 6 minggu. Para ahli memperkirakan 1 hari usia tikus sama dengan 34,8 hari usia manusia.<sup>26</sup> Sehingga perlakuan selama 21 hari pada tikus sama dengan 730 hari / 2 tahun hidup manusia.

## **1.2 Perumusan Masalah**

### **1.2.1 Masalah umum**

Apakah kombinasi UDCA-Glutathione menekan ekspresi TNF- $\alpha$  dan meningkatkan tinggi vili mukosa ileum terminal dibandingkan pemberian UDCA tunggal pada tikus *Sprague Dawley* yang diligasi duktus koledokusnya?

### **1.2.2 Masalah khusus**

- a. Apakah kombinasi UDCA-Glutathione menekan ekspresi TNF- $\alpha$  ileum dibandingkan pemberian UDCA tunggal pada tikus *Sprague Dawley* yang diligasi duktus koledokusnya?
- b. Apakah kombinasi UDCA-Glutathione meningkatkan tinggi vili mukosa ileum terminal dibandingkan pemberian UDCA tunggal pada tikus *Sprague Dawley* yang diligasi duktus koledokusnya?
- c. Apakah terdapat korelasi ekspresi TNF- $\alpha$  dan peningkatan tinggi vili mukosa ileum terminal tikus *Sprague Dawley* yang diligasi duktus koledokusnya?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Menganalisis pemberian kombinasi UDCA-Glutathione dalam menekan ekspresi TNF- $\alpha$  dan meningkatkan tinggi vili mukosa ileum terminal dibandingkan pemberian UDCA tunggal pada tikus *Sprague Dawley* yang diligasi duktus koledokusnya.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

- a. Menganalisis pemberian kombinasi UDCA-Glutathione dalam menekan ekspresi TNF- $\alpha$  dibandingkan pemberian UDCA tunggal pada tikus *Sprague Dawley* yang diligasi duktus koledokusnya
- b. Menganalisis pemberian kombinasi UDCA-Glutathione dalam meningkatkan tinggi vili mukosa ileum terminal dibandingkan pemberian UDCA tunggal pada tikus *Sprague Dawley* yang diligasi duktus koledokusnya
- c. Menganalisis korelasi ekspresi TNF- $\alpha$  dan tinggi vili mukosa ileum terminal tikus *Sprague Dawley* yang diligasi duktus koledokusnya

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Harapan dari hasil penelitian yang dilakukan dapat memberikan sebuah manfaat dengan dijabarkan dalam penjelasan dibawah ini:

1. Manfaat di bidang pendidikan

Harapan dalam penelitian yang dilakukan menghasilkan sebuah penambahan pengetahuan dan wawasan mengenai berbagai informasi yang berguna tentang terapi kombinasi sebagai pengobatan yang dilakukan dalam penanganan kolestasis.

2. Manfaat di bidang penelitian

Dalam penelitian yang dilakukan hasilnya bisa menjadi sebuah referensi dan acuan untuk penelitian pengembangan berikutnya dengan pembahasan yang sama, Bilamana kombinasi UDCA-Glutathione efektif dalam proses penurunan ekspresi TNF- $\alpha$  dan peningkatan dengan terjadi tingginya vili mukosa ileum terminal tikus kolestasis, sehingga dalam pemakaiannya bisa dilakukan pengembangan ulang. Dalam penelitian yang dilakukan dengan sebuah praktik pra klinik yang dimaksud bisa dilakukan pengembangan dengan penelitian klinik terhadap manusia.

3. Manfaat di bidang pelayanan

Harapannya dari hasil penelitian yang dilakukan bisa menjadikan sebuah bahan untuk mempertimbangkan dalam usaha yang dilakukan dalam proses penanganan dan menyembuhkan kolestasis menggunakan obat yang dikombinasikan.

4. Manfaat bagi Institusi

Dalam penelitian yang dilakukan memperoleh hasil dengan menjadikan penambahan bahan publikasi penelitian institusi dan menjadi dasar pembuatan roadmap penelitian

#### **1.5 Keaslian Penelitian**

Sesuai dengan dilakukannya sebuah penelusuran pustaka yang dihasilkan dalam sebuah database Pubmed ([www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed)) dan Litbang DEPKES RI mengenai penelitian kombinasi UDCA terhadap beberapa agen dalam

penanganan dan menyembuhkan kolestasis sudah umum dilakukan beberapa peneliti. Akan tetapi dalam penelitian yang dilakukan dengan menerapkan glutathione menjadi adjuvant masih sebagian saja yang dilakukan. Dibawah ini merupakan penelitian yang relevan dengan penelitian yang dilakukan yaitu:

**Tabel 1.Keaslian Penelitian**

Peneliti/tahun	Jumlah sampel	Metode	Hasil	Perbedaan
Gumus dkk <sup>27</sup>  Penelitian dilakukan di Turki tahun 2013	Sampel: 40 tikus Wistar Albino yang dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan :  Kelompok 1 menjalani operasi placebo; Kelompok 2 menjalani operasi placebo dan pengobatan simultan dengan buah delima; Kelompok 3 menjalani <i>common bile duct ligation</i> , dan Kelompok 4 menjalani <i>common bile duct ligation</i> dan pengobatan simultan dengan buah delima. Variabel bebas: Pemberian buah Delima Pomella®, Verdure Sciences, Noblesville, IN, USA; 250 mg/kg/hari) selama 8 hari  Kontrol: Kelompok 1 dan Kelompok 2 Variabel tergantung: Translokasi bakteri <i>colony-forming units</i> (CFUs) per g jaringan. Dari sampel darah sistemik, hati, limpa dan kelenjar getah bening mesenterika (MLNs)  Histopatologi segmen <i>ileum</i>	Penelitian eksperimental , <i>post test only controlled group design</i>	Translokasi bakteri menurun secara signifikan pada Kelompok 4 dibandingkan dengan Kelompok 3 (p = 0,007). Jumlah bakteri (Unit pembentuk koloni: CFU/g) dari Kelompok 3 secara signifikan lebih tinggi daripada Kelompok 1, 2 dan 4 (p <0,05). Rata-rata tinggi vili ileum di Kelompok 1, 2, 3 dan 4 masing-masing adalah 480,5±20,5 m, 494,7±17,3 m, 356,3±25,7 m dan 420,7±23,7 m. Rata-rata tinggi vili pada Kelompok 4 lebih tinggi dari pada Kelompok 3 (p 0,010).	Penelitian Gumus et al menggunakan buah delima sebagai obat untuk mengurangi jumlah translokasi bakteri pada tikus dengan kolestasis.
Oguz dkk <sup>28</sup>  Penelitian ini dilakukan di	Sampel: 24 ekor tikus <i>Sprague Dawley</i> jantan yang sehat dibagi ke dalam lima kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari delapan ekor tikus.	Penelitian eksperimental ,	Pada kelompok yang diberi makan madu dan imunonutrien, kadar ALT menurun secara signifikan	Penelitian Oguz et al berusaha menggunakan madu untuk menambah

Turki tahun 2017	<p>Kelompok 1: hanya menjalani diseksi <i>common bile duct</i> (CBD) dan tidak dilakukan ligasi.</p> <p>Kelompok 2 (C/BDL) : menjalani ligasi ganda dan diberi makan standar.</p> <p>Kelompok 3 (BDL+H) dilakukan BDL, diikuti dengan suplementasi madu secara oral sebagai tambahan diet standar selama percobaan.</p> <p>Kelompok 4 (BDL+I) telah dilakukan BDL, diikuti dengan suplementasi oral immunonutrition di samping diet standar</p> <p>Kelompok 5 (BDL+HI) dilakukan BDL, diikuti dengan suplementasi madu dan immunonutrition oral sebagai tambahan diet standar</p>	<i>post test only controlled group design</i>	<p>dibandingkan dengan kelompok lain. Perbedaan yang signifikan secara statistik terdeteksi dalam hal tingkat translokasi bakteri antara sampel hati dan limpa, dan nilai laboratorium serum, kecuali untuk MLN dari kelompok BDL+HI, bila dibandingkan dengan kelompok lain. Ketebalan mukosa sampel ileum telah meningkat terutama pada kelompok BDL+HI dibandingkan dengan kelompok lain, terutama dibandingkan dengan kelompok C/BDL.</p>	ketebalan mukosa ileum pada tikus kolestasis
	<p>Variabel bebas:</p> <p>Madu (Anavarza bal, Adana, Turkey) 10 g/kg/hari sekali sehari</p> <p>Larutan imunonutrisi (Oral Impact Nestle Nutrition, Istanbul, Turki) 1,5 ml dua kali sehari</p> <p>selama 10 hari post operatif</p>			
	<p>Variabel tergantung: Biokimia : kadar serum AST, ALT</p>			

	Mikrobiologi : CFUs per g jaringan hati, limpa, kelenjar getah bening mesenterika (MLNs), dan ileum terminal Histopatologi segmen ileum			
Gencay dkk <sup>29</sup>	Sampel: 30 ekor tikus Wistar-Albino dibagi menjadi tiga kelompok yang masing-masing terdiri dari 10 ekor: Kelompok I: operasi placebo; kelompok II: BDL; kelompok III : BDL diikuti dengan suplementasi oral madu (BDL + madu) Variabel bebas: Pemberian madu 10 g/kg per hari selama 7 hari post operatif Variabel tergantung: Mikrobiologik : <i>colony-forming units</i> (CFUs) per g jaringan dari sampel darah sistemik, hati, limpa dan kelenjar getah bening mesenterika (MLNs) Biokimia : AST, ALT, Bilirubin total Histopatologi terminal ileum	Penelitian eksperimental ,  <i>post test only controlled group design</i>	Jumlah vili per sentimeter dan tinggi mukosa lebih tinggi pada kelompok palsu berbeda tidak signifikan secara statistik antara kelompok palsu dan BDL + madu ( $P > 0,05$ ). Perbedaan signifikan antara kelompok BDL dan kelompok lain ( $P < 0,05$ ). Perubahan mikroskopis elektron juga berbeda antara kelompok-kelompok ini. Kelompok palsu dan madu memiliki insiden translokasi bakteri yang sama ( $P > 0,05$ ). Kelompok BDL memiliki tingkat translokasi bakteri yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok palsu dan madu. Translokasi bakteri terutama terdeteksi di kelenjar getah bening mesenterika.	Penelitian Gencay et al menggunakan madu untuk mengurangi translokasi bakteri dan ketebalan mukosa serta kepadatan vili ileum, sedangkan penelitian kami menggunakan kombinasi UDCA dan Glutathione

Yang membedakan penelitian yang dilakukan dengan penelitian terdahulu yaitu dalam penelitian yang sedang dijalankan berupaya untuk melakukan percobaan baru terhadap adanya agen baru yang digunakan dalam melakukan perbaikan pada usus tikus yang mengalami kerusakan dengan disebut *Sprague Dawley* yang penyebabnya ligasi duktus koledokus. Dalam sebuah penelitian yang membahas tentang efek diberikannya glutathione pada ekspresi TNF- $\alpha$  ileum tikus *Sprague Dawley* dengan diterapkan pada ligasi duktus koledokus masih jarang digunakan. Dalam sebuah penelitian yang relevan dan dijelaskan pada table tersebut sebagai sebuah penelitian dengan mempunyai sebuah konsep yang sama pada glutathione dengan berupa menjadi antioksidan dalam melakukan penurunan ekspresi TNF- $\alpha$  ileum dan juga dalam penelitiannya efektifitas dari UDCA dilakukan suatu perbandingan dengan obat lainnya. Akan tetapi berdasarkan penjelasan yang disampaikan oleh peneliti, bahwa glutathione tidak bisa menjadi agen intervensi tunggal untuk memperbaiki kadar TNF- $\alpha$  ileum pada tikus yang disebabkan adanya UDCA yang mempunyai sebuah fungsi menjadi obat kolestasis yang tidak bisa diganti. Sehingga dengan permasalahan tersebut yang dilakukan peneliti yaitu dengan menerapkan glutathione yang dapat dikombinasikan menggunakan UDCA dalam penelitian yang dilakukan sebagai maksudnya untuk memperbaiki dengan lebih signifikannya terhadap ekspresi TNF- $\alpha$  tikus dengan sebuah duktus koledokus terhadap diligasi. Pada penelitian yang ada sebelumnya, gambaran histopatologis yang dilihat adalah pada organ hepar dan ginjal, sedangkan peneliti meneliti tinggi vili mukosa ileum terminal sebagai organ yang berkontribusi terhadap terjadinya “*gut derived sepsis*”<sup>7</sup>