

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Landasan Teori

##### 1. Anatomi dan Fisiologi Hati

Hati adalah organ intestinal terbesar dengan berat antara 1,2 - 1,8 kg atau kurang lebih 2,5% berat badan orang dewasa yang menempati sebagian besar kuadran kanan atas abdomen dan merupakan pusat metabolisme tubuh dengan fungsi yang sangat kompleks. Setiap lobus dibagi menjadi lobuli. Setiap lobulus merupakan badan heksagonal yang terdiri atas lempeng-lempeng sel hati berbentuk kubus mengelilingi vena sentralis. Hati terdiri atas bermacam-macam sel. Hepatosit meliputi 60% sel hati, sedangkan sisanya terdiri atas sel-sel epitelial sistem empedu dalam jumlah yang bermakna dan sel-sel non parenkimal yang termasuk di dalamnya endotelium, sel Kupffer dan sel stellata yang berbentuk seperti bintang. Di antara lempengan terdapat kapiler yang disebut sinusoid yang dibatasi sel endotel. Sel Kupffer berfungsi sebagai pertahanan hati. Sistem biliaris dimulai dari kanalikulus biliaris, yang merupakan saluran kecil dilapisi oleh mikrovili kompleks di sekeliling sel hati. Kanalikulus biliaris membentuk duktus biliaris intralobular, yang mengalirkan empedu ke duktus biliaris di dalam traktus porta. Fungsi dasar hati dibagi menjadi:

- a. Fungsi vaskular untuk menyimpan dan menyaring darah. Ada dua macam aliran darah pada hati, yaitu darah portal dari usus dan darah arterial, yang keduanya akan bertemu dalam sinusoid. Darah yang masuk sinusoid akan difilter oleh sel Kupffer.
- b. Fungsi metabolik. Hati memegang peran penting pada metabolisme karbohidrat, protein, lemak, vitamin.
- c. Fungsi ekskretorik. Banyak bahan diekskresi hati di dalam empedu, seperti bilirubin, kolesterol, asam empedu, dan lain-lain.

*commit to user*

- d. Fungsi sintesis. Hati merupakan sumber albumin plasma; banyak globulin plasma, dan banyak protein yang berperan dalam hemostasis (Amirudin, 2014).

## 2. Penyakit Hati Akibat Obat

Penyakit hati akibat obat adalah adanya kerusakan hati yang berkaitan dengan gangguan fungsi hati disebabkan oleh paparan obat atau agen noninfeksi lain (Patel, 2006). Penyakit hati karena obat merupakan penyebab penting terjadinya penyakit hati dengan angka morbiditas dan mortalitas yang signifikan (Fontana *et al.*, 2010). Ketepatan dan diagnosis awal menjadi sangat penting (Lee and Senior, 2005). Penyakit hati akibat obat atau kerusakan hati dipicu obat merupakan komplikasi yang sering terjadi pada pemberian farmakoterapi karena hati merupakan pusat metabolik dari hampir semua obat dan substansi asing lainnya. Diagnosis pada penyakit hati akibat obat merupakan diagnosis eksklusi, dimana tidak ada penanda atau tes diagnosis yang khusus (Chalasani *et al.*, 2008). Banyak kasus, pemeriksaan histologi hati sangat membantu untuk menegaskan diagnosis dan menyingkirkan penyebab yang lain (Kleiner, 2009). Penyakit hati akibat obat didapatkan kelainan pada hati, yaitu gangguan fungsi hati dan atau struktur anatomi hati (Abdurachman, 2007). Adanya gangguan fungsi hati dibedakan dengan kerusakan struktur anatomi hati, karena dengan adanya gangguan fungsi hati yang berat dapat menyebabkan kondisi klinis yang tidak baik atau bahkan berakibat mengancam jiwa sehingga memerlukan perawatan di rumah sakit. Angka yang tepat mengenai jumlah kejadian penyakit hati karena obat tidak dapat diketahui dengan pasti, karena tidak dilaporkan, kesulitan untuk mendeteksi atau mendiagnosis dan observasi yang tidak komplit terhadap seseorang yang terpapar (Patel, 2006; Abdurachman, 2007).

Para klinisi diharapkan cermat, cepat dan tanggap dalam mengenali penyakit hati akibat obat, karena deteksi dini akan mengurangi beratnya hepatotoksisitas sehingga obat segera dihentikan. Gambaran klinis

penyakit hati akibat obat mempunyai tebaran luas, mulai dari tidak ada gejala dengan peningkatan transaminase ringan dan hepatitis akut atau kronik, sampai dengan Gambaran kerusakan hati berat (Abdurachman, 2007; Alempijevic *et al.*, 2017). Disebut akut bila terjadi dalam beberapa hari atau minggu, subakut: beberapa minggu atau bulan dan kurang 3 bulan, kronik lebih dari 3 bulan (Abdurachman, 2007).

Mekanisme terjadinya kerusakan hati berdasar dosis dan dapat diduga dibagi menjadi toksisitas intrinsik dan reaksi idiosinkrasi; reaksi idiosinkrasi dapat dibagi menjadi reaksi imun yaitu reaksi hipersensitifitas atau alergi obat dan mekanisme terbentuknya produk metabolit toksik. Perbedaan keduanya dapat dilihat pada Tabel 2.1 (Abdurachman, 2007).

Tabel 2.1 Perbedaan antara reaksi intrinsik dan reaksi idiosinkrasi

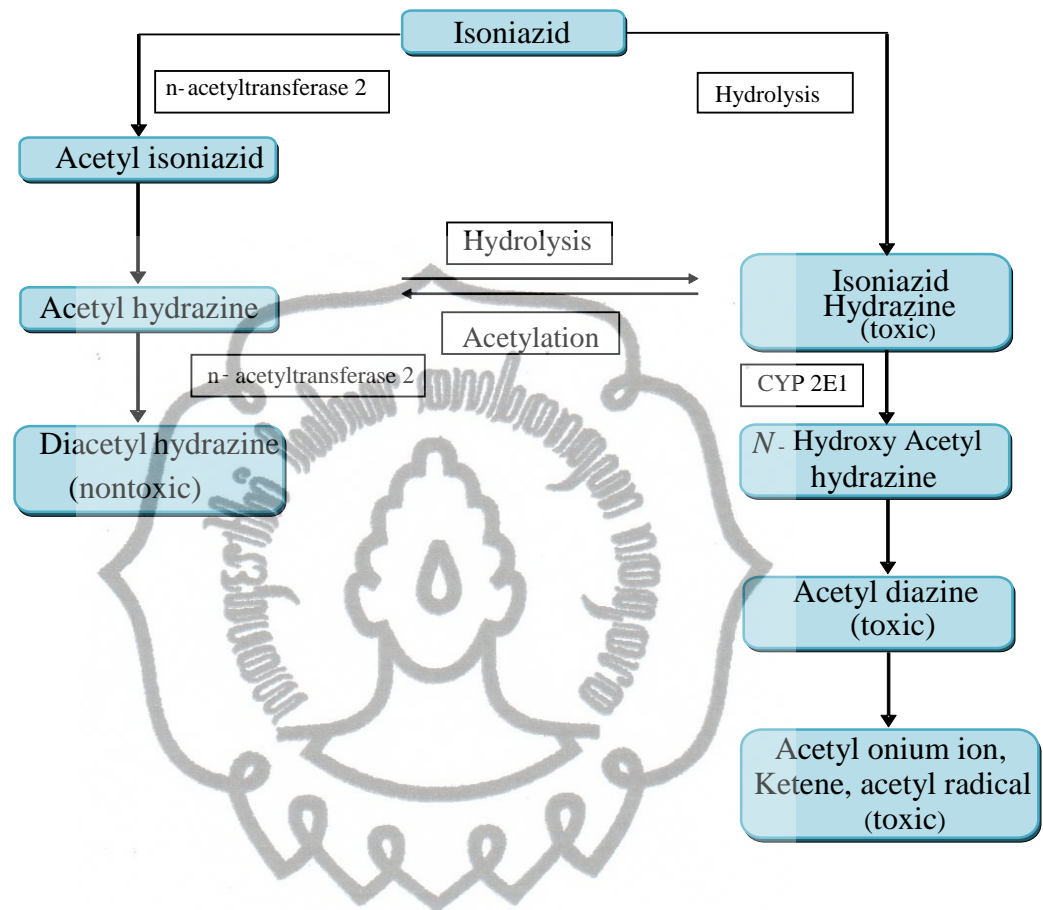
|                           | Toksisitas Intrinsik                     | Toksisitas Idiosinkrasi                      |
|---------------------------|--|--|
| Mekanisme                 | Kerusakan fisikokimiawi<br>Direk/indirek | Metabolisme idiosinkrasi<br>Metabolit toksik |
| Risiko kerusakan          | Sangat tinggi, dapat diduga              | Rendah, tidak dapat diduga                   |
| Periode laten             | Beberapa jam (akut)                      | Beberapa minggu – bulan                      |
| Model hewan percobaan     | Ada                                      | Tidak  |
| Tergantung dosis          | Ya                                       | Tidak  |
| Uji pemberian ulang       | Tidak dilakukan                          | Respon lambat                                |
| Pola kerusakan morfologik | Biasanya nekrosis                        | Bervariasi                                   |
| Gambaran klinis           | Hepatitis akut fulminan                  | Hepatitis akut ikterik/non ikterik           |
| Contoh                    | Asemtaminofen, salisilat                 | Isoniasid, diklofenak, Troglitazone          |

### 3. Isoniazid (INH)

Isoniazid merupakan molekul dengan berat yang rendah dimana cepat diabsorpsi oleh traktus gastrointestinal (dalam waktu 30 menit setelah diberikan pada anjing). Absorpsi ini meningkat dalam keadaan

lambung kosong. Makanan dan antasid menurunkan  $C_{max}$  dan meningkatkan  $T_{max}$  (Peloquin *et al.*, 1999). Kadar yang lebih tinggi di dalam darah telah diteliti setelah diberikan secara intravena. Waktu paruh di dalam darah bervariasi ( $1,1 \pm 0,1 - 3,1 \pm 1,1$  jam) tergantung sejauh mana proses asetilasi. Obat ini tidak mengikat protein plasma, langsung melewati membrane sel. Isoniazid dapat ditemukan di saliva, cairan *pleura and peritoneal* dan dalam cairan yang melapisi bronkus dan alveoli paru (Conte *et al.*, 2002). Pengukuran konsentrasi INH disaliva dapat digunakan sebagai alternatif pemeriksaan non invasif untuk pengukuran konsentrasi dalam plasma. Penetrasi INH ke dalam sel alveoli paru melalui proses difusi pasif, didapatkan dengan kadar yang sama juga di plasma (Conte *et al.*, 2002). Kelinci dan manusia, INH dapat melewati dari ibu ke janin. Kadar yang sama ditemukan pada maternal dan tali pusat dimana kadar yang lebih tinggi terdapat di cairan amnion. Konsentrasi yang sangat rendah atau konsentrasi yang sama ditemukan di darah dapat juga ditemukan di air susu. Isoniazid dapat juga ditemukan di cairan serebrospinal. Anjing yang diberikan dosis sekali dan diulang, obat dieliminasi dari plasma oleh ginjal rata-rata 19% setiap jamnya. Setelah 8 jam diberikan, INH akan diekskresi dan sisanya (<1-12%) akan dieliminasi dalam waktu 24 jam.

Isoniazid dimetabolisme menjadi: *Isonicotinic Acid* (INA), *Hydrazine* (HZ), dan *Ammonia* (NH<sub>3</sub>). Isoniazid diubah menjadi HZ dan INA oleh *hydrazinolysis*, dan kemudian HZ dioksidasi menjadi NH<sub>3</sub>. (Ono *et al.*, 1996) melaporkan bahwa INA dapat dibentuk dari INH tidak hanya melalui *hydrazinolysis* tetapi juga melalui *CYP-dependent oxidative pathways*. Metabolit yang keempat kemungkinan adalah *Isonicotinamide* (INAAM), tetapi tidak dapat ditemukan di urin pasien yang sedang mendapat terapi INH.



Gambar 2. 1 Jalur Metabolisme Isoniazid (Hozeifa M Hassan *et al.*, 2015)

Keterangan: Enzim NAT2 juga bertanggung jawab untuk asetilasi lanjut asetil hidrazin menjadi diasetil hidrazin non toksik. Oleh karena itu, hasil asetilasi lambat tidak hanya diakumulasi senyawa induk, tetapi juga dari mono-asetil hidrazin. Asetilasi asetil hidrazin selanjutnya ditekan oleh INH sendiri. Selain itu, hidrolisis langsung INH tanpa asetilasi menghasilkan hidrazin yang hepatotoksik melalui generasi hidrazin dalam bentuk radikal bebas antara lain: asetil diasin, asetil onium ion, ketene, asetil radikal (Hassan *et al.*, 2015).

a. Efek hepatotoksik Isoniazid

Isoniazid dapat menyebabkan kerusakan hati yang ringan atau berat. Mendekati 10% - 20% individu yang diterapi dengan INH mengalami kerusakan hati dalam bentuk ringan dengan kenaikan aminotransferase dalam plasma  $\leq 3 \times$  limit normal atas dan kebanyakan tanpa gejala. Sekitar 1% pasien terjadi kerusakan hati yang lebih berat,



ditandai dengan peningkatan aminotransferase dalam plasma  $> 5 \times$  limit normal atas (Metushi *et al.*, 2011; Boelsterli and Lee, 2014). Penyakit hati akibat INH merupakan komplikasi yang sering terjadi pada terapi antituberkulosis, mulai dari asimtomatik dengan peningkatan serum transaminase sampai gagal hati yang membutuhkan transplantasi hati. Penyakit ini bukan disebabkan oleh tingginya konsentrasi INH di plasma tetapi oleh adanya respon idiosinkrasi. Isoniazid dimetabolisme menjadi *monoacetyl hydrazine* oleh sitokrom P450, dimana *monoacetyl hydrazine* merupakan produk toksik yang menyebabkan hepatotoksik. Penelitian *human genetic* melaporkan bahwa sitokrom P4502E1 (CYP2E1) terkait dalam hepatotoksik obat akibat OAT (Huang *et al.*, 2003). Genotip CYP2E1 c1/c1 berkaitan dengan lebih meningkatnya aktivitas CYP2E1 dan kemungkinan mempunyai peran lebih dalam hepatototoksik. Penelitian pada tikus coba menunjukkan bahwa INH dan hydrazine menginduksi aktivitas CYP2E1 (Jenner and Timbrell, 1995). Isoniazid menghambat aktivitas CYP1A2, 2A6, 2C19 dan 3A4. CYP1A2 diduga terkait dengan detoksifikasi dari hidrazin (Wen *et al.*, 2002).

Mekanisme hepatotoksisitas INH bersifat idiosinkrasi, mekanisme secara komplut belum dapat dipahami. Binatang model yang mempunyai karakteristik yang sama dengan kerusakan idiosinkratik yang terjadi pada manusia sulit dibuat. Beberapa peneliti menyarankan mekanisme hepatotoksisitas INH sehingga klinisi mempunyai strategi untuk mengurangi kejadian kerusakan hati akibat INH. Mekanisme tersebut antara lain: terjadinya apoptosis dan disfungsi mitokondria; peranan stres oksidasi, peroksidase lipid, peranan metabolit INH. Hidrazin suatu metabolit INH yang menyebabkan efek toksik seluler dan hidrazin mungkin merupakan metabolit paling toksik (Zhang *et al.*, 2012).

Hewan coba dengan hidrazin didapatkan bahwa hidrazin menyebabkan steatosis, vakuolisasi dan deplesi *glutathione*. Vakuolisasi

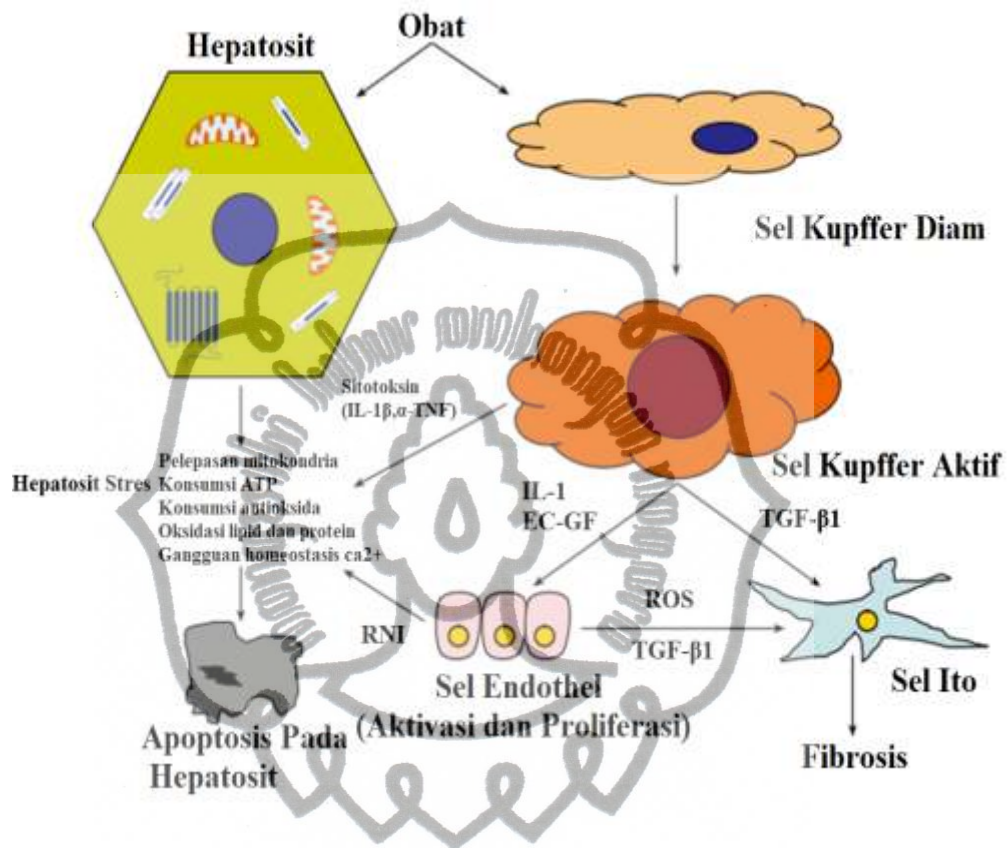
lemak dan mitokondria yang sembab ditemukan pada hepatosit. Penurunan kadar *glutation* dan pengurangan aktivitas *gelation-s-transferase*, catalase dan superoxide dismutase setelah pemberian INH dan atau hidrazin pada tikus menandakan bahwa stres oksidasi berperan dalam kerusakan hati terpacu INH. Eksperimental lebih lanjut menerangkan bahwa INH memicu aktivasi adaptif dan sistem imun alami, gangguan metabolisme endogen dan disfungsi mitokondria merupakan mekanisme kerusakan hati terpicu INH (Hassan *et al.*, 2015).

Pemaparan mitokondria hati tikus terisolasi dengan INH menyebabkan peningkatan pembentukan ROS mitokondria, peroksidasi lipid dan kolap potensial membran mitokondria. Peningkatan kadar ROS menyebabkan kegagalan fosforilasi oksidatif, penurunan kadar ATP. Terjadi juga peningkatan dengan cepat peroksidasi lipid membran mitokondria, pembengkakan mitokondria dan akhirnya pelepasan sitokrom-c dari mitokondria (Ahadpour *et al.*, 2015).

Sebelumnya dipercaya bahwa kerusakan Hati karena INH tidak diperantarai proses imun, ternyata terdapat bukti bahwa kerusakan Hati akibat INH diperantarai sistem imun adaptif. Isoniazid dapat berikatan dengan makrophag '*in vitro*' yang diperkirakan obat induk dapat membentuk '*covalent adducts*' dan dimulailah respon imun dengan berikatan dengan grup aldehid pada makrofag dan memicu produksi IL-6. Beberapa kasus hepatotoksitas yang diinduksi INH melibatkan mekanisme imun, sedangkan yang lainnya tidak. Hal ini menunjukkan heterogenitas hal yang biasa pada reaksi idiosinkrasi (Hassan *et al.*, 2015).

Molekul obat mengaktivasi sel Kupffer, sementara obat dimetabolisme di hepatosit; yang menghasilkan stres hepatosit yang akan diperburuk oleh ROS dan spesies nitrogen yang berasal dari sel endotel yang teraktivasi. Hasil akhir adalah kematian sel dengan

apoptosis dan aktivasi sel stelata yang akan meningkatkan fibrosis. (Grattagliano *et al.*, 2009). Lihat Gambar 2.2



Gambar 2. 2 Drug (obat) Mengaktifasi Sel Kupffer dan Obat di Metabolisme di Hepatosit (Grattagliano *et al.*, 2009)

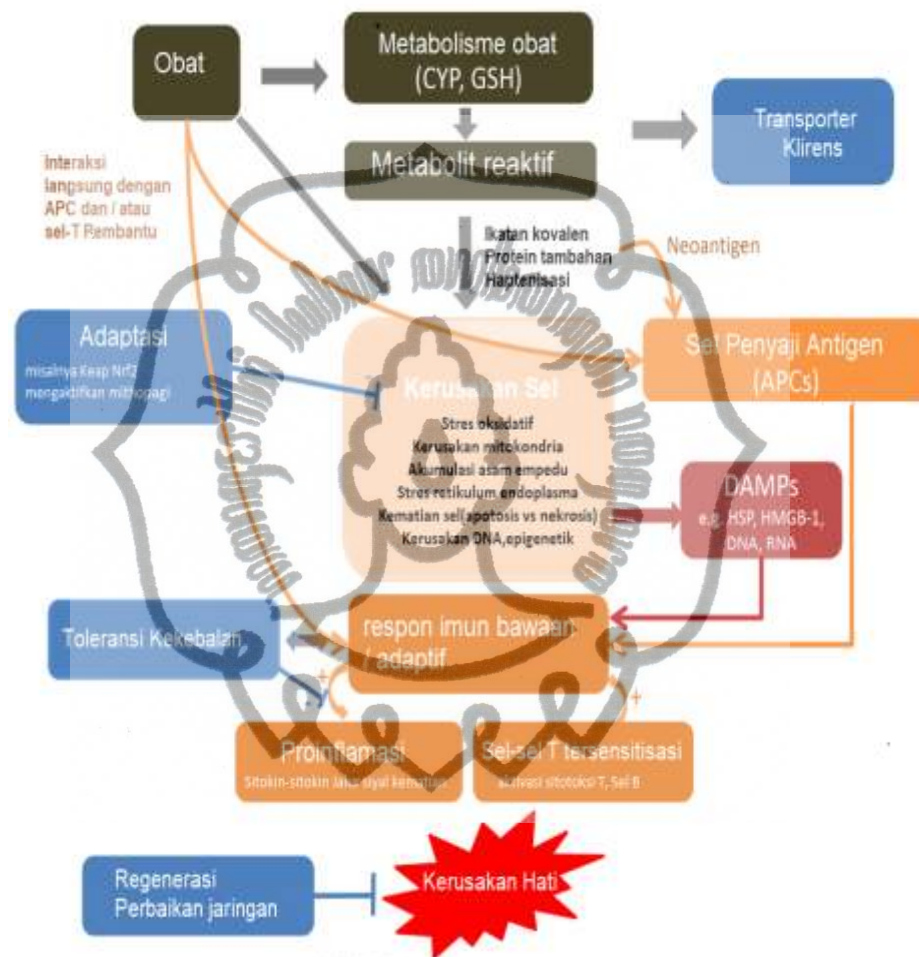
Keterangan : Molekul obat dapat berpengaruh pada hepatosit dan langsung mengaktifasi sel kupffer. Kejadian tersebut akan menghasilkan stres hepatosit yang diperburuk dengan adanya intervensi ROS dan nitrogen spesies dari aktivasi sel Ito. Hasil akhir adalah kematian apoptosis dan aktivasi sel Ito (hepatic stella cell ) yang akan meningkatkan fibrosis (Grattagliano *et al.*, 2009).

Sel Kupffer pada umumnya berada pada sinusoid hati di area periporal dan di sentral dari lobules hati. Fungsi utama sel Kupffer untuk membersihkan pecahan atau partikel asing dari sirkulasi portal, utamanya dengan fagositosis, baik untuk partikel teropsonisasi atau tidak teropsonisasi. Seperti halnya sel mononuklear lainnya, sel Kupffer mempunyai kapasitas bertindak sebagai *Antigen-Precenting Cells*

*commut to user*



(APC) untuk menginduksi sel T. Ketika diaktivasi sel Kupffer melepaskan *anion superoksida*, *hydrogen peroxide*, *nitric oxide*, enzim



Gambar 2. 3 Pemahaman mekanisme pada inisiasi dan progresi DILI yang relevan untuk saat ini. Ada 2 mekanisme kaskade, (A). Inflamasi steril disebabkan sitotoksik yang diinduksi obat dan (B). Respon imun melalui APC dan atau sel T-helper (Chen *et al.*, 2015).

Keterangan : Obat (isoniazid) selain dimetabolisme di hepatosit dengan CYP (sitokrom P450) dan *Glutathione* (GSH) sehingga menghasilkan metabolit reaktif, obat juga dapat langsung berinteraksi dengan APC (makrofag atau sel Kupffer) dan atau sel T-helper. Selanjutnya akan menginisiasi *innate-adaptive immune response*, memicu peningkatan sitokin inflamasi dan *death signal pathway* (Chen *et al.*, 2015).

hidrolitik dan *eicosanoid* yang merupakan alat penghancur antigen. Sel Kupffer juga melepas sitokin imunoregulator dan sitokin inflamasi, antara lain IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , *Platelet Activating Factor* (PAF), TGF-B dan interferon-G (Laskin *et al.*, 1995). Makrofag dari tikus yang diberi *hepatotoxics* seperti fenobarbital, acetaminophen, atau endotoksin, menempel dan menyebar pada cawan kultur lebih cepat dari sel Kupffer, dan aktif menunjukkan peningkatan aktivitas fagositosis, kemotaktik, dan aktivitas metabolik sebagaimana peningkatan pelepasan *anion superoksida*, *hydrogen peroxide*, *nitric oxide* dan produk oksidasinya, enzim proteolitik, IL-1, IL-6 dan TNF- $\alpha$ . Data tersebut menunjukkan bahwa makrofag di hati menjadi aktif fungsionalnya setelah pemaparan hepatotoksikan, dan menjadi bukti bahwa sel ini dapat meningkatkan kerusakan hati (Laskin *et al.*, 1995).

b. Dosis Isoniazid

Palanisamy dan Manian (2012) menggunakan dosis INH 100 mg/kgBB intraperitoneal selama 21 hari pada tikus albino jantan untuk menilai aktivitas *hepatoprotective asparagus racemosus* terhadap kerusakan hati terinduksi INH (Palanisamy and Manian, 2012). Jahromi *et al.*, 2018 melakukan penelitian tentang efek protektif salep terhadap gangguan Hati akibat INH pada tikus Wistar menggunakan dosis INH 50 mg/kgBB secara injeksi intraperitoneal untuk mendapatkan tikus dengan gangguan hati akibat INH (Jahromi *et al.*, 2018). Ruan *et al.*, 2018 menggunakan dosis 200 dan 400 mg/kg selama 7 hari berturut-turut dengan *gavage* untuk mendapatkan tikus model dengan kondisi keracunan akut terinduksi INH, sehingga mendapatkan klarifikasi mekanisme terjadinya keracunan akut terinduksi INH (Ruan *et al.*, 2018). Peneliti lain menggunakan dosis isoniazid dan rifampisin untuk menginduksi cedera hati masing-masing sebanyak 50 mg/kgBB/hari intraperitoneal; Atri S (2000) selama 21 hari (Attri *et al.*, 2000) dan Pal (2006) selama 28 hari (Pal *et al.*, 2006).

Dosis INH dalam penelitian ini menggunakan hasil penelitian pendahuluan dengan metode: Tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*) secara random dibagi menjadi 4 kelompok dengan dosis INH intraperitoneal 50 mg/kgBB/hari, 60 mg/kgBB/hari, 70 mg/kgBB/hari dan 80 mg/kgBB/hari. Tiap kelompok terdiri dari 2 ekor tikus. Perlakuan diberikan selama 2 minggu, 3 minggu, 4 minggu dan 5 minggu. Selesai perlakuan, tikus dikorbankan, jaringan hati diambil dan dibuat preparat histopatologi dengan pengecatan *hematoxylin-eosin* (HE) dan dinilai tingkat kerusakannya. Pengamatan kerusakan Hati berdasar parameter yang dinilai yaitu *hepatocyte ballooning*, *steatosis*, *ductular reaction*, *activity score*, dan fibrosis. Didapatkan: INH intraperitoneal dosis tertinggi (80 mg/kgBB/hari) dan durasi perlakuan terpanjang (5 minggu) mengakibatkan kerusakan Hati yang terberat. Jaringan Hati pada tikus kelompok tersebut menunjukkan *hepatocyte ballooning* prominen / skor 2, *steatosis* skor 3, dan *ductus reaction* skor 2. Selain itu, jaringan Hati pada tikus kelompok tersebut juga menunjukkan fibrosis berat (banyak tautan maupun septa jaringan fibrous) (Pramana *et al.*, 2019).

#### 4. Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L)

##### a. Taksonomi

Taksonomi Manggis (*Garcinia Mangostana* L) adalah sebagai berikut (Jones dan Luchsinger, 1987):

|           |                        |
|-----------|------------------------|
| Dunia     | : <i>Plantae</i>       |
| Divisi    | : <i>Spermatophyta</i> |
| Subdivisi | : <i>Angiospermae</i>  |
| Kelas     | : <i>Dicotyledonae</i> |
| Subkelas  | : <i>Dilleniidae</i>   |
| Bangsa    | : <i>Theales</i>       |
| Suku      | : <i>Clusiaceae</i>    |

Marga : *Garcinia*  
Jenis : *Garcinia mangostana L.*

b. Morfologi

*Garcinia mangostana L* merupakan pohon berbuah, memiliki tinggi sampai 25 meter dan memiliki besar batang 45 cm. Pohon ini mengeluarkan getah kuning dari batang, lembaran daun berbentuk lonjong atau jorong ukuran 15-25 cm x 7-13 cm, bunga menyendiri atau berpasangan. Buah berbentuk bola tertekan, garis tengah 3,5-7 cm, ungu tua, dengan kelopak tetap, dinding buah tebal dan berdaging. Biji diselimuti oleh selaput biji yang tebal dan berair, berwarna putih. Buah masak pada awal musim hujan yaitu pada bulan Juni hingga Januari (Heyne, 1987).

c. Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Ragam ekstraksi tergantung pada jenis dan kandungan senyawa yang diisolasi. Ekstraksi dapat dilakukan dengan pelarut organik terhadap bahan segar atau bahan kering. Prinsipnya senyawa polar diekstraksi dengan pelarut polar, sedangkan senyawa non polar diekstraksi dengan pelarut non polar. Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia menurut cara yang sesuai, diluar pengaruh cahaya matahari langsung (Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000).

Maserasi adalah pengeskstrakan simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu kamar. Prinsip dasarnya pencapaian konsentrasi pada keseimbangan yang secara teknologi termasuk ekstraksi (Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000).

d. Kandungan Kimia

Komponen seluruh buah manggis yang paling besar adalah kulit (70-75%), biji (15-20%), terkecil daging buah (10-15%). Permana et

*al.*, (2012) melaporkan dalam penelitiannya bahwa bubuk kulit buah manggis terdapat  $\alpha$ -mangostin dengan kadar sebesar 0,59 mg/g, antosianin dengan kadar 1,13mg/g, dan fenolik dengan kadar 8,49 mg/g per satuan bobot sampel kering (Permana *et al.*, 2012).

Setiap 100 gram sirup mangostin mengandung, lemak 0,58 gram, protein 0,41 gram, dan karbohidrat 17,91 gram (USDA, 2019). Berbagai penelitian menunjukkan kulit buah manggis kaya akan antioksidan, terutama antosianin, *xanthone*, tanin dan asam fenolat. Ekstrak etanol kulit manggis mengandung alkaloid, tanin, saponin, steroid atau triterpenoid dan glikosida (Ardiani, 2012). Lihat Tabel 2.2

Tabel 2. 2 Nilai nutrisi per 100 g kulit mangostin (USDA, 2019).

|                                    |                  |                        |
|------------------------------------|------------------|------------------------|
| <b>Energy</b>                      | 305 kj (73 kcal) |                        |
| <b>Carbohydrates</b>               | 17,91 g          |                        |
| Dietary fiber                      | 1,8 g            |                        |
| <b>Fat</b>                         | 0,58 g           |                        |
| <b>Protein</b>                     | 0,41 g           |                        |
| <b>Vitamins</b>                    | <b>Quantity</b>  | <b>%DV<sup>+</sup></b> |
| Thiamine (B <sub>1</sub> )         | 0,054 mg         | 5%                     |
| Riboflavin (B <sub>2</sub> )       | 0,054 mg         | 5%                     |
| Niacin (B <sub>3</sub> )           | 0,286 mg         | 2%                     |
| Pantothenic acid (B <sub>5</sub> ) | 0,032 mg         | 1%                     |
| Vitamin B <sub>6</sub>             | 0,018 mg         | 1%                     |
| Falote (B <sub>9</sub> )           | 31 µg            | 8%                     |
| Vitamin C                          | 2,9 mg           | 3%                     |
| <b>Minerals</b>                    | <b>Quantity</b>  | <b>%DV<sup>+</sup></b> |
| Calcium                            | 12 mg            | 1%                     |
| Iron                               | 0,3 mg           | 2%                     |
| Magnesium                          | 13 mg            | 4%                     |
| Manganese                          | 0,102 mg         | 5%                     |
| Phosphorus                         | 8 mg             | 1%                     |
| Potassium                          | 48 mg            | 1%                     |
| Sodium                             | 7 mg             | 0%                     |
| Zinc                               | 0,21 mg          | 1%                     |



### 1) Fitokimia Ekstrak Kulit Manggis

- a) Analisis fitokimia ekstrak etanol 70% kulit manggis menggunakan instrumen *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dengan senyawa standar golongan xanthone menunjukkan konsentrasi golongan xanthone sebagai berikut (lihat Tabel 2.3).
- b) Penelitian oleh (Widowati *et al.*, 2014) menunjukkan bahwa keempat senyawa golongan xanthone di atas memiliki aktivitas antioksidan yang diukur menggunakan ABTS+ 2, 2-Azinobis-(3ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt free radical assay dengan hasil sebagai berikut:  $\alpha$ -mangostin dan  $\gamma$ -mangostin memiliki efek antioksidan yang tinggi yaitu masing-masing sebesar 91.69% dan 50.88%. Kedua senyawa tersebut juga memiliki sitotoksik dilihat dari hasil penghitungan IC<sub>50</sub> yaitu  $\alpha$ -mangostin sebesar 2.348  $\mu$ g/ml dan  $\gamma$ -mangostin sebesar 4.468  $\mu$ g/ml, artinya pada konsentrasi yang kecil  $\alpha$ -mangostin dan  $\gamma$ -mangostin sudah menimbulkan kematian pada 50% sel (Widowati *et al.*, 2014).
- c) Penelitian oleh (Aisha *et al.*, 2013) terhadap ekstrak etanol kulit manggis menggunakan beberapa jenis pelarut menunjukkan bahwa persentase total golongan xanthone di dalam masing-masing ekstrak berbeda. Pengukuran persentase total xanthone menggunakan instrumen *ultraviolet spectrophotometry* sebagai berikut: pengukuran pada spektrum 243.4 nm merupakan pengukuran yang paling sensitif, akurat dan mendekati konsentrasi yang sesungguhnya. Ekstrak etanol 75% kulit manggis memiliki kandungan total xanthone sebesar 86.5% (wt/wt) (Aisha *et al.*, 2013).

Tabel 2. 3 Konsentrasi golongan xanthone

| Marker compounds    | Equation | Area (replication) |         | Concentration (replication) |       | AC (ppm) |
|---------------------|----------|--------------------|---------|-----------------------------|-------|----------|
|                     |          | 1                  | 2       | 1                           | 2     |          |
| $\alpha$ -mangostin | 62683    | 6964062            | 6199785 | 111,10                      | 98,91 | 105      |
| $\gamma$ -mangostin | 35937    | 194017             | 323461  | 5,40                        | 9,00  | 7,20     |
| Gar-C               | 47416    | 163365             | 169159  | 3,45                        | 3,57  | 3,50     |
| Gar-D               | 13410    | 134600             | 131523  | 10,04                       | 9,81  | 9,92     |

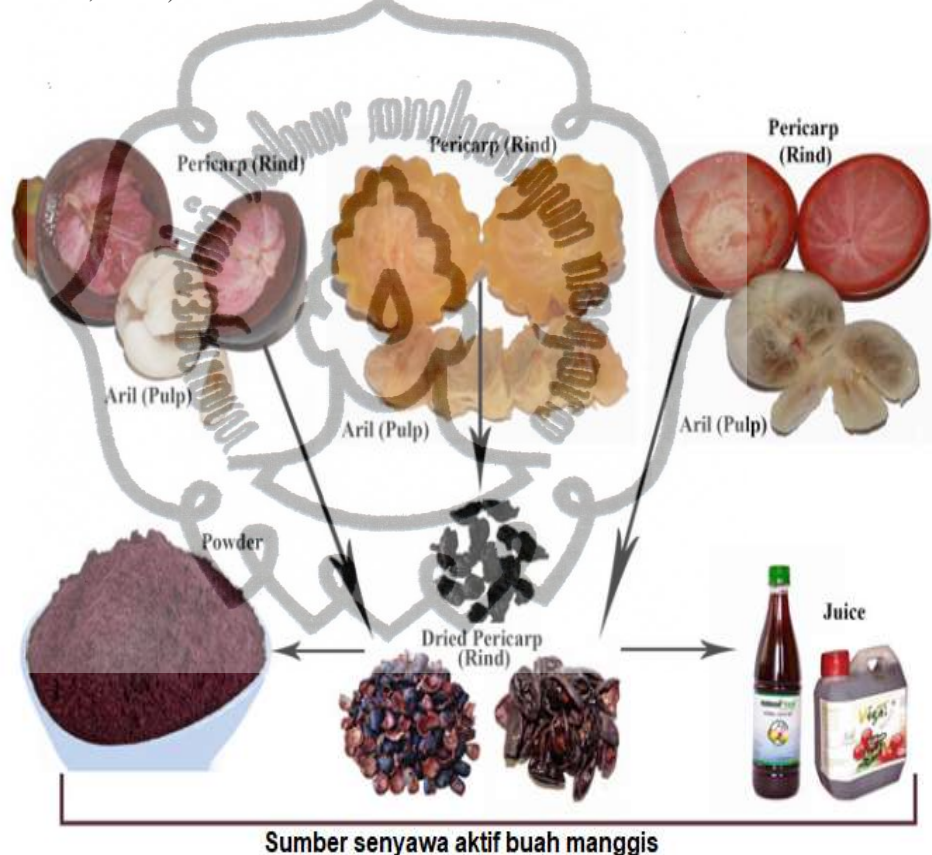
Keterangan Tabel 2.3. Konsentrasi  $\alpha$ -mangostin ditemukan paling besar yaitu sebesar 105 ppm sedangkan senyawa lainnya yaitu  $\gamma$  mangostin sebesar 7,20 ppm, Garcinone C 3,50 ppm dan Garcinone D 9,92 ppm (Widowati *et al.*, 2015). AC: Average Concentration

Kandungan *xanthone* pada kapsul kulit manggis yang beredar berbeda-beda sesuai antar kapsul, Mayefis *et al*, (2019), melaporkan bahwa kapsul A mengandung *xanthone* 100,8 µg/mg, sampel B 197 µg/mg dan sampel C 50,2 µg/mg (Mayefis, Anugerah and Rasyid, 2019). Sudah diidentifikasi paling tidak 68 jenis *xanthone* yang berbeda pada tanaman *G. mangostana*, 50 jenis ada di kulit buah manggis. Jumlah *xanthone* terbanyak di kulit manggis adalah  $\alpha$ - dan  $\gamma$ -mangostin. Jenis *xanthone* lain di kulit manggis antarlain  $\beta$ -mangostin, gartanin, 8-deoxygartanin, garcinones A, B, C, D dan E, mangostinone 9-hydroxycalabaxznthone dan isomangostin dan lain-lain (Gutierrez and Failla, 2013).  $\gamma$ -mangostin mengurangi fibrosis liver melalui *sirtuin 3-superoxide-high mobility group box 1 signaling axis* (Wang *et al.*, 2018).

- d) Analisa fitokimia dalam ekstrak kloroform kulit manggis (*epicarp*) dan ekstrak heksana buah manggis (*endocarp*) menggunakan instrument HPLC menunjukkan hasil sebagai berikut: ekstrak kloroform kulit manggis mengandung senyawa golongan fenol sebanyak 220.10 mg/g, golongan flavonoid sebanyak 35.10 mg/g dan golongan triterpenoid sebanyak 0.56 mg/g (Manimekalai *et al.*, 2016).
- e) Hasil analisa fitokimia ekstrak dietil eter kulit manggis menggunakan instrumen GC-MS menunjukkan tidak adanya senyawa metabolit sekunder yang terdeteksi, artinya senyawa bioaktif dalam ekstrak etanol kulit manggis sensitif terhadap panas sedangkan pada analisa menggunakan HPLC menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit manggis mengandung senyawa aktif golongan alkaloid (Kasim dan Syukri , 2017).

## 2) Kandungan masing-masing dari bagian *Garcinia mangostana* L

Buah manggis berbentuk bulat oval berwarna merah keunguan, lunak dengan aroma yang enak. Bagian-baian dari buah manggis adalah *pricarp (rind)* atau kulit manggis yang kaya dengan pigmen khususnya antosianin; *aril (pulp)* adalah bagian yang dapat dimakan berwarna putih, berair, manis dan sedikit asam (Murthy *et al.*, 2018). Lihat Gambar 2.4



Gambar 2. 4 Buah, pericarp (rind) , pericarp bubuk dan jus mangosteen (Murthy *et al.*, 2018)

Manimekalai *et al* (2016) dalam penelitian melaporkan bahwa kandungan perikarp dan endokarp buah manggis berbeda (Manimekalai *et al.*, 2016), seperti pada Tabel 2.4.

Tabel 2. 4 Kandungan kulit manggis berbeda dengan buah manggis

| Phytochemicals      | Epicarp | Endocarp |
|---------------------|---------|----------|
| Phenols (mg/g)      | 220.10  | 25.20    |
| Flavonoids (mg/g)   | 35.10   | 119. 80  |
| Triterpenoids(mg/g) | 0.56    | 1.20     |

Sukatta *et al* (2013) melaporkan bahwa kandungan kulit perikarp dan campuran dua-duanya paling tinggi kandungan  $\alpha$  mangostin dan  $\gamma$  mangostin adalah di perikarp (Sukata *et al.*, 2013), seperti pada tabel 2.5.

Tabel 2. 5 Perbandingan kandungan  $\alpha$  mangostin dan  $\gamma$  mangostin pada aril, perikarp dan campuran dua-duanya

| Part of fruit                   | Compounds          | Fresh basis (mg/g)   |                         | Dry basis (mg/g)     |                         |
|---------------------------------|--------------------|----------------------|-------------------------|----------------------|-------------------------|
|                                 |                    | with YG <sup>2</sup> | without YG <sup>2</sup> | with YG <sup>2</sup> | without YG <sup>2</sup> |
| Aril                            | $\alpha$ Mangostin | $2.80 \pm 4^a$       | $0.4 \pm 0.2^b$         | $15.0 \pm 2.3^a$     | $2.1 \pm 0.8^b$         |
|                                 | $\gamma$ Mangostin | $1.1 \pm 0.2^a$      | $0.1 \pm 0.0^b$         | $5.7 \pm 1.3^a$      | $0.5 \pm 0.1^b$         |
| Pericarp                        | $\alpha$ Mangostin | $19.7 \pm 5.4^a$     | $23.0 \pm 3.0^a$        | $54.7 \pm 9.5^a$     | $61.5 \pm 11.9^a$       |
|                                 | $\gamma$ Mangostin | $8.6 \pm 3.0^a$      | $10.7 \pm 3.0^a$        | $23.6 \pm 6.1^a$     | $28.6 \pm 9.4^a$        |
| Whole fruit (aril and pericarp) | $\alpha$ Mangostin | $15.6 \pm 4.2^a$     | $15.4 \pm 2.0^a$        | —                    | —                       |
|                                 | $\gamma$ Mangostin | $6.7 \pm 2.4^a$      | $7.1 \pm 2.0^a$         | —                    | —                       |

Chew *et al* (2018) dalam penelitian melaporkan bahwa perbandingan aktivitas antioksidan dari daun, perikarp, dan daging buah *Garcinia mangostana* L (Chew, Lim and Chew, 2018), dapat dilihat seperti Tabel 2.6.



Tabel 2. 6 Perbandingan aktivitas antioksidan dari daun, perikarp dan pulps *Garcinia mangostana* L

| Plant parts | Species               | TPC<br>(mg GAE/100 g)    | TAC<br>(mg cy-3glu/100 g) | FRS<br>(mg AA/100 g)      | FRP mg<br>GAE/g            |
|-------------|-----------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| Leaves      | <i>G. mangostana</i>  | 4360 ± 230 <sup>a</sup>  | ND                        | 4240 ± 493 <sup>a</sup>   | 20.9 ± 2.4 <sup>a</sup>    |
|             | <i>G. atroviridis</i> | 273 ± 44 <sup>b</sup>    | ND                        | 166 ± 37 <sup>b</sup>     | 2.93 ± 1.33 <sup>b</sup>   |
|             | <i>G. hombroniana</i> | 2910 ± 361 <sup>c</sup>  | ND                        | 2290 ± 166 <sup>c</sup>   | 12.6 ± 3.5 <sup>c</sup>    |
| Pericarps   | <i>G. mangostana</i>  | 10600 ± 984 <sup>a</sup> | 29.7 ± 2.9                | 12700 ± 2490 <sup>a</sup> | 56.4 ± 7.2 <sup>a</sup>    |
|             | <i>G. atroviridis</i> | 33.3 ± 4.7 <sup>b</sup>  | ND                        | 19.5 ± 4.5 <sup>b</sup>   | 0.139 ± 0.049 <sup>b</sup> |
|             | <i>G. hombroniana</i> | 1840 ± 256 <sup>c</sup>  | ND                        | 2050 ± 406 <sup>c</sup>   | 9.54 ± 1.30 <sup>c</sup>   |
| Pulps       | <i>G. mangostana</i>  | 83.8 ± 8.7 <sup>a</sup>  | ND                        | 35.3 ± 5.0 <sup>a</sup>   | 0.400 ± 0.058 <sup>a</sup> |
|             | <i>G. atroviridis</i> | 122 ± 12 <sup>b</sup>    | ND                        | 100 ± 15 <sup>b</sup>     | 0.589 ± 0.096 <sup>b</sup> |
|             | <i>G. hombroniana</i> | 152 ± 4 <sup>c</sup>     | ND                        | 78.5 ± 10.1 <sup>c</sup>  | 0.800 ± 0.153 <sup>c</sup> |

#### e. Aktivitas Biologi *Garcinia mangostana* L

##### 1) Aktivitas Antioksidan

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *Garcinia mangostana* L mempunyai aktivitas antioksidan *in vivo*. Yu *et al* (2006) melaporkan bahwa komponen fenol *Garcinia mangostana* L mempunyai aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) yang kuat (Yu *et al.*, 2007). Dungir *et al*, 2012 melaporkan bahwa aktivitas ekstrak fenolik kulit buah manggis sebagai penangkal radikal bebas DPPH diketahui dari nilai IC<sub>50</sub> yang kecil (Dungir, Katja and Kamu, 2012). Susy Tjahjani *et al*, 2014 melaporkan hasil penelitiannya bahwa aktivitas antioksidan *Garcinia mangostana* L Rind dalam berbagai substrat antara lain ekstrak etanol GMR 96 %, ekstrak etanol GMR 70%, *hexane*, *ethylacetate*, *butanol*, dan air; dalam penangkapan radikal bebas DPPH, aktivitas *superoxide Dismutase* (SOD) dan status antioksidan total (TAS) disimpulkan bahwa produk *Garcinia mangostana* L Rind mempunyai potensi antioksidan (Tjahjani *et al.*, 2014). Selain aktivitas penangkapan radikal DPPH, juga tes reduksi NBT (*nitroblue tetrazolium dye*) *Garcinia mangostana* L dapat mengurangi produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*) secara signifikan (Traidej and Surassmo, 2007). Yan-Yun Ding, *et al*, 2019 melaporkan dalam penelitiannya bahwa produksi ROS dapat diturunkan melalui penurunan pembentukan dengan *downregulation* jalun NAMPT/NAD (*nicotinamide phosphoribosyl transferase* / *nicotinamide adenine dinucleotide*) sehingga menurunkan viabilitas sel A594 (Ding *et al.*, 2020). Menggunakan *ferric thiocyanate* (FTC), aktivitas anti oksidan dari sampel dalam menghambat peroksidasi asam linoleik diketahui dengan metode tiosiana. Aktivitas antioksidan xanthones ditemukan  $\gamma$ -mangostin lebih kuat aktivitas oksidatifnya dibandingkan dengan BHA dan  $\alpha$ -tokoferol (Yu *et al.*, 2007).

Tianhua Fu *et al*, 2018 melaporkan bahwa alfa mangostin menurunkan cedera patologik hati yang diinduksi dengan *lipopoly saccharide/D-galactosamine* (LPS/D-GalN), dan menurunkan kadar *malaondialdehyde* (MDA) di hati, *serum alaninie aminotransferase* (ALT), *aspartate transaminase* (AST) dan sitokin inflamasi serta pemulihan aktifitas *hepatic glutathione* (GSH), *superoxide dismutase* (SOD), *catalase* (CAT) (Fu *et al.*, 2018). Penelitian lain menunjukkan bahwa ekstrak methanol dapat menurunkan MDA di hati (Febriane *et al.*, 2015).

*Garcinia mangostana* L selain mengandung xanton juga mengandung vitamin dan mineral Manganese (Mn), Magnesium (Mg), dan Zinc (Zn). Zinc mempunyai khasiat anti-oksidan dan anti-inflamasi, fungsi sebagai anti-oksidan melalui berbagai mekanisme antara lain, Zinc sebagai penghambat *Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) oksidase dengan hasil penurunan pembentukan ROS. Zinc juga sebagai kofaktor *enzyme superoxide dismutase* (SOD), yang mengkatalisasi dismutasi  $O_2^-$  ke  $H_2O_2$ .

Zinc berkompetisi dengan ion  $Fe^{++}$  dan  $Cu^{++}$  untuk berikatan dengan protein dan membran sel, menggantikan ion redox aktif yang memproduksi OH dari  $H_2O_2$ . Zinc juga menginduksi pembentukan metalotionein yang kaya dengan sistein dan penangkap ion OH. Zinc mengikat sulhidril (SH) grup melindunginya dari oksidasi. Zinc meningkatkan aktivasi protein antioksidan, molekul, dan enzim antara lain: *glutathione* (GSH), katalase, SOD, dan menurunkan enzim yang memicu oksidasi antara lain: *inducible nitric acid synthase* (iNos) dan NADPH oksidase dan menghambat produk peroksidasi lipid. Zinc meningkatkan regulasi aktivitas *nuclear factor erythroid 2-related factor 2* (Nrf2) dan menurunkan regulasi pembentukan ROS (Prasad, 2014).

Kekurangan magnesium (Mg) dipercaya secara tidak langsung meningkatkan kerusakan biomolekul oksidatif dengan menginduksi

respons stres. Mg memicu katekolamin keluar kalenjar adrenal, sedangkan katekolamin meningkatkan produksi ROS. Mg juga menstimulasi produksi protein fase akut (C reaktif protein). Suplemantasi Mg secara signifikan menurunkan kadar CRP serum (Mazidi *et al.*, 2018).

## 2) Aktivitas Anti-inflamasi

Efek anti-inflamasi dari  $\alpha$ -mangostin dan  $\gamma$ -mangostin dievaluasi dalam tikus inflamasi model kaki tikus bengkak yang diinduksi dengan *carrageenan*, perlakuan  $\alpha$ -mangostin koral menghambat dalam tiga jam dibanding dengan grub control tetapi tidak ada efek dengan  $\gamma$ -mangostin dengan cara yang sama (Chen *et al.*, 2008). Kedua  $\alpha$ -mangostin dan  $\gamma$ -mangostin mempunyai efek inflamasi yang imbang saat diberikan secara oral pada tikus model asma alergi yang diinduksi ovalbumin (Jang *et al.*, 2012). Pada manusia konsumsi jus mangostin mengurangi kosentrasi CRP (*C-reactive protein*) pada subjek perlakuan dibanding kelompok kontrol plasebo. Efek mangostin pada manusia belum inkonklusi (Udani *et al.*, 2009) (Gutierrez and Failla, 2013).  $\alpha$ -mangostin dan  $\gamma$ -mangostin mengurangi fosforilasi LPS dari *c-Jun N-terminal kinase* (JNK), *extracellular signal-regulated kinase* (ERK), *mitogen-activated proteinkinase* (MAPK)/ERK kinase (MEK), dan p38 (Bumrungpert, 2010).

Tianhua Fu *et al* melaporkan bahwa alpha mangostin menurunkan kadar TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 dan menghambat ekspresi *toll-like receptor 4*(TLR-4) dan aktivasi NF- $\kappa$ B (Fu *et al.*, 2018).

Zinc menghambat aktivasi NF- $\kappa$ B melalui A-20 yang merupakan faktor transaktivasi yang berperan penting dalam penurunan pembentukan IL-1 $\beta$  dan TNF- $\alpha$ , selanjutnya penurunan aktivasi NF- $\kappa$ B menghasilkan penurunan sitokin inflamasi (Prasad *et al.*, 2004).

Magnesium apabila kadarnya berkurang (Mg) dapat menyebabkan inflamasi pada manusia. Mekanisme inflamasi yang sudah dikenal antara lain: aktivasi sel pagositik pembukuan saluran kalsium, aktivasi reseptor *N-methyl-D-aspartate* (NMDA) dan aktivasi NF- $\kappa$ B (Shahi *et al.*, 2019).

f. Kulit manggis yang dipakai dalam penelitian

Kulit manggis yang dipakai dalam penelitian ini di dapat dari Kelurahan girilayu, Kecamatan Matesih, Karanganyar, Jawa Tengah. Ekstrak etanol (Chen *et al.*, 2008) dibuat di laboratorium PAU Yogyakarta. Kandungan alfa mangostin ekstrak tersebut dianalisis dengan HPLC di laboratorium MIPA Terpadu Universitas Sebelas Maret Surakarta didapatkan hasil konsentrasi alfa *mangostin* dalam ekstrak kulis manggis adalah  $18,98 \pm 0,10$  ppm atau  $46,23 \pm 0,24$   $\mu$ M dalam 50 ppm ekstrak.

g. Dosis ekstrak mangostin yang digunakan oleh peneliti sebelumnya.

Tabel 2. 7 Dosis Ekstrak Mangostin

| Peneliti Sebelumnya<br>(Tahun Publikasi) | Hewan Coba       | Dosis yang digunakan                       |
|--|------------------|--|
| (Chivapat <i>et al.</i> , 2011)          | Tikus Wistar     | 10, 100, 500, 1000 mg/kgBB/hari            |
| (Hafisalevi <i>et al.</i> , 2012)        | Tikus Putih      | 200, 400, dan 800 mg/kg/hari               |
| (Arsana <i>et al.</i> , 2013)            | Tikus Wistar     | 0, 50, 100, 200, 300, dan 400 mg/kgBB/hari |
| (Sattayasai <i>et al.</i> , 2013)        | Mice             | 50 dan 100 mg/kgBB                         |
| (Wihastuti <i>et al.</i> , 2014)         | Tikus Wistar     | 200, 400, dan 800 mg/kgBB                  |
|  | Mencit<br>(mice) | 50, 200, dan 400 mg/kg/hari                |



h. Dosis Toksik Ekstrak Ethanol Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana L*)

Hutadilok (2010) melakukan studi toksisitas subkronik mendapatkan bahwa ekstrak *mangostin* dengan dosis 400, 600, dan 1200 mg/kgBB pada tikus Wistar selama 12 minggu tidak menunjukkan perubahan efek pada tingkah laku pertumbuhan dan status kesehatan binatang (Hutadilok *et al.*, 2010). Sedangkan Jujun *et al.*, (2008) memberikan dosis 0, 50, 500, dan 1000 mg/kgBB per hari selama 28 hari, tidak ada efek signifikan pada rata-rata berat gambaran histopatologi organ biokemistri klinis dan parameter hematologi pada tikus yang diobati, sehingga disimpulkan tidak menyebabkan akut atau subakut toksisitas pada tikus (Jujun *et al.*, 2008).

Vishnu *et al.*, (2010) melakukan uji toksisitas pada tikus Wistar dengan dosis ekstrak 1, 2 dan 3 g/kgBB perhari per oral di observasi selama 14 hari. Disimpulkan bahwa dosis tersebut tidak menimbulkan efek toksik yang signifikan (Vishnu *et al.*, 2010).

Pongphasuk *et al.*, (2005) melakukan penelitian pada tikus tentang akut dan subkronik toksisitas pada *Garcinia Mangostana L* terhadap tikus jantan yang diberi makanan 2.5, 5, 10, 20 g/kg selama 30 hari, dan didapatkan  $LD_{50} = 9.37$  g/kg dan  $ED_{50} = 2.51$  g/kg (Pongphasuk *et al.*, 2005). Bunyong *et al.*, (2014) melakukan penelitian test toksisitas EEKGM diberikan makanan orang dengan dosis tunggal sebesar 2000 dan 5000 mg/kgBB selama 14 hari, tidak didapatkan tanda-tanda keracunan (Bunyong *et al.*, 2014).

Uji toksisitas akut maupun kronik ekstrak kulit *Garcinia mangostana L* dikerjakan oleh Chayaburakul *et al.*, untuk uji toksisitas akut menggunakan dosis 200 mg/kgBB ekstrak yang dilarutkan dalam air dan diberikan intragastrik. Uji toksisitas sub kronik menggunakan dosis ekstrak 10, 50, 100 mg/kg BB per hari, diberikan secara oral pada tikus *Sprague Dawley* 10 tikus jantan dan betina selama 3 bulan, kesimpulannya tidak terjadi toksisitas akut maupun sub-kronik (Chayaburakul *et al.*, 2015).

i. Peranan Ekstrak Ethanol Kulit Manggis Terhadap Peradangan

Berbagai penelitian menunjukkan kulit manggis kaya akan antioksidan, terutama antosianin, *xanthone*, tanin, dan asam fenolat (Yunitasari, 2011). Sejalan dengan hal tersebut, penelitian (Rahayu *et al.*, 2015; Diniatik *et al.*, 2016), membuktikan bahwa ekstrak etanol mangostin mengandung antioksidan alami yang mempunyai berbagai aktivitas farmakologik, salah satu diantaranya sebagai antioksidan.

Dosis yang dipergunakan dalam penelitian dengan menggunakan hewan coba ada beberapa pola. (Wihastuti *et al.*, 2014) dalam penelitiannya menggunakan dosis ekstrak sebesar 200, 400, dan 800 mg/kgBB ekstrak etanol *mangostin* pada tikus strain Wistar. Sementara, menggunakan tikus Wistar dengan dosis ekstrak 10, 100, 500 dan 1000 mg/kg/hari selama 6 bulan, didapatkan tidak ada tanda-tanda yang jelas adanya keracunan farmakologik. Hanya saja pada dosis 500 mg/kg/hari berpengaruh pada berat badan dan peningkatan *Alanine Transaminase* (ALT), *Blood Urea Nitrogen* (BUN), dan kreatinin (Chivapat *et al.*, 2011).

j. Efek samping Ekstrak Kulit manggis

Produk campuran herbal alami mempunyai aktivitas potensial yang bagus untuk kesehatan. Sayangnya, sering ada potensi efek samping dari herbal atau suplemen berdasar herbal yang dipercaya berbahaya.  $\alpha$ -mangostin adalah molekul paling poten pada *garcinia mangostana L* dapat menginduksi program kematian sel melalui disfungsi mitokondria. Dilaporkan terjadi kasus dosis laktat yang berat pada laki-laki afroamerika usia 58 tahun, yang minum jus mangostin setiap hari sebagai penurun berat badan selama 12 bulan (leslie and Philip, 2008).

$\alpha$ -dan  $\gamma$ -mangostin adalah xanton alami dari *garcinia mangostana L* mempunyai potensi terhadap platelet dan mempunyai

aktifitas anti platelet antara lain menginduksi perubahan bentuk platelet, menghambat agregasi platelet dan menyebabkan lysis platelet melalui mekanisme yang tergantung kepada ion kalsium. Efek potensial tersebut pada platelet harus dipertimbangkan selama konsumsi mangostin (Liu *et al*, 2015).

## 5. Peradangan Hati dan Fibrosis Hati

Keracunan obat (isoniazid) merupakan salah satu penyebab terjadinya peradangan hati serta fibrosis hati, selain penyebab yang lain, antara lain: hepatitis virus B dan C, alkohol atau steatohepatitis yang berkaitan dengan kegemukan (yakni *Nonalcoholic Steatohepatitis* (NASH)), penyakit karena parasit (shistosomiasis), gangguan metabolik (Wilson's), hemokromatosis, abnormalitas kongenital, autoimun dan kondisi inflamasi kronik lain (sarkoidosis) (Puche *et al.*, 2013).

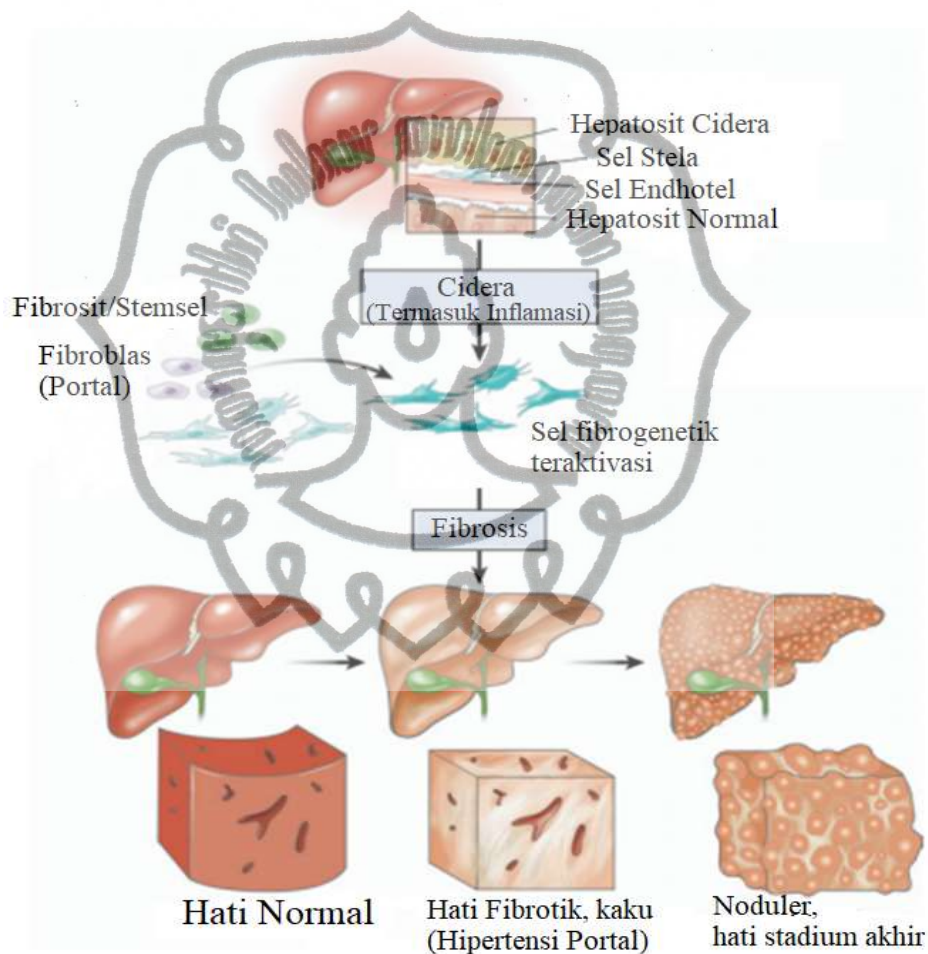
Cidera hati akut maupun kronik, mengakibatkan terjadinya mekanisme kompleks sinyal yang memacu fibrosis. Beberapa sitokin baik yang bersifat otokrin atau parakrin meningkatkan aktivasi atau transdeferensiasi sel stellat menjadi miofibroblas. Sumber miofibroblas selain sel stellat adalah: miofibroblas portal dan miofibroblas dari sumsum tulang, selain itu didapatkan hepatosit dan kolangiosit mengalami transisi dengan EMT (Mallat and Lotersztajn, 2013). Sel stellat menjadi sel efektor utama terbentuknya miofibroblas (Lee and Friedman, 2011).

Terjadinya fibrosis hati, dibagi menjadi beberapa fase, yaitu fase inisiasi, perpetuasi, dalam proses normal lebih lanjut masuk ke fase resolusi (Friedman, 2000). Fase inisiasi merupakan hasil dari stimulasi parakrin, terjadi proses transkripsi dan mulai kaskade respons seluler, merupakan efek terjadinya kerusakan sel hati dan proses homeostasis dari sel-sel disekitarnya dan mulai terjadinya awal perubahan komposisi matrik ekstraselular (ECM). Fase perpetuasi berkaitan dengan proses seluler yang terjadi akan meningkatkan ekspresi sitokin baik dari stimulasi otokrin dan parakrin, begitu juga akan terjadi akselerasi *remodeling* ECM. Fase

perpetuasi- meliputi tahap: proliferasi, fibrogenesis, peningkatan kontraktilitas, pelepasan sitokin proinflamasi, kehilangan retinoid, kemotaksis dan degradasi matriks (Friedman, 2000; Amirudin, 2007). Mekanisme fibrogenesis hati dapat dilihat pada Gambar 2.5

Gambar 2. 5 Fibrogenesis hati(Rockey, 2008)

Keterangan: cedera sel helper mengakibatkan aktivasi sel imun dan



respon inflamasi. Mediator inflamasi dan perubahan di kondisi lingkungan ekstraseluler merupakan pacuan penting untuk aktivasi sel stellat dan fibrogenesis, sekali teraktivasi sel stellat menjadi semakin aktif dengan sendirinya melalui sistem autokrine. Sel stellat menjadi efektor terpenting fibrogenesis disamping sel-sel lain seperti fibroblas portal, fibrosit (Rockey, 2008).

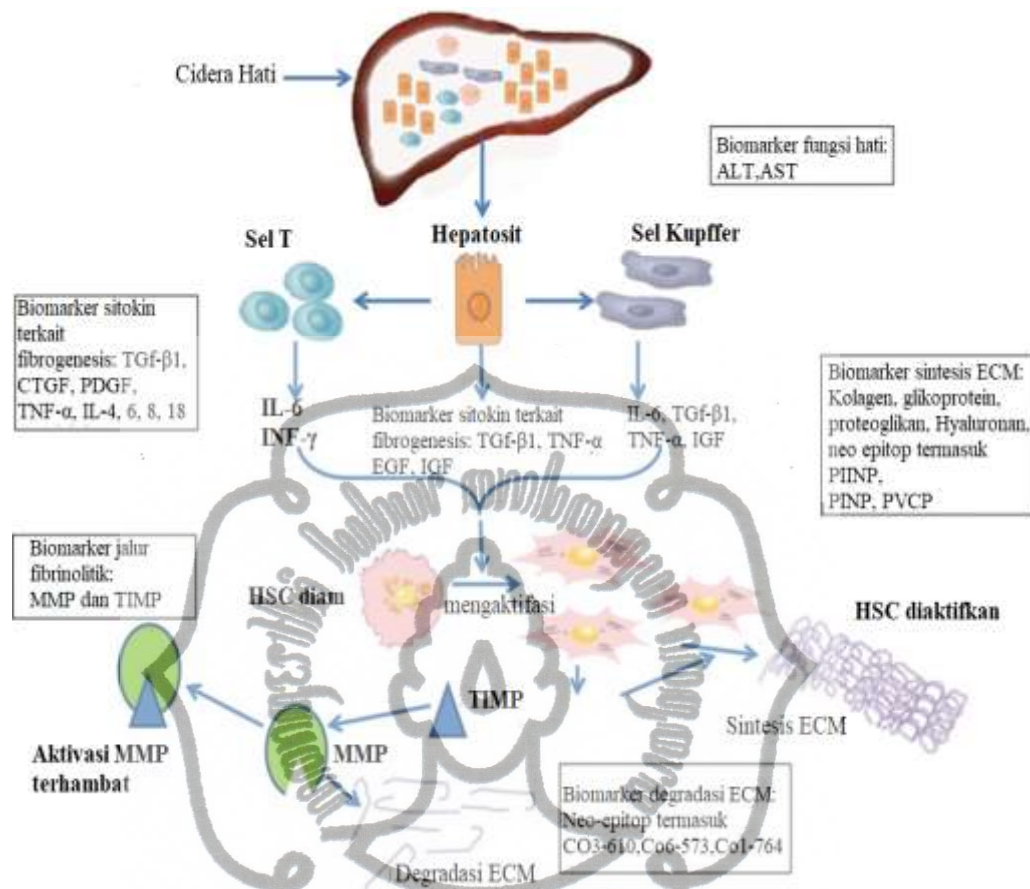
Gangguan pada hati menyebabkan kerusakan pada sel hepatosit dan berlanjut terjadinya fibrosis. Proses yang prominen adalah adanya inflamasi yang melibatkan sel hepatosit, yang akan mengaktivasi sel-sel

imun dan respon inflamasi. Mediator inflamasi, serta terjadinya perubahan di lingkungan luar sel, merupakan rangsangan yang penting untuk terjadinya aktivasi sel stellat yang berlanjut fibrogenesis. Sel stellat yang aktif akan memicu dirinya sendiri tetap aktif dengan berbagai efek sistem otokrin. Selain sel stellat terdapat sel lain yang mempunyai peranan dalam fibrogenesis, antara lain: fibroblast portal, fibrosis (fibrosis dari sumsum tulang) (Rockey, 2008).

Proses lanjutan adanya kerusakan hati, sel stellat yang diam dan banyak mengandung banyak vitamin A mengalami aktivasi menjadi proliferasif, fibrogenik dan miofibroblas yang kontraktile. Selama resolusi dari kerusakan sel stellat dapat kembali menjadi sel stellat yang diam atau terjadi apoptosis (Friedman, 2004).

Adanya pemicu isoniazid terjadi kerusakan hepatosit yang pada gilirannya akan memacu sel Kupffer menjadi aktif. Sel Kupffer yang teraktivasi dapat mencetuskan fibrogenesis melalui pelepasan sitokin dan kemokin yang akan menstimulasi sel stellat. Sel Kupffer juga akan melepaskan ROS, *nitric oxide* yang merupakan protein kemotaktik yang akan mengakibatkan gangguan pada hepatosit dan respons peradangan lebih lanjut. *Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase* dapat memacu produksi ROS pada sel stellat, makrofag dan hepatosit. Gambaran molekuler fibrosis hati dapat dilihat pada Gambar 2.6.





Gambar 2. 6 Mekanisme Fibrogenesis Hati

Keterangan : Cidera hati akan mengakibatkan hipatosit mengeluarkan sitokin inflamasi dan memacu sel T dan sel Kupffer yang masing-masing menghasilkan sitokin inflamasi yang akan mengaktifasi sel stellat Hati (Liu *et al.*, 2012).

Sel Stellat hati yang teraktivasi, menjadi sel dalam bentuk proliferaatif, fibrogenik dan miofibroblas kontraktif yang dapat mensintesis dan mensekresi banyak kolagen bentuk fibrilar, terutama kolagen tipe I dan III. Aktivasi sel stellat dimulai stimulasi parakrin oleh sel-sel sekitarnya, termasuk sel Kupffer, hepatosit dan leukosit, sedangkan sitokin autokrin (TGF-β) dan *Connective Tissue Growth Factor* (CTGF) berperan penting didalam pengaturan dan mempertahankan aktivasi sel. Sel hati yang rusak melepaskan sitokin-sitokin (TGF-β, TNF-α), *Epidermal Growth Factor* (EGF) dan *Insulin-Like Growth Factor* (IGF) yang bertanggung jawab terhadap aktivasi sel Kupffer dan rekrutmen sel-T yang aktif. Sel Kupffer aktif, sel-T dan hepatosit rusak juga melepas

sitokin inflamasi (TNF- $\alpha$ , *Interferon- $\gamma$*  (IFN- $\gamma$ ), IL-6, radikal bebas, *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF), dan CTGF yang selanjutnya memacu aktivasi dan proliferasi sel stellat, yang akan mensekresi ECM (Liu *et al.*, 2012).

a. *Reactive Oxygen Species* (ROS)

Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai molekul atau fragmen molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dalam orbital atom atau molekul. Radikal bebas dari oksigen, ROS. *Reactive oxygen species* diproduksi dalam metabolisme intraseluler normal dan juga dari zat-zat dari luar. Sumber endogen termasuk diantaranya mitokondria, xantin oksidase, metabolisme sitokrom P450, peroksisome dan aktivasi sel inflamasi (makrofag, netrofil, eosinophil). *Reactive oxygen species* berperan penting dalam system biologis, seperti dalam bertahan terhadap mikroorganisme dan sebagai pemicu beberapa mekanisme molekuler dan dalam modulasi ekspresi gen (Uribe, 2012).

Produksi ROS banyak terjadi di mitokondria dalam sel. Pembentukan ROS di dalam mitokondria selain oleh kebocoran elektron kronis dari rantai pernapasan normal, juga dipicu oleh *respiratory burst* di dalam mitokondria, sitoplasma, maupun ROS yang berasal dari luar. Superoksida dikonversi di dalam mitokondria menjadi hidrogen peroksida yang dapat menyebar dan kemudian dikonversi menjadi radikal hidroksil (OH) yang bersifat mutagenic, oleh karena itu produksi ROS dalam mitokondria menjadi hal penting dalam berbagai patogenesis penyakit (Ladiges *et al.*, 2010). *Reactive oxygen species* memicu respons inflamasi melalui aktivasi NF- $\kappa$ B dan *Activator Protein* (AP-1) dan dalam kadar stres oksidatif yang tinggi menginduksi pertubasi mitokondria transfer elektron dan menghasilkan apoptosis atau nekrosis (Gloire *et al.*, 2006).

*Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase* adalah enzim yang terikat pada kompleks membran sel, yang dapat ditemukan

juga pada membran *phagosomes* yang digunakan oleh sel darah putih netrofil untuk menfagosit mikro-organisme. Kompleks NADPH oxidase tidak aktif dalam kondisi normal, akan tetapi teraktivasi selama *respiratory burst (oxidative burst)* suatu kondisi dimana ROS, *superoxide anion* ( $O_2^-$ ) dan *hydrogen peroxide* ( $H_2O_2$ ) dilepas cepat dari berbagai tipe sel (Douglas, Anderson, 1994). Lebih dari delapan tahun terbukti bahwa *isoform* NADPH oxidase leukosit yang menghasilkan *respiratory burst* dalam *granulocytes*, merupakan sumber ROS *predominant cellular* dalam sistem pembuluh darah (Brandes, 2003).

Dismutasi  $O_2^-$  menjadi  $H_2O_2$  dikatalisis enzim SOD, SOD mengandung Zn dan Copper. Zinc diketahui menginduksi produksi metalotionein yang kaya sistein dan penangkap OH yang handal. Zat besi dan Copper mengkatalis produksi OH dan  $H_2O_2$ . Zinc diketahui berkompetisi dan besi dan Cooper berikatan dengan membran sel, menurunkan produksi OH.

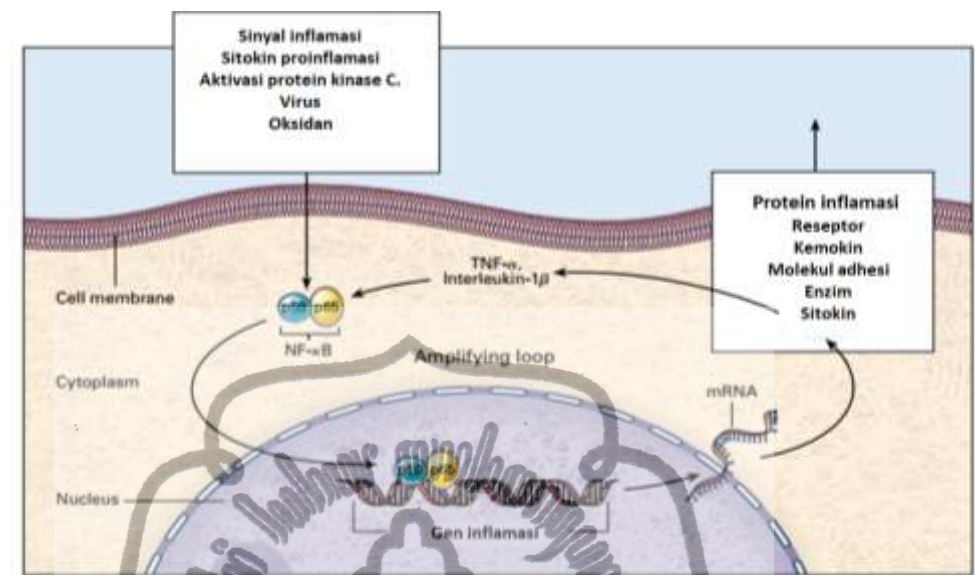
*Tumor necrosis factor-alpha* meningkatkan NADPH yang tergantung produksi *superoxide anion* ( $O_2^-$ ) yang akan beraksi dengan NO membentuk  $ONOO^-$  (Morais *et al.*, 2009). Zinc menghambat induksi TNF- $\alpha$  dan IL-1B terhadap NF-kB melalui aktivasi jalur A20. Di dalam sel yang mendapat stimulasi TNF- $\alpha$  atau LPS, Zn meningkatkan translokasi dan pengikatan pada NF-kB subunit p50 ke DNA spesifik sehingga menyebabkan transkripsi gen spesifik sel target untuk diferensiasi, proliferasi, kematian sel atau produksi sitokin. Dalam hal ini, pengikatan DNA spesifik disisi gen A20 sehingga menginisiasi sintesis protein A20. *Tumor necrosis factor receptor-associated factor 1* (TRAF1) atau *TNF receptor-associated factor 2* (TRAF2) berikatan dengan A20 menghambat fosforilasi komponen IKKa, sehingga menghambat aktivasi NF-kB dan menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  dan IL-1B (Prasad *et al.*, 2004).

Hipomagnesium berkaitan dengan peningkatan kadar stres oksidatif, konsentrasi glutathion rendah, liver SOD rendah, konsentrasi MDA tinggi, konsentrasi Ca intraseluler meningkat, peningkatan produksi asam urat dan radikal hidroksil ( $\text{OH}^-$ ), bereaksi dengan nitric oxide (NO) ----- peroxinitrit ( $\text{ONOO}^-$ ) meningkat. Hipomagnesium dalam jaringan adipose menyebabkan calcium intraseluler meningkat dan melepaskan sitokin inflamasi dan aktivasi NADPH oxidase dengan fosforilasi protein kinase C (PKC), aktivasi NO sintase dan kompleks '*Calcium-dependent calmodulin*' akibatnya stres oksidatif meningkat. Konsentrasi besi yang tinggi menyebabkan lipid peroksidase tinggi (pada segment aorta tikus). Kadar magnesium ekstraseluler yang tinggi menurunkan lipid peroksidase (magnesium mempunyai protektif efek lipid peroksidasi yang dikatalisasi besi) (Beatriz *et al.*, 2016).

b. Nuclear Factor Kappa B dan Inhibitor Kappa-B

*Nuclear factor kappa B* pertama diidentifikasi sebagai regulator ekspresi gen kappa cincin ringan pada limfosit B murine, kemudian ditemukan pada berbagai sel berbeda (Barnes and Karin, 1997). Jalur sinyal NF- $\kappa$ B adalah jalur pertama dan utama yang diaktifkan oleh ROS. *Nuclear factor kappa B* mengontrol ekspresi gen yang terlibat di dalam proses inflamasi dan respon imun lainnya, termasuk TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 dan IL-8. Bagi sel yang berada dalam keadaan istirahat, NF- $\kappa$ B ditemukan terutama di dalam sitoplasma dalam bentuk heterodimer rantai protein Rel, biasanya p65/p50, terikat pada NF- $\kappa$ B sebagai protein I $\kappa$ B yang berfungsi mencegah migrasi NF- $\kappa$ B ke nukleus. Ketika sel diaktifkan, I $\kappa$ B mengalami fosforilasi. Pelepasan NF- $\kappa$ B dari I $\kappa$ B, akan memberi kesempatan NF- $\kappa$ B berpindah ke nukleus dan memulai transkripsi pada gen yang dapat diinduksi oleh NF- $\kappa$ B (Barnes and Karin, 1997). Skema diagram NF- $\kappa$ B sebagai protein regulator dapat dilihat pada Gambar 2.7





Gambar 2. 7 NF-κB sebagai Regulator Inflamasi

Keterangan: *Nuclear factor kappa B* diaktivasi oleh berbagai sinyal inflamasi yang menghasilkan koordinasi gen yang mengekspresikan beberapa sitokin, kemokin, enzim, dan molekul adhesi. Sitokoin IL-1 $\beta$  dan TNF- $\alpha$  keduanya mengaktivasi dan diperkuat oleh NF-κB (Barnes and Karin, 1997).

*Nuclear factor kappa B* dapat diaktifkan oleh berbagai sinyal inflamasi, menghasilkan ekspresi gen antara lain: sitokin, kemokin, enzim dan molekul adhesi. Sitokoin IL-1 $\beta$  dan TNF- $\alpha$  keduanya mengaktivasi NF-κB dan diperbanyak juga oleh NF-κB. Lingkaran saling mempengaruhi yang positif ini akan memperbanyak dan meningkatkan respons inflamasi.

c. *Nuclear factor kappa B* p65 (NF-κBp65)

*Nuclear factor kappa B* p65 juga dikenal dengan nama RelA, adalah salah satu komponen yang membentuk NF-κB keluarga faktor transkripsi. Anggota lainnya antara lain: RelB, c-Rel dan NF-κB1(p50) dan NF-κB2(p52). *Nuclear factor kappa B* p50 dan NF-κBp65 membentuk heterodimer yang biasa ada pada 'signaling pathway' NF-κB (Ringelhan *et al.*, 2012).

Bagian dari jalur NF-κB, p65 secara tipikal termasuk dalam respons inflamasi tubuh, yang dapat dipacu oleh radikal bebas, radiasi ultraviolet, TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , *Pathogen Associated Molecular Patterns*



(PAMPs) atau *Lipopolisakarida* (LPS) bakteri. Sel yang tidak terpicu, NF- $\kappa$ B tertahan di dalam sitoplasma karena efek Inhibitor of  $\kappa$ B (Ik $\beta$ ). Inhibitor kappa B alpha dan Ik $\beta$  secara selektif terikat kepada heterodimer p50/p65 dan menutupi *Nuclear Localization Signal* (NLS), mencegah translokasi ke nucleus.

RELA (p65) subunit mempunyai karboksi terminal yang dapat bertindak selaku transaktivator (salah satu bentuk regulasi gen yang meningkatkan ekspresi gen dalam merespon rangsangan). Subunit NF- $\kappa$ Bp65 dapat berpindah antara sitoplasma dan nukleus, dan akan tetap berada di sitoplasma karena ada penghambat IkB. *Reactive oxygen species* endogen dapat mempengaruhi proses ini. *Reactive oxygen species* mitokondria dibutuhkan untuk aktivasi hipoksik NF- $\kappa$ B (Chandel *et al.*, 2000).

d. *Transforming growth factor beta 1* (TGF- $\beta$ 1)

*Transforming growth factor beta 1* merupakan salah satu sitokin yang mempunyai prototype sitokin multifungsi, mempunyai peranan penting di dalam regulasi berbagai proses seluler, termasuk proliferasi, diferensiasi, migrasi dan kematian sel. salah satunya merupakan kunci regulator pembentukan dan perombakan matrik ekstraseluler (ECM). TGF- $\beta$ 1 disintesis oleh berbagai sel, antara lain: sel haematopoietik imatur, sel T dan B aktif, makrofag, neutrophil dan sel dendrit, serta hepatosit dan sel stelat. Dikeluarkan sebagai kompleks prekursor laten (*latent* TGF- $\beta$ 1) dengan *latent TGF- $\beta$  binding proteins* (LTBP). *Transforming growth factor beta 1* menjadi aktif ketika TGF- $\beta$ 1 dibebaskan dari *latency-associated peptide* (LAP) dan dipisahkan dari LTBP melalui pembelahan proteolitik oleh plasmin, ROS, thrombospondin-1, dan asam. *Transforming growth factor beta 1* aktif kemudian terikat pada reseptornya dan berfungsi sebagai autokrin dan parakrin untuk mengarahkan aktivitas biologis dan patologis melalui jalur sinyal yang tergantung dan tidak tergantung Smad. Namun, mekanisme *Smad-dependent* dianggap sebagai jalur utama dalam

banyak proses patofisiologi penyakit ginjal (Lan, 2011). *Transforming growth factor beta 1* memicu Smad2/3 kemudian terjadi fosforilasi Smad 2/3 dan bersamaan dengan Smad4 yang berada di nucleus maupun sitoplasma. Kompleks Smad 2/3 dengan smad4 masuk ke nucleus meregulasi transkripsi gen dan berikatan dengan sekuens DNA atau *cofactors*. Di sisi lain TGF-B1 juga mengaktivasi i-Smad (Inhibitory Smad/ Smad7) untuk memicu regulasi negatif signal mereka (Meng *et al.*, 2013). Sel penyimpan lemak (*Hepatic stellate cells*) hanya mensintesis kolagen tipe 1 dan IV, tetapi tidak mensintesis kolagen tipe III (Clement *et al.*, 1986).

e. *E-selectin*

*E-selectin* juga diketahui sebagai ELAM-1 (*Endothelial Leukocyte Adhesion Molecule* atau *Leukocyte Endothelial Cell Adhesion Molecule 2* (LECAM2); adalah molekul adesi yang diekspresikan hanya oleh sel endotel yang diaktivasi sitokin, dan diperkirakan yang bertanggung jawab terjadinya akumulasi leukosit pada tempat yang terjadi inflamasi dengan bertindak sebagai perantara perlekatan sel ke pembuluh darah (Miyasaka, 1998).

Selama proses inflamasi, *E-selectin* berperan pada bagian penting dalam penarikan leukosit ke tempat perlukaan. Sitokin IL-1 dan TNF- $\alpha$  lokal yang dilepaskan makrofag pada jaringan yang meradang memicu ekspresi berlebih *E-selectin* pada sel endotel pada pembuluh darah. Leukosit di dalam darah mengekspresikan ligand yang benar dengan afinitas lemah ke *E-selectin*, juga terhadap di dalam 'shear stress' dari aliran darah, menyebabkan leukosit menggelinding mengikuti permukaan dalam pembuluh darah sebagai interaksi temporer di buat dan dipecahkan. Apabila proses inflamasi terus berlanjut, kemokin yang dilepas dari jaringan lunak yang dipilih dan mengaktivasi leukosit yang menggelinding, yang akan dapat mengikat leukosit. Kemokin akan diproduksi di dalam lapisan intima dan memicu

leukosit untuk migrasi melalui celah antar endotel dan masuk ke ruang subendotel (Cotran and Kumar , 1999; Hansson, 2005).

Leukosit (neutrophil) bermigrasi ke lokasi inflamasi terpengaruh adanya peningkatan ekspresi IL-8 (Waugh and Wilson, 2008). Interleukin-8 diketahui juga sebagai faktor kemotaktik neutrophil, mempunyai fungsi primer menginduksi indotaksis sel target , neutrophil dan sel granulosit lainnya menyebabkan migrasi ke lokasi infeksi (Matsushima, 1994). Aktivasi neutrophil meningkat dengan adanya peningkatan sitokin yang disintesis oleh sel endotel aktif (Takahashi *et al.*, 2001).

Peranan IL-17 yang penting adalah peranannya dalam menginduksi dan memediasi respons pro-inflamasi dengan cara merilis sitokin. Peningkatan ekspresi kemokin akan menarik sel-sel lain termasuk neutrophil ke lokasi inflamasi. Untuk mengevaluasi kemampuan IL-17 untuk secara langsung mengaktivasi neutrophil tikus yang diisolasi distimulasi dengan IL-17 *in vitro* (Laan and Lindén, 2002).

Leukosit di ruang subendotel terdiferensiasi ke makrofag, yang menjadi aktif dengan reseptor 'scavenger' yang dapat menangkap berbagai molekul dan partikel yang membawa *pathogens-like molecular pattern*; sehingga dapat mengenali endotoksin bakteri, fragment sel yang apoptosis, partikel LDL teroksidasi; semua akan diambil dan dihancurkan melalui jalur ini. Makrofag aktif ini juga akan melepaskan sitokin inflamasi, kemokin, oksigen dan nitrogen radikal dan molekul inflamasi lainnya yang menyebabkan inflamasi dan kerusakan jaringan (hepatosit nekrosis) (Hansson, 2005).

#### f. Kolagen Tipe 1

Kolagen adalah protein yang banyak dijumpai pada makhluk hidup membentuk kerangka ekstraseluler pada semua makhluk multiseluler. Tanpa kolagen makhluk hidup akan menjadi tumpukan sel. Kolagen terdiri atas paling tidak 25 molekul yang bervariasi diurutkan asam amino pada ikatan 3 alpha, 4 kategori mayor kolagen adalah kolagen berbentuk fibril, berhubungan dengan fibril, membentuk *network*, kolagen transmembran (Cotran and Kumar, 1999; Gartner and Hiatt, 2015). Kolagen tipe 1 merupakan kolagen fibrillar yang berperan penting pada sinyal *Epidermal Growth Factor* (EGF) hepatosit dan mempunyai implikasi penting dalam hal mempertahankan homeostasis yang berhubungan dengan penyakit fibrosis (Fassett *et al.*, 2006).

*Transforming growth factor beta* 1 menstimulasi deposisi kolagen (Johnston and Gillis, 2017). Penelitian yang dilakukan Johnston and Gillis (2017) menemukan bahwa pemberian rekombinan human TGF- $\beta$ 1  $15\text{ng ml}^{-1}$  pada fibroblas jantung ikan *trout* menyebabkan peningkatan kolagen total pada 48 jam pertama dan 72 jam berikutnya dan meningkatkan protein kolagen tipe 1 setelah 7 hari (Johnston and Gillis, 2017). *Transforming growth factor beta* 1 meregulasi kolagen tipe 1 melalui ekspresi COL1A1 *promoter demethylation* (Pan *et al.*, 2013).

#### g. Jaringan Fibrosis

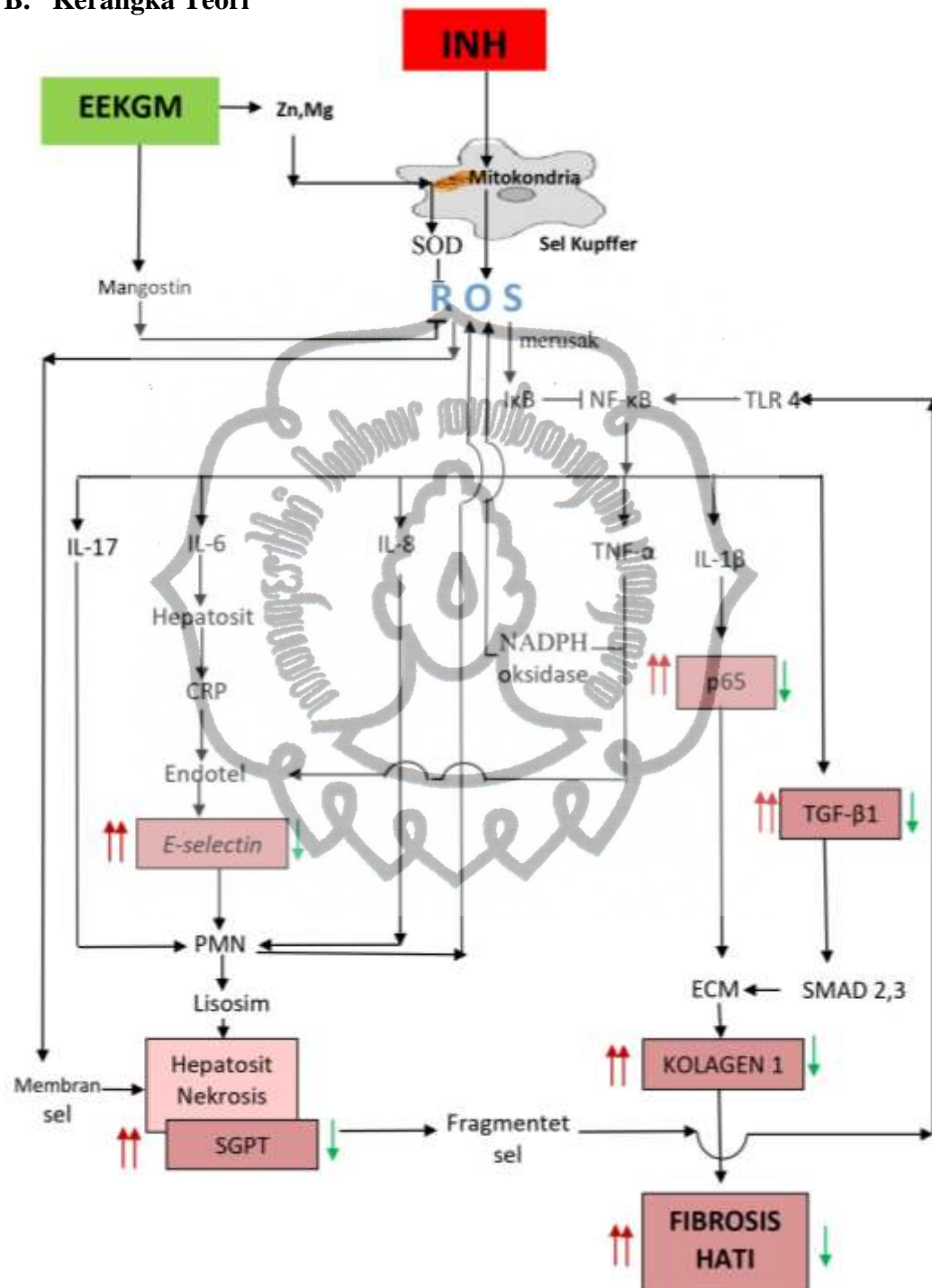
Fibrosis karakteristiknya adalah akumulasi yang banyak dari kolagen dan komponen ECM yang lain. Proses ini disamakan dengan penyembuhan cedera yang menyimpang (Wight and Potter-Perigo, 2011). *Extracellular matrix* pada hati yang normal tersusun dari beberapa kelas seri makro molekul yang termasuk kolagen (tipe I, III, IV, V, dan VI), glikoprotein nonkolagen seperti laminin, fibronectin, dan proteoglikan (Iredale *et al.*, 2013). Komponen ECM dari hati manusia terdiri dari kolagen (61,02%), protein non kolagen (28,81%),

proteoglikan (6,35%), dan protein yang berkaitan dengan ECM (3,81%) (Baiocchi *et al.*, 2016). *Extracellular matrix* selaku pendorong progresivitas fibrosis disamping sel fibrogenesis otonom (Herrera *et al.*, 2018). Akumulasi ECM membentuk jaringan fibrosis yang berlebihan akibat dari produksi kolagen yang dihasilkan dari miofibroblas yang teraktivasi. Deposisi ECM dan remodeling ECM adalah proses yang dinamis selama perkembangan fibrosis. Semakin banyak deposisi ECM semakin tebal fibrosis (Herrera *et al.*, 2018). ECM diproduksi oleh miofibroblas. Miofibroblas berasal dari sel stelat *quiescent* (diam), miofibroblas perivaskular atau portal (Schuppan, 2015). Pembacaan histopatologi fibrosis hati dengan pengecatan *Tricome Mason.*, menggunakan skala ishak atau metavir (Bedossa, 1996; Goodman, 2007).

Jenis sistem skoring untuk menilai tingkat fibrosis hati bermacam-macam, tetapi skor yang direkomendasikan adalah skor menurut METAVIR, yaitu: F0: tidak ada fibrosis, F1: fibrosis ringan (gambaran portal fibrosis tanpa septa), F2: fibrosis sedang (sedikit tautan maupun jaringan fibros), F3: fibrosis berat (portal fibrosis dengan banyak septa), F4: gambaran sirosis, nodul parenkimal dikelilingi septa fibrotik dan kerusakan arsitektur hati ( Poynard *et al* 1997., Amirudin, 2007, Li *et al.*, 2018). Penilaian stage fibrosis hati digunakan untuk memperkirakan respon terapi, memberikan terapi sesuai kebutuhan, memperkirakan waktu terjadinya sirosis hati dan menentukan kapan pemerian terapi anti fibrosis (Amirudin, 2007).



## B. Kerangka Teori



Gambar 2. 8 Kerangka teori

Keterangan:

→ : mengaktivasi

⊥ : menghambat

↑ : meningkatkan

↓ : menurunkan

*commit to user*

□ : variabel yang diteliti

**Penjelasan Kerangka Teori:**

Isoniazid mempengaruhi langsung makrofag dalam hal ini bertindak langsung sebagai APC sehingga makrofag menjadi aktif dan menghasilkan ROS yang meningkat. *Reactive oxygen species* akan merusak I $\kappa$ B sehingga NF- $\kappa$ B mengalami translokasi dari sitoplasma ke nukleus makrofag dan bertindak sebagai faktor transkripsi makrofag akan mengekspresikan sitokin inflamasi IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ . Makrofag yang aktif juga akan melepaskan sitokin profibrogenetik diantaranya *Transforming Growth Factor- $\beta$ 1* (TGF- $\beta$ 1). *Tumor necrosis factor-alpha* dan IL-1 $\beta$  mempunyai sifat autokrien memacu peningkatan ekspresi NF- $\kappa$ Bp65. Ekspresi TNF- $\alpha$  yang meningkat akan memicu terjadinya disfungsi endotel. *Tumor necrosis factor-alpha* menginduksi produksi ROS diperantarai NADPH oksidase. *Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* bertindak sebagai substrat NADPH oksidase. Produksi ROS meningkat akan terjadi inflamasi. *Tumor necrosis factor-alpha* mengaktifkan sel endotel di area inflamasi, menstimulasi ekspresi *e-selectin* setelah beberapa jam bersama dengan molekul adhesi sel seperti *VCAM-1*, *ICAM-1*. *E-selectin* akan memicu homing leukosit PMN, adhesi dan migrasi ke dalam ruang subendotel. Leukosit PMN tertarik dan melakukan migrasi ke lokasi inflamasi juga akibat dari peningkatan ekspresi IL-8 dan IL-17. Leukosit PMN akan mengekspresikan lisosim. Lisosim merupakan enzim proteolitik yang kuat sehingga dapat menyebabkan nekrosis sel. Nekrosis sel hepatosit terjadi juga karena peranan TNF- $\alpha$  bersama dengan IL-1, IL-6, dan IFN- $\gamma$  memperberat nekrosis hati. Cidera hati dan kerusakan sel hati akan menyebabkan perubahan transaminase.

Sel-sel hati yang rusak akan melepaskan DAMP. *Damage associated molecular pattern* dapat memicu dan memperluas inflamasi steril yang berkontribusi pada fase awal cidera hati. DAMP dapat mengaktifasi makrofag dengan mengikatkan diri pada membrane

makrofag melalui TLR4. Melalui jalur klasik menyebabkan IKK complex (IKK $\alpha$ , IKK $\beta$ , IKK $\gamma$ ), memfosforilasi I $\kappa$ B sehingga NF- $\kappa$ B heterodimer (p50:p65) bebas masuk ke nukleus mempengaruhi transkripsi DNA.

*Transforming growth factor beta 1* memicu terbentuknya jaringan fibrosis melalui jalur signal TGF- $\beta$ 1/ SMAD. TGF- $\beta$ 1 yang matang terikat kompleks reseptor permukaan sel tipe 1 dan tipe 2, TGF- $\beta$ 1 mengaktifasi reseptor TGF- $\beta$  tipe 1 (T $\beta$ RI) kinase mengakibatkan fosforilasi SMAD2 dan SMAD3. Selanjutnya kompleks oligomer dengan SMAD4 yang akan translokasi ke nukleus dan meregulasi gen target. *Transforming growth factor beta 1* dapat menginduksi ekspresi kolagen tipe 1 (Pan *et al.*, 2013) . Kolagen merupakan komponen terbesar (61,02 %) pada hati manusia kolagen tipe 1 salah satu tipe kolagen di hati manusia selain tipe 3, 4, 5, dan 6. Fibrosis hati merupakan akibat dari deregulasi fisiologis perbaikan cedera hati, hasilnya adalah produksi ECM berlebih terutama kolagen tipe 1 dan pembentukan jaringan parut. Aktivasi miofibroblas untuk menghasilkan kolagen tipe 1 titik penting pada patogenesis fibrosis hati.