

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kolestasis adalah sindroma klinis dan biokimiawi yang timbul akibat gangguan aliran empedu, manifestasi klinisnya adalah ikterus, pruritus, peningkatan *alkaline phosphatase* dan fraksi bilirubin terkonjugasi di dalam serum darah lebih dari 20% dari kadar bilirubin serum total<sup>1, 2</sup> Angka kejadian kolestasis adalah 1 dari setiap 2.500-9.000 bayi lahir. Berdasarkan data pada tahun 2012 di Indonesia (jumlah penduduk sekitar 240 juta dan laju pertumbuhan penduduk 1,49% per tahun), diperkirakan terdapat 1.600-5.800 kasus baru pada setiap 4 juta kelahiran hidup setiap tahun.<sup>2</sup>

Empedu mengandung asam empedu, bilirubin, kolesterol, *trace metal*, dan zat sisa lainnya. Bilirubin merupakan hasil akhir metabolisme hemoglobin yang dapat memberi warna pada jaringan dan cairan. Metabolisme bilirubin terdiri dari tiga tahapan, yaitu fase prehepatik (pembentukan bilirubin dan transpor plasma), fase intrahepatik (*liver uptake* dan konjugasi), dan fase pascahepatik (ekskresi bilirubin).<sup>3</sup>

Sebagian besar bilirubin terbentuk dari pemecahan hemoglobin. Bilirubin indirek (tidak larut air, tak terkonjugasi) berikatan dengan albumin untuk ditranspor ke hepar dan dikonjugasi dengan asam glukuronik membentuk bilirubin diglukuronida (bilirubin direk, larut air). Bilirubin direk bersama

konstituen lain empedu kemudian diekskresi (fase ekskresi bilirubin) dari kanalikuli biliaris hingga ke duodenum.<sup>3</sup> Gangguan aliran empedu menyebabkan retensi bilirubin yang kemudian masuk ke sirkulasi sistemik<sup>3</sup> dan retensi asam empedu menstimulasi apoptosis hepatoseluler serta pelepasan mediator pro-inflamasi di hepar.<sup>4</sup>

Obat pilihan pertama untuk kolestasis adalah *Ursodeoxycholic acid* (UDCA). UDCA adalah contoh asam empedu hidrofilik. Kadar normal UDCA berjumlah 4% dari keseluruhan asam empedu. Terapi dengan UDCA bertujuan memperbanyak jumlah asam empedu hidrofilik nontoksik di hepar. Guna lain dari UDCA adalah sebagai agen koleretik, agen imunomodulator, dan agen sitoprotektif terhadap hepatosit dan sel duktus biliaris<sup>5</sup>.

Sampai saat ini, penggunaan UDCA jangka panjang sudah dijamin oleh FDA pada *Primary Biliary Cirrhosis* (PBC). Sedangkan pada sebab lain belum ada obat yang secara klinis efektif.<sup>6</sup> Terkait PBC, pada sebuah meta-analisis didapatkan bahwa penderita PBC yang mendapat UDCA (611 pasien) dan placebo (601 pasien) insidensi kematian (*odds ratio* 1,21) dan transplantasi hepar (*odds ratio* 1,27) tidak ada perbedaan.<sup>6,7</sup> Penggunaan UDCA dosis tinggi (28-30 mg/ kg/ hari) untuk pengobatan *Primary Sclerosing Cholangitis* (PSC) juga ditemukan menyebabkan lebih banyak pasien menderita varises, meninggal, atau harus menjalani transplantasi dibandingkan dengan kelompok yang menerima placebo<sup>8</sup>. Di sebuah penelitian pada tikus ditemukan pula UDCA mempercepat

proses infark sel duktus biliaris.<sup>9</sup> Fakta-fakta di atas menimbulkan pertanyaan seberapa efektif penggunaan UDCA tunggal untuk pengobatan kolestasis.

Peneliti tertarik untuk menggunakan kombinasi UDCA dan glutathione sebagai modalitas terapi tikus kolestasis. Pada kolestasis, akumulasi asam empedu hidrofobik dan sel radang di hepar meningkatkan produksi radikal bebas (ROS) dan menurunkan produksi glutathione (GSH)<sup>4, 10</sup>. ROS memegang peranan kunci pada apoptosis hepatosit dan pengaktifan sel stelata hepar (fibrosis hepar).

GSH adalah salah satu antioksidan endogen di hepar dan tersedia dalam jumlah banyak. GSH menghancurkan radikal bebas secara langsung maupun tidak langsung dengan menjadi kofaktor enzim *glutathione peroxidase*.<sup>11</sup> Karena tingginya potensi GSH sebagai antioksidan serta adanya penurunan kadar GSH saat kolestasis inilah peneliti memilih penggunaan GSH.

Peneliti tidak menggunakan kelompok pemberian tunggal GSH karena kolestasis mencetuskan berbagai mekanisme patofisiologi dan sulit menemukan substansi tunggal yang menghasilkan efek baik pada kolestasis seperti UDCA.<sup>12</sup> Penelitian ini tidak berusaha mencari pengganti UDCA tapi mencari kombinasi yang memberikan hasil lebih efektif dari pemberian UDCA tunggal.

Penilaian progresivitas kerusakan hepar akibat kolestasis dapat dilakukan melalui berbagai metode. Peneliti memilih menggunakan pengukuran kadar bilirubin direk dan bilirubin total serum karena terjangkau dan kurang invasif. Pada berbagai uji klinis juga dinyatakan bahwa uji bilirubin adalah uji yang

sensitif untuk melihat prognosis dan progresi penyakit PSC. Pasien dengan kadar bilirubin lebih rendah memiliki prognosis 10-tahun-bebas-transplan lebih baik dibandingkan pasien dengan kadar bilirubin lebih tinggi pada studi oleh Gamboa.<sup>13</sup> Diharapkan pemberian UDCA dan GSH menyebabkan penurunan yang lebih signifikan pada kadar bilirubin direk dan bilirubin total serum dibandingkan UDCA tunggal.

## **1.2 Permasalahan Penelitian**

Apakah terdapat perbedaan kadar bilirubin pada tikus Wistar yang dilakukan ligasi duktus koledokus antara kelompok yang diberi kombinasi UDCA-Glutathione dengan kelompok yang dilakukan pemberian UDCA tunggal?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Mengetahui adanya pengaruh pemberian kombinasi UDCA-Glutathione terhadap kadar bilirubin tikus Wistar yang diligasi duktus koledokusnya.

### **1.3.1 Tujuan Khusus**

- 1) Menganalisis perbedaan kadar bilirubin pada tikus Wistar yang dilakukan ligasi duktus koledokus antara kelompok yang diberi kombinasi UDCA-Glutathione dengan kelompok yang tidak diberi obat.

- 2) Menganalisis perbedaan kadar bilirubin pada tikus Wistar yang dilakukan ligasi duktus koledokus antara kelompok yang diberi UDCA tunggal dengan kelompok yang tidak diberi obat.
- 3) Menganalisis perbedaan kadar bilirubin pada tikus Wistar yang dilakukan ligasi duktus koledokus antara kelompok yang diberi kombinasi UDCA-Glutathione dengan kelompok yang dilakukan pemberian UDCA tunggal

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

##### **1.4.1 Bidang Akademik**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan dan memberikan informasi mengenai terapi kombinasi obat untuk kolestasis.

##### **1.4.2 Bidang Pelayanan Masyarakat**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan pertimbangan dalam upaya penyembuhan kolestasis dengan kombinasi obat.

##### **1.4.3 Bidang Pengembangan Penelitian**

Penelitian ini dapat digunakan sebagai penelitian pendahuluan dan data yang didapat dari penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar dari penelitian selanjutnya. Apabila kombinasi UDCA-Glutathione lebih efektif untuk menurunkan kadar bilirubin serum tikus kolestasis, maka penggunaannya dapat

dikembangkan lagi. Penelitian uji coba pra klinik ini dapat dikembangkan menjadi penelitian klinik pada manusia.

### 1.5 Keaslian Penelitian

Berdasarkan hasil penelusuran pustaka pada *database* Pubmed ([www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed)) dan Litbang DEPKES RI penelitian tentang kombinasi UDCA dengan berbagai agen untuk penyembuhan kolestasis telah banyak dilakukan. Namun penelitian dalam penggunaan glutathione sebagai agen penyembuhan kerusakan hepar masih belum banyak dilakukan. Beberapa penelitian yang terkait sebagai berikut:

**Tabel 1.** Keaslian Penelitian

No.	Judul	Metode	Hasil
1.	S-adenosylmethionine versus ursodeoxycholic acid in the treatment of intrahepatic cholestasis of pregnancy: preliminary results of a controlled trial <sup>14</sup>	<i>Randomized controlled trial double blind</i> (Uji Klinis). Sampel: 20 wanita hamil trimester terakhir dengan kriteria inklusi dan kriteria eksklusi Variabel bebas: Pemberian SAME 1000 mg/ hari i.m hingga proses lahir ( $\pm$ 15 hari) Kontrol: Pemberian UDCA 450 mg/ hari hingga proses lahir ( $\pm$ 15 hari)	Setelah administrasi UDCA, terjadi penurunan kadar asam empedu total yang signifikan tetapi tidak ada penurunan signifikan pada kadar AST, ALT, dan ALP. Seluruh pasien ini (10 orang) juga sembuh total dari pruritus. Setelah pemberian SAME tidak ada perubahan signifikan pada derajat pruritus, asam empedu total, atau LFT. Tidak ada efek

<p>Oleh: Floreani dkk</p> <p>Penelitian dilakukan di Italia tahun 1996</p>	<p>Variabel tergantung: Derajat pruritus, kadar AST, ALT, ALP, dan total asam empedu pada serum setelah administrasi obat</p>	<p>samping pada ibu atau bayi setelah administrasi UDCA maupun SAME. UDCA menunjukkan hasil yang lebih efektif dari SAME dalam mengontrol pruritus dan asam empedu total. Namun kedua obat tidak terbukti mengembalikan LFT ke normal.</p>
<p>2. Protective effects of curcumin against oxidative stress parameters and DNA damage in the livers and kidneys of rats with biliary obstruction<sup>4</sup></p> <p>Oleh: Tokaç dkk</p> <p>Penelitian ini dilakukan di Turki tahun 2013</p>	<p>Penelitian eksperimental, <i>post test only controlled group design</i></p> <p>Sampel: 24 ekor tikus Wistar albino (<i>Rattus novagicus</i>) jantan yang sehat dibagi ke dalam 3 grup (kontrol, ligasi duktus koledokus, dan ligasi duktus koledokus serta pemberian curcumin)</p> <p>Variabel bebas: Pemberian curcumin 50 mg/kg intragastric selama 14 hari</p> <p>Variabel tergantung: LFT (D-Bil, AST, ALT, GGT, ALP) sebagai biomarker kerusakan hepatoseluler; kadar MDA, GSH, NO, SOD, CAT, dan GST di</p>	<p>Biomarker untuk kerusakan hepatoseluler menurun pada kelompok ligasi duktus koledokus serta pemberian curcumin dibandingkan dengan kelompok yang hanya diligasi (curcumin mengembalikan fungsi hepar). Kerusakan DNA juga menurun pada kelompok ligasi serta pemberian curcumin. Curcumin menurunkan MDA dan NO secara signifikan serta meningkatkan GSH, katalase, SOD, GST pada hepar dan ginjal tikus. Curcumin juga menurunkan TNF-alfa hepar tikus. Hasil menggambarkan curcumin memiliki efek</p>

	hepar dan ginjal sebagai biomarker stres oksidatif; kerusakan DNA; kadar TNF-alfa di hepar; gambaran histopatologi hepar dan ginjal	protektif pada hepar dan ginjal tikus yang diinduksi kolestasis.	
3.	Anti-inflammatory and anti-oxidative effects of corilagin in a rat model of acute cholestasis <sup>15</sup> Oleh: Jin dkk Penelitian dilakukan di Cina tahun 2013	Penelitian eksperimental, <i>post test only controlled group design</i> Sampel: 90 tikus Sprague-Dawley jantan dibagi dalam 5 grup-corilagin, UDCA, dexamethasone, model, dan <i>blank control</i> . Variabel bebas: Pemberian corilagin Variabel tergantung: LFT, ekspresi NF- $\kappa$ B, kadar NO dan oksidat, keadaan umum tikus, gambaran makroskopis dan mikroskopis hepar	Pemberian corilagin menghasilkan efek yang positif pada keadaan umum tikus, gambaran makroskopis hepar, total bilirubin, bilirubin direk, tetapi tidak berefek pada kadar ALT dan AST. Dengan corilagin juga didapat penurunan MPO, MDA, dan translokasi NF- $\kappa$ B. Kadar SOD dan NO meningkat. Corilagin disimpulkan memiliki efek hepatoprotektif, mampu memblokir jalur NF- $\kappa$ B, antioksidan, dan meningkatkan sirkulasi hepar pada kolestasis.

Penelitian ini berbeda dari sebelumnya karena pada penelitian ini peneliti mencoba agen baru untuk memperbaiki kerusakan hepar tikus Wistar akibat ligasi duktus koledokus. Penelitian mengenai efek pemberian glutathione terhadap kadar bilirubin tikus Wistar yang dilakukan ligasi duktus koledokusnya belum ada. Penelitian yang dicantumkan di atas merupakan penelitian yang memiliki



konsep sama dengan glutathione yaitu sebagai antioksidan untuk membantu perbaikan kadar bilirubin tikus serta penelitian efektivitas UDCA dibandingkan dengan obat lain. Namun menurut peneliti, glutathione tidak dapat dijadikan agen intervensi tunggal dalam perbaikan kadar bilirubin tikus karena fungsi UDCA sebagai obat kolestasis sulit tergantikan. Maka peneliti memasukan glutathione sebagai kombinasi dengan UDCA pada penelitian ini dengan harapan terjadi perbaikan lebih signifikan pada kadar bilirubin tikus yang duktus koledokusnya diligasi.