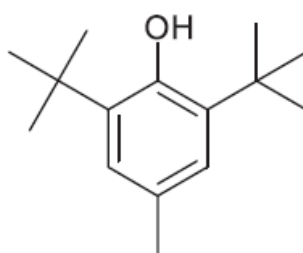


BAB II

TINJAUAN PUSTAKA, KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS

2.1 *Butylated Hydroxytoluene (2,6-Di-Tert-Butyl-4-Methylphenol; BHT)*

2.1.1 Definisi *Butylated Hydroxytoluene (2,6-Di-Tert-Butyl-4-Methylphenol; BHT)*



Gambar 1. Struktur *Butylated hydroxytoluene*^{1,2}

Butylated Hydroxytoluene (2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol) atau yang disingkat dengan BHT adalah antioksidan yang paling umum digunakan diakui sebagai aman untuk digunakan dalam makanan yang mengandung lemak, obat-obatan, produk minyak bumi, karet dan industri minyak. BHT memiliki potensi yang sangat besar sebagai salah satu alternatif antioksidan yang digunakan untuk proses pengolahan bahan pangan. Akan tetapi, penggunaan BHT yang berlebihan akan menyebabkan keracunan pada dosis tertentu.^{2,3}

Antioksidan fenolik BHT (CAS 128-37-0; NCI C03598) telah dipatenkan pada tahun 1947. Sejauh ini, ada lebih dari belasan ribu publikasi tentang BHT dan penggunaannya. Ini telah didokumentasikan dalam ribuan jurnal, ulasan umum dan konferensi terutama membahas tentang peran BHT sebagai substrat utama dalam makanan dan bahan kimia, farmasi dan farmakologi. BHT secara luas digunakan dalam pembuatan plastik dan industri pengolahan, fermentasi dan industri biokimia. Selain itu, BHT dapat

digunakan sebagai aditif dalam minyak esensial dan kosmetik. BHT telah disetujui untuk digunakan dalam makanan dan kemasan makanan dalam konsentrasi rendah oleh FDA AS sejak tahun 1954. BHT diakui sebagai aman untuk digunakan dalam makanan dan merupakan salah satu antioksidan yang paling umum digunakan dalam makanan yang mengandung lemak, produk minyak bumi dan karet. Sifat biokimia dari BHT menyebabkan BHT digunakan secara luas sebagai pengawet makanan.^{1,2,12}

Stabilitas BHT (agidol) dipengaruhi oleh paparan cahaya, kelembapan, dan panas yang dapat menyebabkan perubahan warna.¹³

2.1.2 Fungsi dan Tujuan BHT

Komposisi antioksidan fenolik seperti BHT dan BHA, telah digunakan bertahun-tahun sebagai antioksidan untuk menjaga dan mempertahankan kesegaran, nilai gizi, rasa, dan warna produk makanan.^{6,14,15}

Aktivitas BHT sebagai antioksidan juga banyak didukung oleh berbagai penelitian terbaru, disebutkan penambahan BHT sebesar 0,08 (b/v) dapat menghambat terjadinya ketengikan minyak.^{6,15} Penggunaan bersama α -tokoferol dan BHT sebagai antioksidan pada gelatin ikan, masing-masing dengan konsentrasi 200 ppm. Penelitian lain juga menyebutkan bahwa pemberian BHT sangat berpengaruh nyata pada penyimpanan bungkil kelapa.⁶

Penelitian lain juga menyebutkan bahwa penggunaan BHT dapat meningkatkan stabilitas minyak makan. Selain itu, aktivitas antioksidan sintetik seperti BHT juga dapat diambil dari bahan alami seperti buah pome dengan aktivitas antioksidan yang mirip.⁶ BHT juga bermanfaat untuk melindungi ayam dari virus dan kelinci dari arteriosklerosis, menghambat tumor kulit pada tikus, dan menurunkan level kolesterol di plasma dan hepar monyet.⁷

2.1.3 Dosis Penggunaan BHT

BHT digunakan sebagai bahan tambahan makanan. Jumlah mg BHT yang dapat digunakan tiap hari per kg bobot badan (*acceptable daily intake*, ADI) adalah 0-0,3 mg/kg berat badan.⁴ Berdasarkan BPOM, terdapat beberapa ketentuan untuk keamanan penggunaan BHT sebagai bahan tambahan makanan. Dosis lain dalam kategori pangan adalah:^{4,6,14}

No	Kategori Pangan	Batas Maksimum (mg/kg) dalam makanan
1	Lemak susu anhidrat (amf), minyak mentega anhidrat, dan minyak mentega, <i>ghee</i>	75
2	Lemak dan minyak nabati	100
3	Lemak babi, lemak sapi, lemak domba, minyak ikan dan lemak hewani lainnya	200
4	Margarin dan produk sejenis	75
5	Campuran margarin dan mentega	200
6	Emulsi yang mengandung lemak kurang dari 80%	100 mg/kg lemak
7	Emulsi lemak tipe emulsi minyak dalam air, termasuk produk campuran emulsi lemak dengan atau berperisa	200
8	Makanan pencuci mulut berbasis lemak tidak termasuk makanan pencuci mulut berbasis susu	200
9	Sayur, rumput laut, kacang, dan biji-bijian Kering	200
10	Pure dan produk oles sayur, kacang dan biji-bijian (misalnya selai kacang)	200
11	Produk kakao dan cokelat	200
12	Produk cokelat analog/pengganti cokelat	200
13	Kembang gula karet/permen karet	200
14.	Serelia untuk sarapan, termasuk <i>rolled oats</i>	100
15	Pasta dan mi pra masak	200

16	Ikan dan produk perikanan termasuk moluska, krustasea dan ekinodermata yang diasap, dikeringkan, difermentasi dengan atau tanpa garam	100
17	Ikan dan produk perikanan termasuk moluska, krustasea dan ekinodermata yang semi awet	100
18	Saus teremulsi (misalnya mayonais, <i>salad Dressing</i>)	100
19	Saus non-emulsi (misalnya saus tomat, saus keju, saus krim, gravi coklat)	100
20	Saus kedelai lainnya	100
21	Makanan ringan-berbahan dasar kentang, umbi, serelia, tepung, atau pati (dari umbi dan kacang)	100 mg/kg lemak

Tabel 2. Dosis penggunaan BHT

BHT dan BHA adalah antioksidan kimia yang paling sering digunakan. Antara 2011 dan 2012, *European food safety authority* (EFSA) mengevaluasi ulang informasi dari kedua antioksidan ini, termasuk data kontraindikasi yang telah dipublikasikan. EFSA merevisi ADI dari BHT menjadi 0,25 mg/kg BB/hari untuk BHT dan dicatat bahwa paparan BHT untuk dewasa dan anak-anak tidak boleh melewati batas tersebut.¹⁵

2.1.4 Sintesis BHT dalam Tubuh Manusia

2.1.4.1 Farmakodinamik BHT

Salah satu alasan utama deteriorasi makanan selama proses atau penyimpanan makanan adalah oksidasi lipid, yang berubah melalui langkah-langkah berbeda dan menyebabkan formasi komposisi yang reaktif. Perlu diketahui bahwa proses degradasi ini terjadi tidak hanya pada lipid makanan, tetapi juga pada keberadaannya dalam sel dan sistem biologi. Antioksidan pada BHT didasarkan pada konfigurasi molekul, karena seperti antioksidan sintetik fenolik lainnya, BHT memiliki atom hidrogen labil dalam grup hidroksi

yang dapat didonasikan dan mengurangi radikal bebas yang ada saat dimulainya oksidasi lipid. Maka, BHT itu sendiri akan teroksidasi dan subsequent derivat radikal terstabilisasi oleh delokasi elektron dalam cincin benzen. Dengan demikian, BHT dapat memberhentikan proses ROS (*Reactive Oxygen Spesies*), karena memperlambat oksidasi lipid dan meningkatkan umur cadangan makanan. BHT telah dilaporkan memiliki reaksi yang melawan ROS seperti *singlet oxygen*, radikal hidroksil, dan radikal peroksi bergantung dari ROS yang terlibat dan lingkungan sekitarnya.⁷

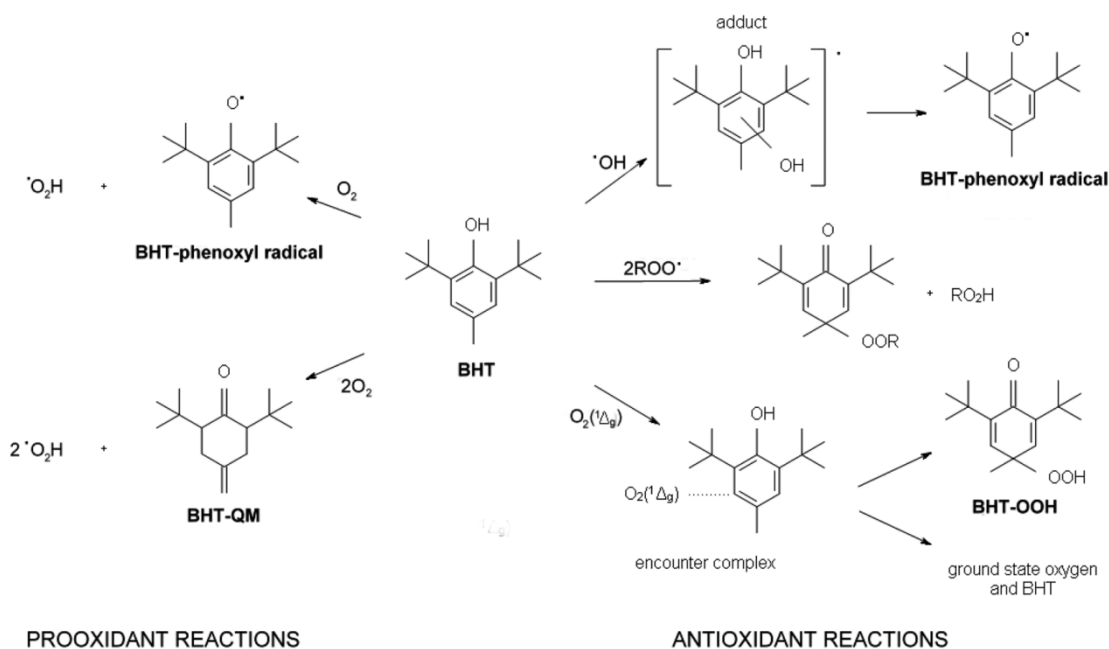
Aktivitas antioksidan dari molekul ini terjadi pada saat temperatur tinggi, seperti kondisi memanaskan, dapat menjadi berbeda antara yang berkembang pada suhu rendah atau sedang, selama penyimpanan. Beberapa penulis menunjukkan kehilangan secara cepat BHT pada suhu 140°C dan menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih rendah. Hal ini juga menyebabkan terbentuknya metabolit pada suhu 70°C dan aktivitas antioksidan yang lebih rendah pada BHT-OOH, BHT-CHO, dan BHT-Q dibandingkan dengan BHT.⁷

Namun, BHT juga dilaporkan dapat menjadi efek toksik dari prooksidannya dalam keadaan tertentu. Misalnya, pada saat BHT ditambahkan lebih untuk media bibit gandum dalam kondisi aerobik, perangkat tambahan pada anion superoxide terobservasi. Reaktif partikel ini dapat menyebabkan kerusakan struktur seluler pada konsentrasi yang tinggi. Peningkatan peroksidase lemak terobservasi pada tikus dengan diet dan diberi 0,2% BHT selama 30 hari. Karena BHT dapat menyebabkan aktivitas prooksidan dalam dosis yang tinggi, BHT telah digunakan untuk menginduksi penelitian eksperimen mengenai stres oksidatif pada hewan dan jamur yang diproteksi dengan bahan lain.⁷ Penggunaan BHT dengan LD50, dapat memberikan efek hepatotoksisitas yang disebabkan oleh BHT pada tikus dievaluasi menggunakan peningkatan serum SGOT, SGPT, dan level GGT serta penurunan level serum total protein. Aktivitas enzim serum SGOT, SGPT tampak meningkat pada saat

administrasi BHT.¹¹ Penggunaan LD100 tidak digunakan disebabkan kekurangan data dari penelitian sebelumnya mengenai dosis LD100.

2.1.4.2 Farmakokinetik BHT

Absorpsi yang cepat dari komposisi BHT pada traktus gastrointestinal dan dilanjutkan dengan distribusi ke hepar dan lemak tubuh telah diobservasi pada penelitian sebelumnya. Beberapa studi menunjukkan tingkat distribusi BHT berbeda disetiap organ setelah ingesti. Distribusi komposisi ini di lambung, intestinum, vesika urinaria, kantung empedu, hepar, ginjal, pankreas dan kelenjar saliva telah dibuktikan pada tikus setelah ingesti 20 mg/kgBB. Konsentrasi paling tinggi ditemukan di hepar, ginjal, dan darah setelah 3 jam pemberian. Sedangkan pada manusia dengan dosis tunggal oral 0,5 mg/kgBB menyebabkan peningkatan level di plasma hingga 75 menit setelah penggunaan.⁷

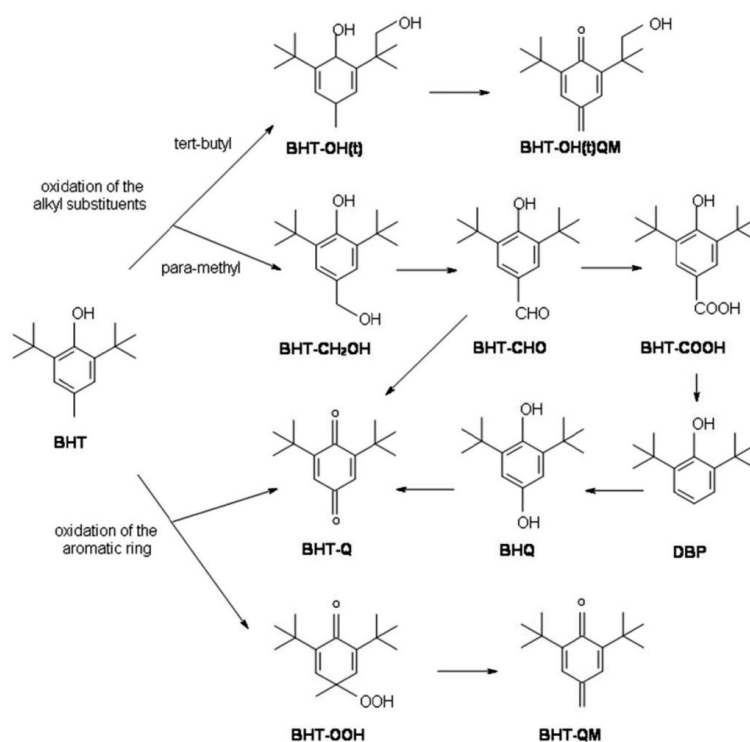


Gambar 2. Algoritma reaksi aktivitas antioksidan dan prooksidan BHT⁷

Studi mengenai metabolisme BHT telah menunjukkan bahwa BHT merupakan bahan untuk induksi sistem monooksigenase mikrosomal dan rute mayor degradasinya yang

dikatalisis oksidasi oleh sitokrom p450. Metabolisme memiliki dua tempat dari jalur utama: oksidasi substansi alkyl dan dari cincin benzene (lihat gambar 3).⁷

Eksresi BHT pada manusia kebanyakan terjadi di ginjal. Ketika dosis tunggal oral 20mg/kgBB BHT diberikan pada tikus, kurang lebih 98% BHT dieksresikan setelah 7 hari. Dengan dosis yang sama pada 10 hari berturut-turut, waktu paruhnya di hepar, ginjal, paru-paru, testis, dan darah adalah 5-15 hari. Pada manusia, 50% BHT dieksresikan selama 24 jam pertama setelah dosis tunggal oral 40mg/kgBB. Sisanya dieksresikan secara perlahan selama 10 hari kemudian, yang menyebabkan perkiraan adanya perbedaan retensi jaringan pada manusia dan tikus. Metabolit yang tampak pada urine manusia adalah BHT-COOH dan glukuronid ester. Setelah memberi makan tikus dengan BHT dengan lebih dari 43 metabolit yang diidentifikasi di urin dan feses, yang terutama juga adalah BHT-COOH dan ester glukuronide. Dengan angka akumulasi pada manusia, BHT mencapai konsentrasi pada jaringan lemak manusia lebih tinggi dibandingkan pada tikus. Telah diestimasi bahwa biokonsentrasi BHT pada sel adiposa manusia sekitar 45 kali lebih banyak dari tikus.⁷



Gambar 3. Degradasi BHT⁷

2.1.5 Toksikologi BHT

Penelitian mengenai efek toksik BHT pada manusia dan binatang sudah sering dilakukan. BHT dosis tinggi (40 dan 80 gram tanpa resep medis) yang diingesti secara oral telah dilaporkan dapat menyebabkan akut neurotoksitas dan gastritis. Penelitian jangka pendek melaporkan BHT dapat meningkatkan insidensi nekrosis toksik, nefrotoksisitas dan pneumotoksisitas, dan juga menyebabkan toksisitas hepar dan ginjal, juga menyebabkan pembesaran difusi hepar dengan batas bulat dan ruptur dengan perdarahan. Pada penelitian lain, setelah 10 bulan pemberian tikus dengan diet yang mengandung BHT, terdapat peningkatan insidensi tumor liver pada laki-laki. Studi juga dilakukan pada tikus mengenai kejadian adenoma hepatoselular dan karsinoma terkait dengan dosis BHT, dan mendapatkan hasil yang signifikan.^{5,7}

Sebuah penelitian mengenai hepatotoksisitas yang disebabkan oleh BHT pada tikus dievaluasi menggunakan peningkatan serum SGOT, SGPT, dan level GGT serta penurunan level serum total protein. Aktivitas enzim serum SGOT, SGPT tampak meningkat pada saat administrasi BHT. Pada hari ke 14, tampak peningkatan 7 kali pada ALT. Sedangkan AST menunjukkan peningkatan 10 kali dibandingkan dengan grup kontrol. ALT ditemukan pada sitoplasma hepatosit dan juga terlihat pada mitokondria di hepar. Hal ini menunjukkan bahwa jika terjadi cedera pada sel hepar, maka akan terjadi peningkatan serum ALT. Aktivitas ALT juga dijadikan pedoman jika terjadi cedera miosit.¹⁶

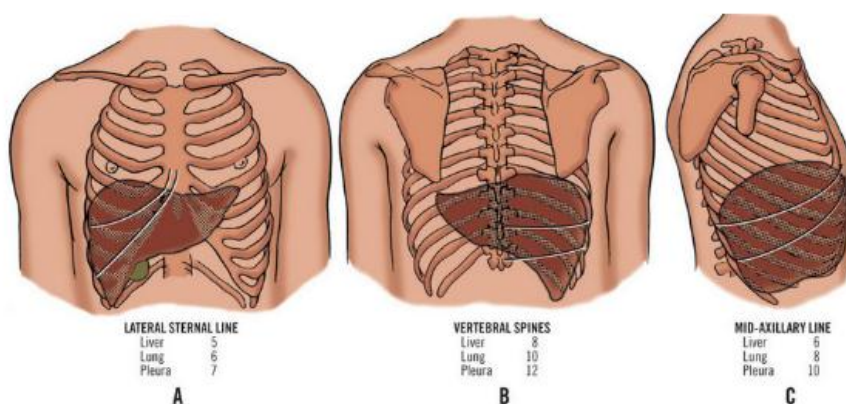
2.2 Hepar



Gambar 4. Lokasi Hepar di Tubuh Manusia.

Sumber : *Liver Location*. 2014. Diakses dari www.healthfixit.com/liverlocation pada 22/2/2017.

Hepar atau yang disebut *liver* merupakan organ terbesar yang terletak di sebelah kanan atas rongga abdomen. Warna normal liver adalah coklat dan permukaannya lembut. Hepar memiliki berat kurang lebih 2% dari berat orang dewasa, 1.400-1.800 gram pada laki-laki. Lokasi hepar dapat dinilai berdasarkan tiga garis khayal berikut.¹⁷

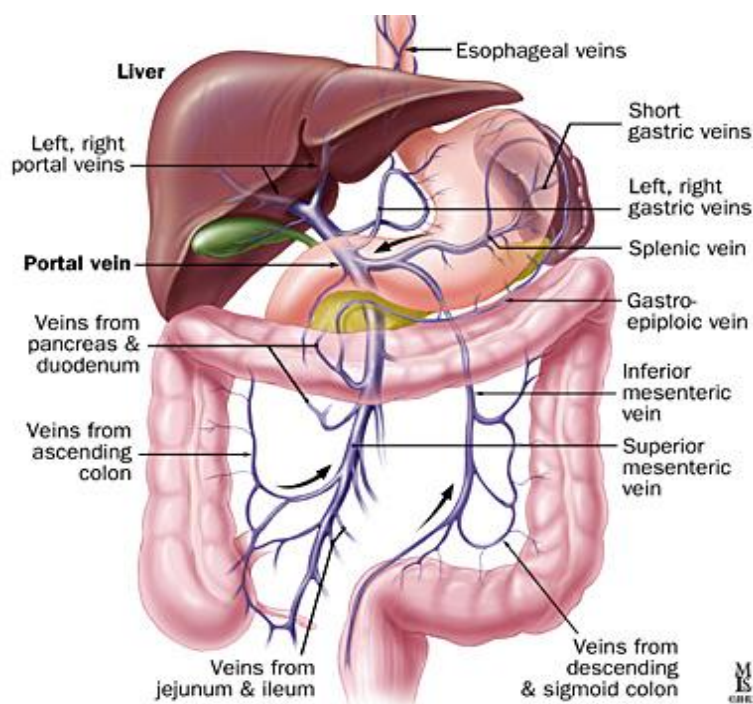


Gambar 5. Anatomi hepar berdasarkan garis khayal.

Sumber : *Liver Location*. 2014. Diakses dari www.healthfixit.com/liverlocation pada 22/2/2017.

Hepar mendapatkan suplai darahnya dari dua sumber 70% dari vena portal, sisanya dari darah yang dioksigenasi, diantarkan oleh arteri hepatik. Vena porta tidak mengandung oksigen (dari usus, limpa, pankreas, lambung & esofagus):¹⁷¹⁸

- Tekanan > tinggi untuk mengatasi tekanan sinusoid hati
- Oksigen > tinggi aliran darah relatif > banyak
- Mengandung > banyak zat makanan
- Mengandung sisa-sisa bakteri dari saluran pencernaan



Gambar 6. Vaskularisasi Hepar

Sumber: *Alcoholic Liver Disease. 2017. Diakses dari www.jhmicall.org pada 22/2/2017.*

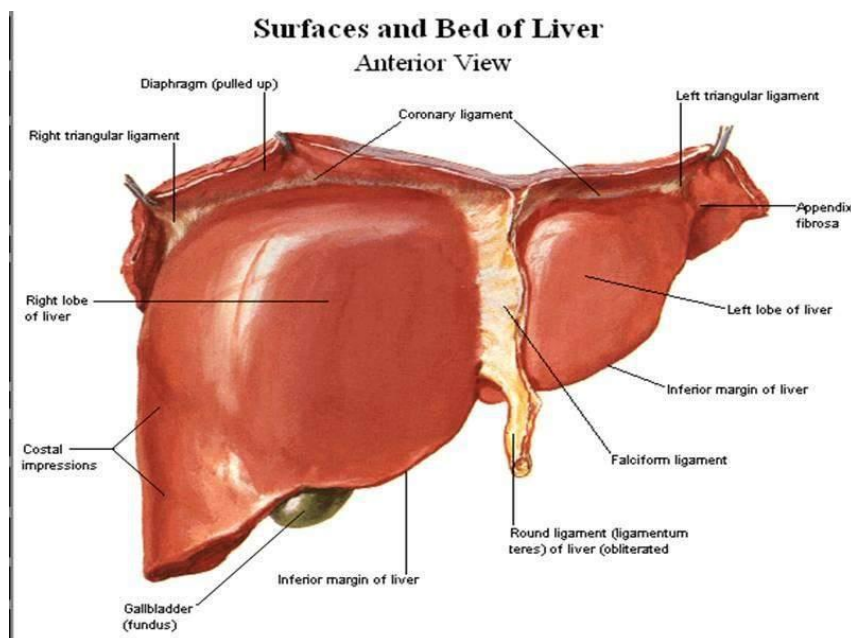
Sedangkan arteri hepatica membawa oksigen dari jantung. Hepar menerima volume darah yang banyak, yaitu 1,5 liter per menit. Suplai darah dari vena porta dan arteri hepatica ini menyebabkan hepar resisten terhadap hipoksemia. Sistem vaskular hepatic tidak terlalu dipengaruhi oleh vasodilatasi dan vasokonstriksi. Hal ini disebabkan karena faktanya bahwa

tekanan sinusoidal tetap konstan meskipun terjadi perubahan aliran darah. Aliran darah lebih dipengaruhi hormon dibandingkan neural karena tampak pada pasien dengan transplantasi hepar. Hepar menempati ruang inferior dari dekstra hingga sinistra dari diafragma dan ditutupi oleh membran fibrosa yang dikenal sebagai kapsul Glisson.^{17,19}

Sebagian besar hepar terletak di profunda arkus kostalis dextra dan hemidiaphragma dextra memisahkan hepar dari pleura, pulmo, perikardium, dan kor. Hepar terbentang ke sebelah kiri untuk mencapai hemidiaphragma sinistra. Batas atas hepar sejajar dengan ruang interkosta V kanan dan batas bawah menyerong ke atas dari iga IX kanan ke iga VIII kiri. Permukaan posterior hepar berbentuk cekung dan terdapat celah transversal sepanjang 5 cm dari sistem porta hepatis.²⁰

2.2.1 Anatomi hepar

Hepar terbagi menjadi lobus kiri dan lobus kanan yang dipisahkan oleh ligamentum falciforme, inferior oleh fissura yang dinamakan dengan ligamentum teres dan diposterior oleh fissura yang dinamakan ligamentum venosum. Lobus kanan hepar enam kali lebih besar dari lobus kiri dan mempunyai 3 bagian utama yaitu : lobus kanan atas, lobus caudatus dan lobus quadrates. Menurut Sloane, diantara kedua lobus terdapat porta hepatis, jalur masuk dan keluar pembuluh darah, saraf dan duktus. Hepar dikelilingi oleh kapsula fibrosa yang dinamakan kapsul glisson dan dibungkus peritoneum pada sebagian besar keseluruhan permukaannya.¹⁹



Gambar 7. Anatomi hepar

Sumber : Reynolds JC. *The Netter Collection of Medical Illustrations: Digestive System: Part I-The Upper Digestive Tract*. Elsevier Health Sciences; 2016 Mar 24.

Hepar tersusun atas lobuli hepatis. Vena centralis pada masing-masing lobulus bermuara ke vena hepatica. Dalam ruangan antara lobulus-lobulus terdapat kanalis hepatis yang berisi cabang-cabang arteria hepatica, vena portae hepatis, dan sebuah cabang *ductus choledochus* (trias 12 hepatis). Darah arteria dan vena berjalan di antara sel-sel hepar melalui sinusoid dan dialirkan ke vena centralis.¹⁹

Perdarahan hepar berasal dari 2 sumber yaitu : vena porta hepatica yang berasal dari lambung dan usus yang kaya akan nutrisi seperti asam amino, monosakarida, vitamin yang larut dalam air dan mineral dan arteri hepatica, cabang dari arteri koliaka yang kaya akan oksigen. Pembuluh darah tersebut masuk hati melalui porta hepatis yang kemudian dalam porta tersebut vena porta dan arteri hepatica bercabang menjadi dua yakni ke lobus kiri dan ke lobus kanan. Darah dari cabang-cabang arteri hepatica dan vena porta mengalir dari perifer lobulus ke dalam ruang kapiler yang melebar yang disebut sinusoid. Sinusoid ini terdapat diantara barisan sel-sel hepar ke vena sentral. Vena sentral dari semua lobulus hati

menyatu untuk membentuk vena hepatica. Selain cabang-cabang vena porta dan arteri hepatica yang mengelilingi bagian perifer lobulus hati, juga terdapat saluran empedu yang membentuk kapiler empedu yang dinamakan kanalikuli empedu yang berjalan diantara lembaran sel hati. Plexus (saraf) hepaticus mengandung serabut dari ganglia simpatis T7-T10, yang bersinaps dalam plexuscoeliacus, nervus vagus dexter dan sinister serta phrenicus dexter.^{19,20}

2.2.2 Fisiologi Hepar

Selain merupakan organ parenkim yang paling besar, hati juga menduduki urutan pertama dalam hal jumlah, kerumitan, dan ragam fungsi. Hati sangat penting untuk mempertahankan hidup dan berperan dalam hampir setiap fungsi metabolik tubuh, terutama bertanggung jawab atas lebih dari 500 aktivitas berbeda. Untunglah, hati memiliki kapasitas cadangan yang besar, dan hanya membutuhkan 10-20% jaringan yang berfungsi untuk tetap bertahan. Destruksi total atau pengangkatan hati menyebabkan kematian dalam waktu kurang dari 10 jam. Hati mempunyai kemampuan regenerasi yang sangat hebat. Pada kebanyakan kasus, pengangkatan sebagian hati akan merangsang tumbuhnya hepatosit untuk mengganti se yang sudah mati atau sakit. Proses regenerasi sel hati memakan waktu 4 hingga 5 minggu. Pada beberapa individu, massa hati normal akan pulih dalam waktu 6 bulan. Fenomena ini penting dalam transplantasi segmen hati.²¹

Fungsi utama hati adalah membentuk dan mengekskresi empedu. Saluran empedu mengangkut empedu sedangkan kandung empedu menyimpan dan mengeluarkan empedu ke dalam usus halus sesuai kebutuhan. Hati mensekresi sekitar 500-1000 ml empedu kuning setiap hari. Unsur utama empedu adalah air (97%), elektrolit, garam empedu, fosfolipid (terutama lesitin), kolesterol, garam anorganik, dan pigmen empedu (terutama bilirubin terkonjugasi). Garam empedu penting untuk pencernaan dan absorpsi lemak dalam usus

halus. Setelah diolah oleh bakteri dalam usus halus, sebagian besar garam empedu akan direabsorpsi di ileum, mengalami resirkulasi ke hati, serta kembali dikonjugasi dan disekresi. Bilirubin adalah hasil akhir metabolisme dan secara fisiologis tidak penting, namun merupakan petunjuk adanya penyakit hati dan saluran empedu yang penting karena bilirubin cenderung mewarnai jaringan dan cairan yang kontak dengannya.²¹

Hati berperan penting dalam metabolisme tiga makronutrien yang dihantarkan oleh vena porta pasca-absorpsi di usus. Bahan makanan tersebut adalah karbohidrat, protein, dan lemak. Monosakarida dari usus halus diubah menjadi glikogen dan disimpan dalam hati (glikogenesis). Dari depot glikogen ini, glukosa dilepaskan secara konstan ke dalam darah (glikogenolisis) untuk memenuhi kebutuhan tubuh. Sebagian glukosa dimetabolisme dalam jaringan untuk menghasilkan panas dan energi, sisanya diubah menjadi glikogen dan disimpan dalam jaringan subkutan. Hati juga mampu mensintesis glukosa dari protein dan lemak (glukoneogenesis). Peranan hati dalam metabolisme protein sangat penting untuk kelangsungan hidup. Semua protein plasma (kecuali gamaglobulin) disintesis oleh hati. Protein tersebut antara lain albumin (diperlukan untuk mempertahankan tekanan osmotik koloid), protrombin, fibrinogen, dan faktor-faktor pembekuan darah lainnya. Selain itu, sebagian besar degradasi asam amino dimulai dalam hati melalui proses deaminasi atau pembuangan gugus amino (NH_2). Amonia (NH_3) yang dilepaskan kemudian disintesis menjadi urea dan diekskresi oleh ginjal dan usus. Amonia juga diubah menjadi urea di dalam hati.²¹

Fungsi	Keterangan
Pembentukan dan eksresi empedu	
Metabolisme garam empedu	Garam empedu penting untuk pencernaan dan absorpsi lemak serta vitamin larut lemak di dalam usus.
Metabolisme pigmen empedu	Bilirubin merupakan hasil akhir metabolisme pemecahan eritrosit yang sudah tua; proses konjugasi berlangsung dalam hati dan diekskresi ke dalam empedu.

Metabolisme karbohidrat Glikogenesis Glikogenolisis Glukoneogenesis	Hati berperan penting dalam mempertahankan kadar glukosa darah normal dan menyediakan energi untuk tubuh. Karbohidrat disimpan dalam hati sebagai glikogen
Metabolisme protein Sintesis protein Pembentukan urea Penyimpanan protein (asam amino)	Protein serum yang disintesis oleh hati adalah albumin serta globulin alfa dan beta. Faktor pembekuan darah yang disintesis oleh hati adalah fibrinogen (I), protrombin (II), dan faktor V, VII, IX, dan X. Urea dibentuk semata-mata dalam hati dari amoniak (NH ₃) yang kemudian diekskresi dalam urine dan feses; NH ₃ dibentuk dari deaminasi asam amino dan kerja bakteri usus terhadap asam amino.
Metabolisme lemak Ketogenesis Sintesis kolesterol Penimbunan lemak	Hidrolisis trigliserida, kolesterol, fosfolipid, dan lipoprotein menjadi asam lemak dan gliserol. Hati memegang peranan utama dalam sintesis kolesterol, sebagian besar diekskresi dalam empedu sebagai kolesterol atau asam kolat.
Penimbunan vitamin dan mineral	Vitamin larut lemak (A, D, E, K) disimpan dalam hati; juga vitamin B ₁₂ , tembaga, dan besi.
Metabolisme steroid	Hati menginaktifkan dan menyekresi aldosteron, glukokortikoid, estrogen, progesteron, dan testosteron.
Detoksifikasi	Hati bertanggung jawab atas biotransformasi zat-zat berbahaya menjadi zat yang tidak berbahaya yang kemudian diekskresi oleh ginjal.
Gudang darah dan filtrasi	Sinusoid hati merupakan depot darah yang mengalir kembali dari vena kava (gagal jantung kanan); kerja fagositik sel Kupffer membuang bakteri dan debris dari darah.

Tabel 3. Fungsi Utama Hati.²¹

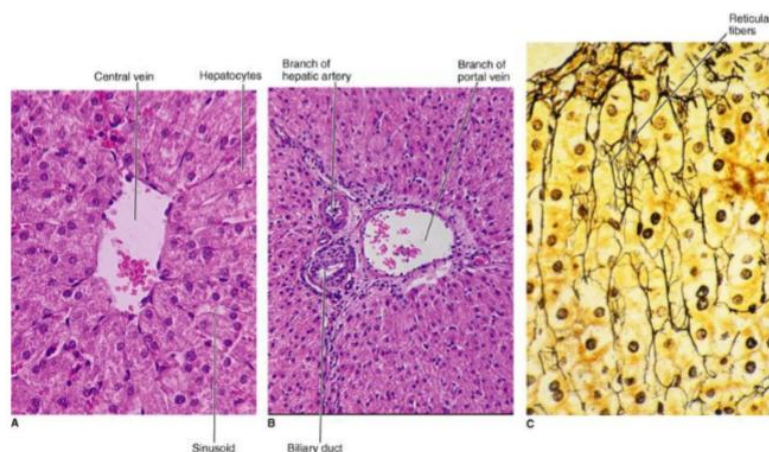
2.2.3 Histologi hepar

Hepar memiliki sangat sedikit jaringan ikat untuk organ yang demikian besar. Terdapat selapis jaringan ikat fibrosa yang menutupinya setebal 70-100µm yang disebut kapsula Glisson. Jaringan paling tebal terletak pada porta hepatis dan jaringan ikat berlanjut ke dalam ruang interlobularis sambil menunjang sistem vaskular, saluran empedu dan pembuluh limfe, membagi hati dalam lobus dan lobulus. Jaringan ikat interlobularis sulit

dilihat (sedikit dan tipis), kecuali pada babi memang memiliki jaringan ikat interlobularis yang tebal dan jelas. Kelompok dari arteri, vena, pembuluh limfe dan saraf, berikutan dengan jaringan ikat penunjangnya, disebut triad portal (*portal canal, portal area*).²²

Gambaran histologi hepar pada pembesaran kecil terlihat susunan massa epitelial, sel-sel parenkim (hepatosit) yang terdiri atas lempeng-lempeng yang bergabung membentuk gambaran tiga dimensi. Sinusoid darah mengisi ruang antara lempeng-lempeng tersebut. Ruang sinusoid yang terdapat antara lempeng hepar dibatasi oleh sel retikulum endotelial. Secara garis besar, dalam lobulus hepar terdapat sel parenkim hepar, sel yang membentuk dinding sinusoid hepar, dan sel darah terdapat dalam lumen sinusoid.²³

Sel-sel yang terdapat di hati antara lain: hepatosit, sel endotel, dan sel makrofag yang disebut sebagai sel kuppfer, dan stellate sel (hepatic liposit). Sel Kupffer berfungsi untuk memfagosit eritrosit tua, memakan hemoglobin dan mensekresi protein yang berkaitan dengan proses imunologik (sitokin).²⁴



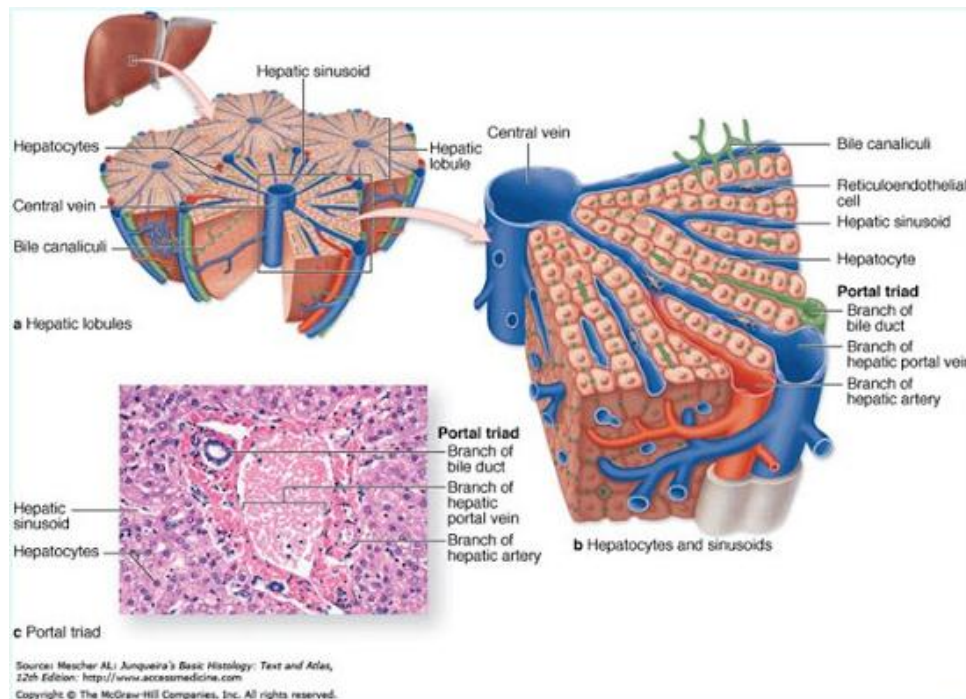
Gambar 8. Histologi hepar

Sumber : Reynolds JC. *The Netter Collection of Medical Illustrations: Digestive System: Part I-The Upper Digestive Tract*. Elsevier Health Sciences; 2016 Mar 24.

Aliran darah di hati dibagi dalam unit struktural yang disebut asinus hepatic. Asinus hepatic berbentuk seperti buah berry, terletak di traktus portal. Asinus ini terletak di antara 2 atau lebih vena hepatic terminal, dimana darah mengalir dari traktus portalis ke sinusoid, lalu ke vena tersebut. Asinus ini terbagi menjadi 3 zona, dengan zona 1 terletak paling dekat dengan traktus portal sehingga paling banyak menerima darah kaya oksigen, sedangkan zona 3 terletak paling jauh dan hanya menerima sedikit oksigen. Zona 2 atau zona intermediet berada diantara zona 1 dan 3. Zona 3 ini paling mudah terkena jejas iskemik.²⁴

Sel hepatosit berderet secara radier dalam lobulus hati dan membentuk lapisan sebesar 1-2 sel serupa dengan susunan bata. Hepatosit merupakan sel berbentuk polihedral dengan batas yang jelas, inti bulat di tengah. Dapat ditemukan sel yang mengalami mitosis dengan inti besar atau inti 2. Lempeng sel ini mengarah dari tepian lobulus ke pusatnya dan beranastomosis secara bebas membentuk struktur seperti labirin dan busa. Didalam sitoplasma terdapat lisosom, peroksi som (mikrobodies), butir-butir glikogen serta tetes lemak.²⁴

Celah diantara 14 lempeng-lempeng ini mengandung kapiler yang disebut sinusoid.²⁵



Gambar 9. Sinusoid Hepar

Sinusoid hepar adalah saluran yang berkelu–liku dan melebar, diameternya tidak teratur, dilapisi sel endotel bertingkat yang tidak utuh. Sinusoid dibatasi oleh 3 macam sel, yaitu sel endotel (mayoritas) dengan inti pipih gelap, sel kupffer yang fagositik dengan inti ovoid, dan sel stelat atau liposit hepatic yang berfungsi untuk menyimpan vitamin A dan memproduksi matriks ekstraseluler serta kolagen. Aliran darah di sinusoid berasal dari cabang terminal vena portal dan arteri hepatic, membawa darah kaya nutrisi dari saluran pencernaan dan juga kaya oksigen dari jantung. Sel stellata terdapat pada celah Disse (perisinusoid) atau disebut juga sel penimbun lemak (liposit). Sel ini mampu menyimpan vitamin A yang diberikan dari luar dalam tetesan-tetesan lemak. Sel ini diduga mampu berdeferensiasi menjadi fibroblas yang ada dalam lobulus.²⁵

Lobulus klasik berbentuk prisma poligonal dengan ukuran lebih kurang 1 sampai 2 mm, dan pada potongan melintang terlihat berbentuk heksagonal. Pada gambaran heksagonal terlihat vena sentralis berada di tengah dan kanal portal di tepian pada sudut-sudutnya. Satuan

fungsi hepar disebut juga lobulus portal. Lobulus portal mempunyai kanal portal sebagai pusatnya yang terdiri dari jaringan yang menyalurkan empedu ke dalam duktus biliaris di daerah portal tersebut. Lobulus portal terdiri atas bagian-bagian dari 3 lobulus klasik yang berdekatan yang melepaskan sekret ke dalam duktus biliaris interlobularis sebagai pusatnya.²⁵

Hepatosit berbatasan triad yang membuat piring membatasi. Tali yang ada umumnya setebal dua sel, tapi bercabang, dengan kanalikulus empedu kecil berjalan di antara mereka untuk bergabung menjadi saluran empedu. Diantara tali, terdapat sinusoid yang disuplai darah portal dengan drainase ke vena sentral lobulus. Sinusoid dilapisi oleh sel endotel. Ada juga tersebar sel Kupffer di sinusoid; sel-sel ini merupakan bagian dari sistem mononuklear fagosit terdiri dari makrofag tetap.^{26,27}

Sel hepatosit merupakan sel yang kompleks, sel yang aktif secara metabolik dengan berbagai fungsi: metabolisme lipoprotein, glukoneogenesis, glikogenolisis, detoksifikasi limbah, ekskresi empedu, dll. Hepatosit menyimpan glikogen berlimpah.²⁷

2.2.4 Patologi Hepar

2.2.4.1 Degenerasi

Degenerasi hepar dibagi menjadi dua macam degenerasi, yaitu degenerasi parenkimatososa dan degenerasi hidropik. Degenerasi parenkimatososa adalah degenerasi yang paling ringan derajatnya, bersifat reversibel. Degenerasi ini memiliki nama lain degenerasi keruh, degenerasi albuminosa dan *cloudly swelling*. Memiliki tanda yaitu pembengkakan dan kekeruhan sitoplasma yang bergranula dan nampak tidak homogen akibat protein yang mengendap. Hal ini disebabkan oksidasi sel yang terganggu sehingga proses eliminasi air

juga terganggu, terjadi pemasukan dan penimbunan air di dalam sel sehingga sel membengkak. Organela-organela sel juga turut menyerap air dan membengkak, sehingga mengakibatkan sitoplasma nampak bergranula. Kerusakan hanya terjadi pada sebagian kecil struktur sel. Kerusakan ini menyebabkan oksidasi sel terganggu, sehingga proses eliminasi air pun juga terganggu. Sehingga terjadi penimbunan air dalam sel.^{24,27}

Degenerasi hidropik merupakan tingkat kerusakan struktur yang kedua, yaitu degenerasi yang terjadi pada hepar dengan ciri-ciri sel hepar membengkak sampai dua kali normal. Bersifat reversibel dan sering disebut juga *ballooning degeneration*. Derajat keparahannya lebih tinggi bila dibandingkan dengan degenerasi parenkimatosia. Memiliki gambaran khas yaitu gambaran sitoplasma mengalami vakuolisasi, vakuola-vakuola nampak jernih dan terjadi karena peningkatan pemasukan air ke dalam sel dan kemudian air memasuki vakuola-vakuola tersebut.^{24,27}

2.2.4.2 Nekrosis hepar

Nekrosis sel dapat terjadi langsung atau dapat mengikuti degenerasi sel (jejas reversibel). Gambaran mikroskopik dari nekrosis dapat berupa gambaran piknosis, karioreksis, dan kariolisis.²⁸

Berdasarkan lokasinya nekrosis terbagi menjadi tiga yaitu nekrosis fokal, nekrosis zona, nekrosis submasif. Nekrosis sel hati fokal adalah nekrosis yang terjadi secara acak pada satu sel atau sekelompok kecil sel pada seluruh daerah lobulus-lobulus hati. Nekrosis ini dikenali pada biopsi melalui badan asidofilik (*councilman*) yang merupakan sel hati nekrotik dengan inti piknotik atau lisis dan sitoplasma terkoagulasi berwarna merah muda. Selain itu dapat dikenali juga pada daerah lisis sel hati yang dikelilingi oleh kumpulan sel kupffer dan sel radang. Nekrosis zona sel hati adalah nekrosis sel hati yang terjadi pada regio-regio yang identik disemua lobulus hati, sedangkan nekrosis submasif merupakan nekrosis sel hati yang

meluas melewati batas lobulus, sering menjembatani daerah portal dengan vena sentralis (*bridging necrosis*).²⁸

Sedangkan berdasarkan bentuknya, dapat dibagi menjadi tiga macam:

a. Nekrosis Koagulativa

Terjadi karena hilangnya fungsi sel secara mendadak disebabkan oleh hambatan kerja sebagian besar enzim. Kerja enzim sitoplasmik hidrolitik juga terhambat, maka tidak terjadi penghancuran jaringan, sehingga proses autolisi sangat minimal.²⁹

b. Nekrosis Likuefaktif

Tanda khas dari nekrosis ini adalah adanya perluan jaringan nekrotik disertai pencairan. Pencairan ini terjadi akibat kerja enzim hidrolitik yang dilepas oleh sel yang mati.²⁹

c. Nekrosis Kaseosa

Nekrosis ini merupakan bentuk campuran nekrosis koagulatif dan likuefaktif. Dalam bentuk makroskopis teraba lunak kenyal seperti keju. Sedangkan mikroskopis akan terlihat masa amorf yang eosinofilik.^{29,30}

Untuk mengukur perubahan mikroskopis sel hepar, maka digunakan system skoring yang mengacu pada system skoring Manja Roenigk sebagai berikut:³⁰

- Nilai 1 = sel hepar normal. Tampak sel berbentuk polygonal, sitoplasma berwarna merah homogen, dinding sel berbatas tegas.

- Nilai 2 = sel hepar degenerasi parenkimatososa. Pembengkakan sel disertai sitoplasma keruh dan bergranula.
- Nilai 3 = sel hepar degenerasi hidropik. Tampak sel sembab, terdapat akumulasi cairan dan terdapat banyak vakuola.
- Nilai 4 = sel hepar nekrosis. Kerusakan permanen sel atau kematian sel.

2.2.4.3 Fibrosis

Fibrosis merupakan akumulasi matriks ekstraseluler yang merupakan respon dari cedera akut atau kronik pada hati. Pada tahap awal, fibrosis mungkin terbentuk di dalam atau di sekitar saluran porta atau vena sentralis atau mungkin mengendap langsung didalam sinusoid. Hal ini merupakan reaksi penyembuhan terhadap cedera. Cedera pada hepatosit akan mengakibatkan pelepasan sitokin dan faktor solubel lainnya oleh sel kupffer serta sel tipe lainnya pada hati. Faktor-faktor ini akan mengaktifasi sel stelat yang akan mensintesis sejumlah besar komponen matriks ekstraseluler.³¹

Transformasi sel normal menjadi sel yang fibrotik merupakan proses yang sangat rumit. Terdapat interaksi antara HSC dengan sel-sel parenkimal, sitokin, growth factor, berbagai protease matriks beserta inhibitornya dan MES.

Faktor-faktor yang berperan dalam terjadinya fibrosis hati.³²

1. Cedera hati
2. Inflamasi yang ditandai oleh:
 - a) Infiltrasi dan aktivasi dari berbagai sel seperti : netrofil, limfosit, trombosit dan sel-sel endotelial, termasuk sel kupffer.

- b) Pelepasan berbagai mediator, sitokin, growth factor, proteinase berikut inhibitorynya dan beberapa jenis substansi toksik seperti reactive oxygen spesies (ROS) dan peroksida lipid.
3. Aktivasi dan migrasi sel HSC ke daerah yang mengalami cedera.
 4. Perubahan jumlah dan komposisi MES akibat pengaruh HSC serta pengaruh berbagai sel, mediator dan growth factor.
 5. Inaktivasi HSC, apoptosis serta hambatan apoptosis oleh berbagai komponen yang terlibat dalam perubahan MES.

Fibrosis hati yang merupakan terbentuknya jaringan ikat yang terjadi sebagai respon terhadap cedera hati, diawali oleh cedera hati kronis yang dapat disebabkan oleh infeksi virus, ketergantungan alkohol, nonalkoholik steatohepatitis dan penyebab lainnya. Fibrosis hati terjadi dalam beberapa tahap. Jika hepatosit yang rusak mati, diantaranya akan terjadi kebocoran enzim lisosom dan pelepasan sitokin dari matriks ekstrasel. Sitokin ini bersama dengan debris sel yang mati akan mengaktifkan sel kupffer di sinusoid hati dan menarik sel inflamasi (granulosit, limfosit dan monosit). Berbagai faktor pertumbuhan dan sitokin kemudian dilepaskan dari sel kupffer dan dari sel inflamasi yang terlibat.³²

Faktor pertumbuhan dan sitokin ini selanjutnya :

- Mengubah sel HSC penyimpan lemak di hati menjadi miofibroblas
- Mengubah monosit yang bermigrasi menjadi makrofag aktif
- Memicu proliferasi fibroblas Aksi kemotaktik transforming growth factor β (TGF- β) dan protein kemotaktik monosit (MCP-1), yang dilepaskan dari sel HSC (dirangsang oleh

tumor necrosis factor α (TNF- α), platelet- derived growth factor (PDGF), dan interleukin akan memperkuat proses ini, demikian pula dengan sejumlah zat sinyal lainnya.^{29,32}

Akibat sejumlah interaksi ini (penjelasan yang lebih rinci belum dipahami sepenuhnya), pembentukan matriks ekstraseluler ditingkatkan oleh miofibroblas dan fibroblas, yang berarti peningkatan penimbunan kolagen (Tipe I, III, IV), proteoglikan (dekorin, biglikan, lumikan, agrekan), dan glikoprotein (fibronektin, laminin, tenaskin dan undulin) di ruang disse. Fibrinolisis glikoprotein di ruang disse menghambat pertukaran zat antara sinusoid darah dan hepatosit, serta meningkatkan resistensi aliran di sinusoid.^{31,32}

Type of Fibrosis	Pattern	Histology	Prevalent Mechanisms
Post-necrotic: Viral Hepatitis, Autoimmune Hepatitis a			Chronic Wound Healing
Biliary: Primary Biliary Cirrhosis Primary Sclerosing Cholangitis Secondary Biliary Cirrhosis b			Epithelial-Mesenchymal Disruption, Reactive Cholangiocytes, Bile salt toxicity
Pericellular: Alcoholic Steatohepatitis Non Alcoholic Steatohepatitis (Haemochromatosis/ Wilson Disease) c			Oxydative Stress, Reactive Aldehydes, Lipotoxicity

Gambar 10 Tipe-Tipe Fibrosis²⁸

2.2.5 Faktor- Faktor yang Berpengaruh pada Kerusakan Hepar

2.2.5.1 Obat dan Dosis

Beberapa obat yang dapat menyebabkan kerusakan pada hepar antara lain adalah asetaminofen, tetrasiklin, kloramfenikol, metildopa, dan lain sebagainya. Kerusakan yang ditimbulkan dapat berupa lesi ultrastruktur atau biokimia tanpa adanya peradangan dan nekrosis, sampai dapat ditemukan nekrosis yang luas. Dosis yang tinggi menyebabkan semakin banyaknya zat yang beredar, sehingga memperbesar kerusakan pada sel-sel hepar.³³

2.2.5.2 Nutrisi

Malnutrisi dapat menyebabkan kerusakan pada sel-sel hepar. Hal lain yang juga penting adalah konsumsi lemak yang bersamaan dengan zat toksik juga dapat menyebabkan perlemakan pada hepar, karena hepar akan mengutamakan eliminasi zat toksik, sehingga metabolisme lemak menjadi terganggu.³⁴

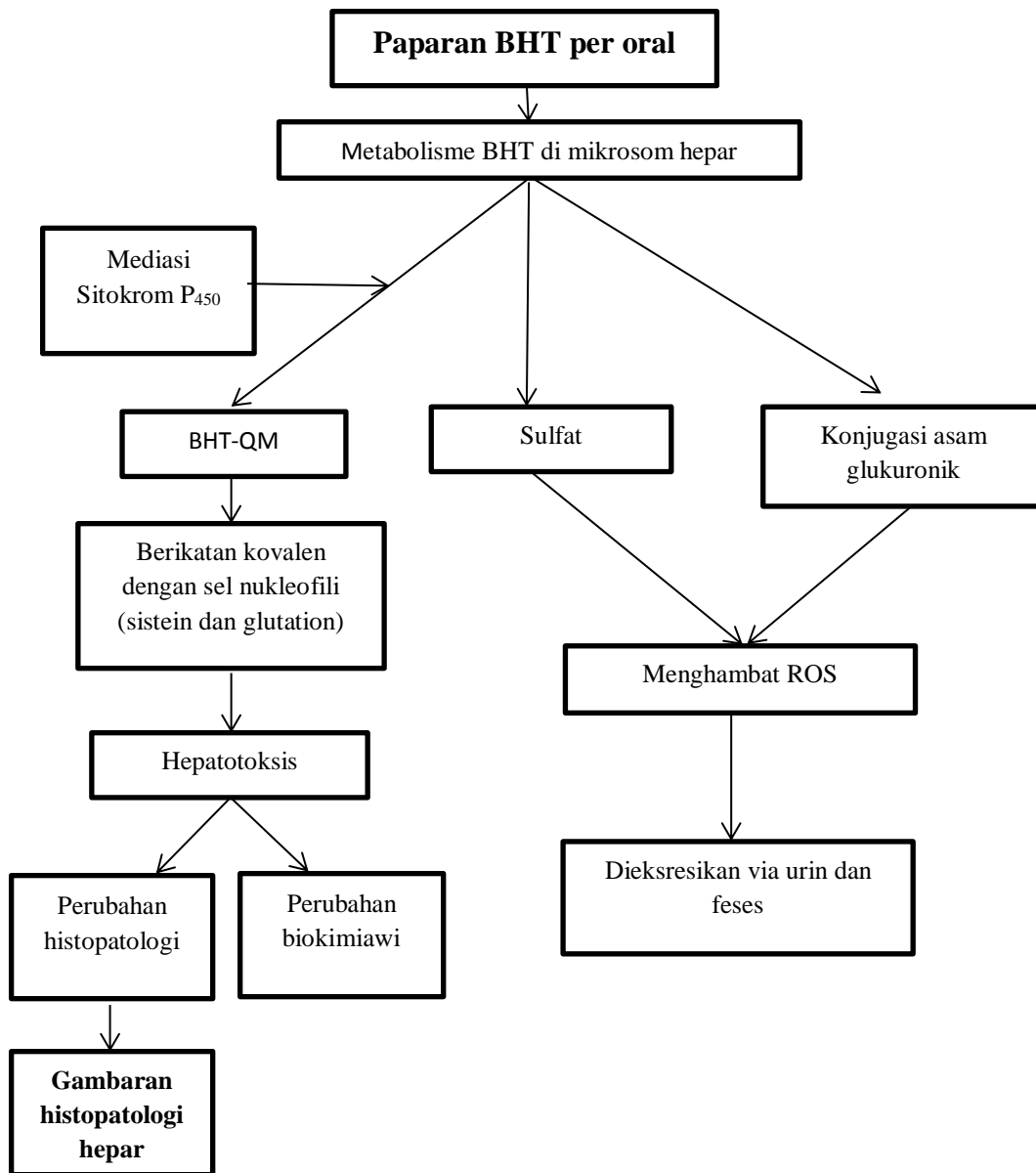
2.2.5.3 Penyakit Sebelumnya

Penyakit seperti hepatitis dan sindroma Reye serta kolestasis akan menyebabkan gangguan pada metabolisme di hepar, terutama pada hal biotransformasi zat.³⁴

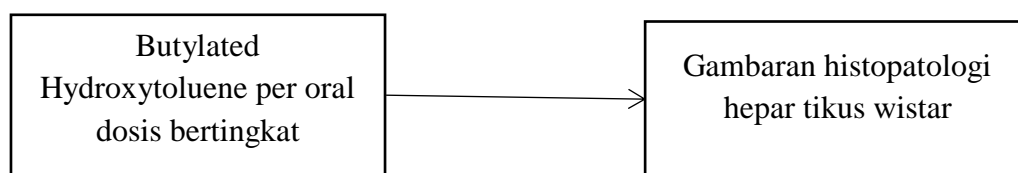
2.2.5.4 Alkohol dan zat toksik

Alkohol dapat menyebabkan kerusakan pada sel hepar. Penggunaan alkohol lebih dari 25mg/hari atau dua gelas juga dapat menyebabkan perlemakan pada hepar.³⁵ Beberapa zat toksik yang berbahaya bagi hepar antara lain etanol, bromobenzen dan karbon tetraklorida.³⁶ Zat tersebut menyebabkan perlemakan mikrovesikuler, nekrosis sentrilobulus dan nekrosis masif pada hepar. Boraks juga termasuk salah satu zat toksik yang dapat menyebabkan peningkatan kadar SGOT dan SGPT serta menyebabkan kerusakan sel-sel hepar.³⁷

2.3 Kerangka Teori



2.4 Kerangka Konsep



2.5 Hipotesis

2.5.1 Hipotesis Major

Terdapat pengaruh pemberian dosis bertingkat *Butylated Hydroxytoluene* terhadap gambaran histopatologi hepar tikus *Wistar*.

2.5.2 Hipotesis Minor

- 1) Terdapat kelainan histopatologi hepar tikus *Wistar* akibat pemberian BHT per oral berupa degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidrofilik dan nekrosis sel hepar
- 2) Terdapat perbedaan derajat kerusakan histopatologi hepar tikus *Wistar* yang diberi paparan BHT per oral dosis bertingkat, dari derajat ringan sampai berat.
- 3) Pemberian BHT per oral menyebabkan beberapa jenis kelainan gambaran histopatologi hepar tikus *Wistar* berupa degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidrofilik dan nekrosis sel hepar .
- 4) Terdapat perbedaan gambaran histopatologi hepar tikus *Wistar* akibat pemberian BHT per oral terjadi kerusakan sedangkan kontrol tidak terjadi kerusakan(normal)