

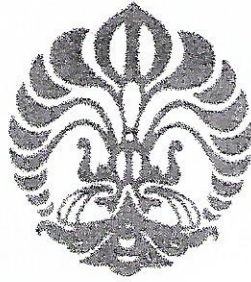
UNIVERSITAS INDONESIA

**KADAR KOLAGEN TIPE IV
PADA PENDERITA *NONALCOHOLIC FATTY LIVER***

TESIS

**ALVINA
4104162018**

**PROGRAM STUDI PATOLOGI KLINIK
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA
JAKARTA
2008**



UNIVERSITAS INDONESIA

**KADAR KOLAGEN TIPE IV
PADA PENDERITA *NONALCOHOLIC FATTY LIVER***

Tesis ini telah diajukan sebagai salah satu syarat untuk mencapai keahlian

Spesialis – 1

Ilmu Patologi klinik

**ALVINA
4104162018**

**PROGRAM STUDI PATOLOGI KLINIK
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA
JAKARTA
2008**

**KADAR KOLAGEN TIPE IV
PADA PENDERITA NONALCOHOLIC FATTY LIVER**

Tesis ini telah diajukan untuk dinilai dan disetujui sebagai salah satu syarat
untuk mencapai keahlian Spesialis -1 Ilmu Patologi Klinik dalam
Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Klinik
pada tanggal 25 November 2008
oleh dr.Alvina

Prof.dr.Marzuki Suryaatmadja,SpPK(K)
Pembimbing I



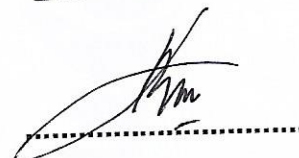
dr.Unggul Budihusodo,SpPD,KGEH
Pembimbing II



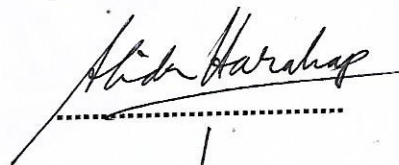
Prof.dra.Arini Setiawati,PhD
Pembimbing III



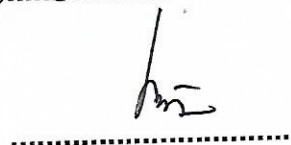
Prof.dr.Riadi Wirawan,SpPK(K)
Penilai



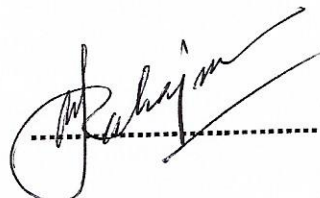
dr.Alida R.Harahap,SpPK(K),PhD
Penilai



DR.dr.Ina S.Timan, SpPK(K)
Penilai dan Kepala Departemen



Prof.dr. Rahajuningsih D. Setiabudy,SpPK(K),DSc
Ketua Program Studi



DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL.....	iv
DAFTAR GAMBAR.....	v
DAFTAR SINGKATAN.....	vi
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
ABSTRAK	ix
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Pemasalahan.....	4
1.3 Kerangka konsep penelitian.....	5
1.4 Tujuan penelitian.....	6
1.4.1. Tujuan umum.....	6
1.4.2. Tujuan khusus.....	6
1.5 Manfaat penelitian.....	6
1.5.1. Manfaat klinis	6
1.5.2. Manfaat akademis	7
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Anatomi hati	8
2.2 Matriks Ekstraselular	9
2.2.1. Kolagen Tipe IV	10
2.3 Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD)	11
2.3.1. Klasifikasi derajat NAFLD	13
2.3.2. Patogenesis NAFLD	15
2.3.3. Pemeriksaan laboratorium, ultrasonografi dan biopsi hati	18
2.4 Fibrosis hati	21
2.4.1. Patogenesis fibrosis hati	22
2.4.2. Petanda noninvasif untuk fibrosis hati	23

BAB III	METODOLOGI PENELITIAN	
	3.1 Rancangan penelitian.....	25
	3.2 Tempat dan waktu penelitian.....	25
	3.3 Subyek penelitian.....	25
	3.3.1. Kriteria masukan.....	25
	3.3.2. Kriteria tolakan.....	25
	3.4 Perhitungan besar sampel.....	25
	3.5 Batasan operasional.....	26
	3.6 Bahan penelitian.....	27
	3.7 Cara kerja	27
	3.8 Alur kerja penelitian	29
	3.9 Pemeriksaan	
	3.9.1. Pemeriksaan pendahuluan.....	30
	3.9.2. Pemeriksaan AST.....	30
	3.9.3. Pemeriksaan ALT.....	31
	3.9.4. Pemeriksaan Albumin.....	32
	3.9.5. Pemeriksaan Gammaglutamil transferase.....	32
	3.9.6. Pemeriksaan Kolagen tipe IV.....	33
	3.10 Pengolahan data	34
BAB IV	HASIL PENELITIAN	
	4.1. Uji Ketelitian dan ketepatan	36
	4.2. Demografi dan karakteristik klinis subyek penelitian	37
	4.3. Kadar kolagen tipe IV	39
	4.4. Korelasi kolagen tipe IV dengan gambaran USG perlemakan hati	40
	4.5. Kadar AST, ALT, GGT dan Albumin	40
	4.6. Korelasi AST, ALT, GGT dan Albumin dengan kolagen tipe IV pada perlemakan derajat ringan, sedang dan berat	46
BAB V	PEMBAHASAN	
	5.1. Kekuatan dan keterbatasan penelitian	49
	5.2. Uji ketelitian dan ketepatan	50

5.3. Demografi dan karakteristik klinis subyek penelitian	50
5.4. Kadar kolagen tipe IV	52
5.5. Korelasi kolagen tipe IV dengan gambaran USG perlemakan hati	53
5.6. Kadar AST, ALT, GGT dan Albumin	54
5.7. Korelasi AST, ALT, GGT dan Albumin dengan kolagen tipe IV pada perlemakan derajat ringan, sedang dan berat	56
 BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1 Kesimpulan	58
6.2 Saran	59
 DAFTAR PUSTAKA	60
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Penyebab perlemakan hati	13
Tabel 2. Derajat steatosis, steatohepatitis dan fibrosis secara histo- patologis	15
Tabel 3. Metode untuk menilai fibrosis hati	24
Tabel 4. Hasil uji ketelitian dan ketepatan pemeriksaan kolagen tipe IV dengan alat Hitachi 912 menggunakan bahan kontrol Seronorm Human	36
Tabel 5. Demografi dan karakteristik klinis subyek penelitian	38
Tabel 6. Uji distribusi kolagen tipe IV (ng/mL) pada perlemakan hati derajat ringan, sedang dan berat	39
Tabel 7. Uji distribusi kadar AST pada perlemakan hati derajat ringan, sedang dan berat	41
Tabel 8. Uji distribusi kadar ALT pada perlemakan hati derajat ringan, sedang dan berat	43
Tabel 9. Uji distribusi kadar Albumin pada perlemakan hati derajat ringan, sedang dan berat	44
Tabel 10. Uji distribusi kadar GGT pada perlemakan hati derajat ringan, sedang dan berat	46
Tabel 11. Hasil analisis hubungan antara kolagen dengan AST, ALT, GGT dan Albumin pada derajat ringan	47
Tabel 12. Hasil analisis hubungan antara kolagen dengan AST, ALT, GGT dan Albumin pada derajat sedang	48
Tabel 13. Hasil analisis hubungan antara kolagen dengan AST, ALT, GGT dan Albumin pada derajat berat	48
Tabel 14. Kadar AST, ALT, GGT pada pria dan wanita penderita perlemakan hati pada berbagai derajat berdasarkan pemeriksaan ultrasonografi	55
Tabel 15. Beberapa kadar AST, ALT, GGT dan Albumin pada penderita NAFLD	55

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Organel sel hati	9
Gambar 2. Bentuk molekul kolagen tipe IV	10
Gambar 3. USG pada hati yang menunjukkan derajat per- lemakan	14
Gambar 4. Patogenesis <i>nonalcoholic fatty liver disease</i> melalui me- kanisme ketidakseimbangan enzim yang mengambil dan mensintesis asam lemak	16
Gambar 5. Patogenesis <i>nonalcoholic fatty liver disease</i> melalui me- kanisme resistensi insulin	17
Gambar 6. Patogenesis perubahan steatosis ke steatohepatitis dan fibrosis melalui mekanisme peroksidasi lipid, induksi sitokin dan induksi fas ligand	18
Gambar 7. Algoritma diagnosis nonalcoholic dan alcoholic fatty liver disease	19
Gambar 8. Gambaran histologi pada penderita NAFLD	21
Gambar 9. Mekanisme terjadinya kerusakan sel hati pada NAFLD yang di- induksi oleh lipid	23
Gambar 10. <i>Scatter diagram</i> kadar kolagen tipe IV	40
Gambar 11. <i>Scatter diagram</i> kadar AST	42
Gambar 12. <i>Scatter diagram</i> kadar ALT	43
Gambar 13. <i>Scatter diagram</i> kadar albumin	45
Gambar 14. <i>Scatter diagram</i> kadar GGT	46

DAFTAR SINGKATAN

ALP	: <i>Alkaline phosphatase</i>
ATP	: <i>Adenosine triphosphate</i>
ASH	: <i>Alcoholic steatohepatitis</i>
AST	: <i>Aspartate aminotransferase</i>
ALT	: <i>Alanine aminotransferase</i>
AOX	: <i>Acyl Coa oxidase</i>
CI	: <i>Confidence interval</i>
CV	: <i>Coeficient variation</i>
d	: <i>Deviation</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
ELISA	: <i>Enzyme Linked Immunoassay</i>
FFA	: <i>Free Fatty Acids</i>
FKUI	: <i>Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia</i>
GGT	: <i>Gamma Glutamyl Transferase</i>
g/dL	: <i>gram per desiliter</i>
HSC	: <i>Hepatic Stellate Cells</i>
HNE	: <i>Hydroxynonenal</i>
IMT	: <i>Indeks Massa tubuh</i>
IPD	: <i>Ilmu Penyakit Dalam</i>
IR	: <i>Insulin Resistance</i>
KTP	: <i>Kartu Tanda Penduduk</i>
LTIA	: <i>Latex Turbidimetric Imunoassay</i>
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>
N	: <i>Jumlah sampel</i>
NAFLD	: <i>Nonalcoholic Fatty Liver Disease</i>
NASH	: <i>Nonalcoholic Steatohepatitis</i>
NCCLS	: <i>National Committee for Clinical Laboratory Standards</i>
ng/mL	: <i>nanogram per mililiter</i>
NHANES	: <i>National Health and Nutrition Examination Survey</i>
MRC	: <i>Mitochondrial Respiratory Chain</i>
PPAR γ	: <i>Peroxisome Proliferators Activated Receptor Gamma</i>
PUFA	: <i>Polyunsaturated Fatty Acids</i>

RIA	: <i>Radioimmunoassay</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RSCM	: <i>Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo</i>
SD	: <i>Standard deviation</i>
SGOT	: <i>Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase</i>
SGPT	: <i>Serum Glutamic Pyruvic Transaminase</i>
TNF- α	: <i>Tumor necrosis factor α</i>
TGF- β	: <i>Transforming growth factor β</i>
USG	: <i>Ultrasonography</i>
U/L	: <i>Unit per liter</i>
VLDL	: <i>Very Low Density Lipoprotein</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

ABSTRACT

THE VALUE OF TYPE IV COLLAGEN IN NONALCOHOLIC FATTY LIVER PATIENT

dr. Alvina, Clinical Pathology Department FKUI-RSCM

Prof. dr. Marzuki Suryaatmadja, SpPK(K), Clinical Pathology Departement FKUI-RSCM

dr. Unggul Budihusodo, SpPD, KGEH, Internal Medicine Departement FKUI-RSCM

Prof. Dra. Arini Setiawati, PhD, Pharmacology Departement FKUI-RSCM

Objective : To investigate the increase of type IV collagen in mild, moderate and severe stage nonalcoholic fatty liver diseases.

Background : The level of type IV collagen was reported to be a non invasive alternative examination for evaluating liver fibrosis. The majority researchs were run in chronic stage nonalcoholic fatty liver diseases, while the mild, moderate and severe stage have not been reported. The aim of this study was to investigate the level of type IV collagen in each stage to aid detection of the change of nonalcoholic fatty liver to more advance stage.

Method : Diagnosis of fatty liver was based on USG examination. All patients had liver USG datas to know the stage nonalcoholic fatty liver. All patients were noalcohol drinker. Type IV collagen was determined in serum samples using latex turbidimetry immunoassay (LTIA) method. The participants were check-up patients in Hepatology Division of Internal Medicine Department RSCM.

Result : We analyzed 90 patients, 62 (68,9%) female and 28 (31,1%) male. As many 9 (28,1%) male and 23 (71,9%) female were mild stage fatty liver; 7 (20%) male and 28 (80%) female were moderate stage fatty liver; 12 (52,2%) male and 11 (47,8%) female were severe stage fatty liver. The value of type IV collagen for mild, moderate and severe fatty liver are 68,80-83,65 ng/mL; 97,16-125,60 ng/mL; 137,57-250,23 ng/mL. There was correlation between the value of type IV collagen and image's fatty liver on USG ($r=0.933$, $p<0.001$).

Conclusion : The value of type IV collagen may be useful to aid diagnosis of fatty liver staging and to aid detection the changes nonalcoholic fatty liver diseases to chronic diseases.

Key words : Nonalcoholic fatty liver, type IV collagen, USG

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Pada akhir-akhir ini, penyakit perlemakan hati nonalkoholik/*nonalcoholic fatty liver disease* (NAFLD) dan stadium yang lebih lanjut yaitu *nonalcoholic steatohepatitis* (NASH) menjadi perbincangan yang menarik di bidang kedokteran. Peningkatan prevalensi penderita diabetes, obesitas, hipertensi, dan hipertrigliseridemia dianggap menjadi penyebab penting terjadinya NAFLD.¹ Saat ini NAFLD menjadi penting dalam implikasi klinis karena merupakan penyebab terbanyak dari peningkatan transaminase di Amerika, peningkatan prevalensi kelainan perlemakan hati dan berpotensi berkembang menjadi sirosis hati dan karsinoma hepatoseluler.²

World Health Organization (WHO) memperkirakan terdapat 200 juta orang penderita obesitas di dunia pada tahun 1995 dan sebesar 300 juta orang pada tahun 2002.³ Sebanyak 60%-95% pasien NAFLD adalah penderita obesitas, 21%-55% pasien NAFLD adalah penderita diabetes melitus, dan 20%-92% pasien NAFLD mempunyai hipertrigliseridemia.⁴ Berdasarkan data *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES III) di Amerika Serikat bahwa 21% pria dan 27% wanita yang berumur 25 tahun atau lebih adalah penderita obesitas dan 7,3% orang dewasa adalah penderita diabetes melitus. Mayoritas penderita NAFLD berumur antara 40-60 tahun dan sebanyak 90% adalah penderita obesitas.^{4, 5}

Berdasarkan data yang dikeluarkan oleh sebuah konsensus NAFLD/NASH di Cebu pada tanggal 29 November 2006, Indonesia mempunyai persentase penderita

NAFLD terbanyak di Asia Tenggara yaitu sebesar 30%, Malaysia sebesar 17%, dan Singapura sebesar 5%.⁶

Pada saat ini istilah yang disetujui untuk semua spektrum kelainan perlemakan hati adalah penyakit perlemakan hati nonalkoholik (NAFLD) karena lebih lengkap dari NASH dan khususnya bila tanpa data histologi.²

Nonalcoholic fatty liver disease dapat mengarah kepada kerusakan hati yang luas mulai dari steatosis sederhana, steatohepatitis, fibrosis lanjut, dan sirosis.⁷ Prognosis NAFLD tahap awal umumnya tidak berbahaya, tetapi proses yang lanjut dari NAFLD seperti adanya *ballooning* hepatosit, inflamasi, dan badan Mallory merupakan petanda proses ke tahap sirosis dan prognosis menjadi buruk.¹

Nonalcoholic fatty liver disease secara histologis terdiri atas empat derajat yaitu derajat 1 adanya infiltrasi lemak di hati, derajat 2 adanya infiltrasi lemak serta adanya inflamasi, derajat 3 adanya infiltrasi lemak dengan degenerasi *ballooning*, dan derajat 4 adanya infiltrasi lemak dengan lesi mirip hepatitis alkoholik dan fibrosis sinusoid, infiltrasi polimorfonuklear dengan atau tanpa hialin Mallory. NAFLD derajat tiga dan empat disebut juga *Nonalcoholic steatohepatitis* (NASH).¹

Penyakit perlemakan hati ini dapat bertambah banyak seiring dengan meningkatnya berat badan pada seorang penderita obesitas. *Nonalcoholic fatty liver disease* merupakan keadaan umum yang dihubungkan dengan sindrom metabolik.⁸ *Nonalcoholic fatty liver disease* terdapat pada 10-24% populasi umum di berbagai negara. Prevalensi penderita NAFLD dapat meningkat 57,5% sampai 74% pada orang obesitas, NAFLD juga mempengaruhi 22,5% sampai 52,8% anak dengan obesitas.^{4, 7} *Nonalcoholic fatty liver disease* dijumpai sebagai penyebab umum dari kelainan hasil pemeriksaan hati pada orang dewasa di Amerika.⁷

Nonalcoholic steatohepatitis (NASH) merupakan kelainan lanjutan dari NAFLD yang dapat berlanjut menjadi fibrosis hati. Kira-kira 15%-40% penderita NASH dapat

berkembang menjadi fibrosis yang merupakan petanda ke arah suatu sirosis. Maka dari itu pengetahuan tentang derajat penyakit NAFLD dari pemeriksaan histologis, pencitraan maupun biokimia akan membantu mengidentifikasi pasien terhadap risiko terjadinya penyakit hati lanjut.^{1,9}

Pencitraan seperti ultrasonografi (USG) merupakan metode yang sederhana untuk mendiagnosis perlemakan hati, yaitu dengan melihat adanya infiltrat lemak di hati.^{8, 10} Pemeriksaan dengan menggunakan USG ini mempunyai sensitivitas 82%-89% dan spesifisitas 93%, tetapi USG ini tidak dapat membedakan secara tepat antara steatosis dan fibrosis hati.^{8, 10, 11}

Pada perlemakan hati nonalkoholik dapat disintesis kolagen tipe IV. Kolagen tipe IV ini merupakan parameter yang dihubungkan dengan derajat perlemakan hati sehingga memberi kesan adanya hubungan antara protein *basement membrane* dan metabolisme lipid walaupun mekanismenya belum diketahui secara pasti.¹² Pada keadaan normal juga diproduksi sejumlah kecil kolagen tipe IV oleh *hepatic stellate cells* untuk membentuk membran dasar. Proses aktivasi *hepatic stellate cells* ditandai dengan diproduksi sejumlah besar komponen matriks ekstraseluler.¹³

Kadar kolagen tipe IV yang meningkat di serum menunjukkan adanya fibrosis.¹⁴ Keadaan kolagen tipe IV di serum ini dilaporkan dapat digunakan sebagai alternatif pemeriksaan yang non invasif untuk menilai fibrosis hati selain tes laboratorium rutin, maupun pencitraan. Data penelitian tentang kolagen tipe IV khususnya pada berbagai derajat penyakit perlemakan hati nonalkoholik masih sedikit, kebanyakan penelitian mengenai kolagen tipe IV dilakukan pada derajat lanjut dari penyakit perlemakan hati nonalkoholik sedangkan data penelitian pada derajat dini belum ada yang melaporkan oleh karena itu peneliti ingin mengetahui perubahan kadar kolagen tipe IV pada derajat ringan, sedang, dan berat dari penyakit perlemakan hati nonalkoholik.

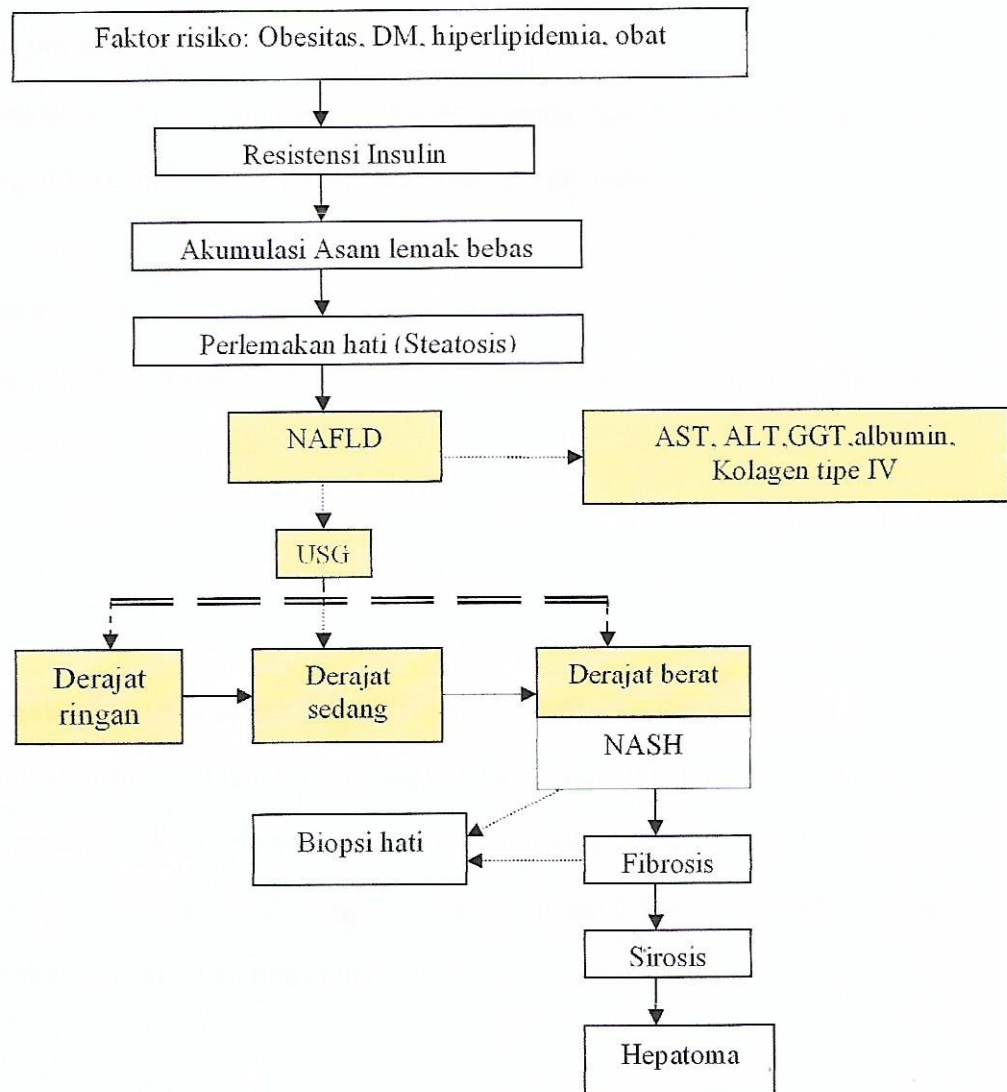
1.2. PERMASALAHAN

Penyakit perlemakan hati nonalkoholik secara pencitraan ada dalam beberapa derajat kelainan seperti perlemakan hati ringan, sedang, dan berat sedangkan secara histologis terbagi dalam derajat 1,2,3,4. NAFLD derajat tiga dan empat disebut juga *Nonalcoholic steatohepatitis* (NASH), stadium yang lebih lanjut dari NASH berupa fibrosis, sirosis sampai hepatoma.

Fibrosis adalah keadaan akumulasi yang berlebihan dari protein matriks ekstraselular termasuk kolagen setelah jejas hati akut atau kronik. Akumulasi protein matriks ekstraselular dapat mengubah susunan hati melalui pembentukan *fibrous scar*. Fibrosis hati merupakan proses yang berhubungan dengan kolapsnya parenkim hati dan diganti dengan jaringan kaya kolagen. Jumlah kolagen total di hati akan meningkat 3-10 kali lipat terutama peningkatan kolagen tipe IV.

Pada keadaan normal disintesis kolagen tipe IV dalam jumlah sedikit dan pada penyakit hati seperti perlemakan hati non alkoholik terjadi peningkatan sintesis kolagen tipe IV, sedangkan pada keadaan penyakit hati lanjut akan disintesis kolagen tipe IV yang berlebihan. Kadar kolagen tipe IV pada penyakit perlemakan hati non alkoholik derajat dini belum banyak diketahui, kebanyakan laporan penelitian pada derajat lanjut dari penyakit perlemakan hati. Oleh karena itu ingin pula diteliti perubahan kadar kolagen tipe IV pada derajat ringan, sedang, dan berat pada perlemakan hati non alkoholik.

1.3. KERANGKA KONSEP PENELITIAN



- Ruang lingkup penelitian
- Cara pemeriksaan
- Terdiri dari

1.4. TUJUAN PENELITIAN

1.4.1. Tujuan umum

Membuktikan adanya peningkatan kadar kolagen tipe IV pada derajat ringan, sedang, dan berat penyakit perlemakan hati nonalkoholik.

1.4.2. Tujuan khusus

1. Mendapatkan kadar kolagen tipe IV pada derajat ringan, sedang dan berat perlemakan hati nonalkoholik.
2. Mendapatkan adanya korelasi antara kadar kolagen tipe IV dengan derajat beratnya gambaran USG perlemakan hati nonalkoholik.
3. Mendapatkan nilai parameter laboratorium lain pada perlemakan hati nonalkoholik yaitu kadar AST/SGOT, ALT/SGPT, GGT dan albumin.
4. Mendapatkan adanya korelasi antara kadar kolagen tipe IV dengan kadar parameter laboratorium *Aspartate aminotransferase* (AST), *Alanine aminotransferase* (ALT), albumin, Gama glutamil transferase (GGT) pada penyakit perlemakan hati nonalkoholik.

1.5. MANFAAT PENELITIAN

1.5.1. Klinis:

1. Bila terbukti, maka kolagen tipe IV dapat digunakan sebagai parameter dini untuk mendeteksi perubahan perlemakan hati nonalkoholik ke arah lebih lanjut.
2. Dapat digunakan untuk membantu diagnosis derajat penyakit perlemakan hati nonalkoholik dengan mengetahui perubahan kadar kolagen tipe IV dan gambaran USG.

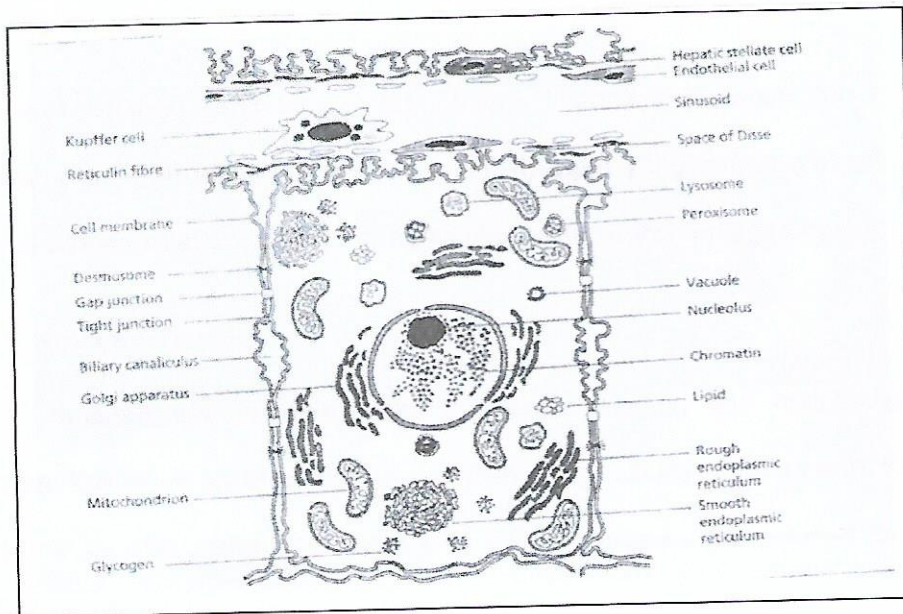
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. ANATOMI HATI

Hati merupakan organ terbesar di dalam tubuh, beratnya 1200 – 1500 gram.¹⁵ Hati mempunyai pengaturan sistem aliran darah yaitu vena porta adalah vena yang membawa darah venous dari saluran cerna yang kaya dengan zat makanan. Vena porta menampung darah dari vena lienalis, vena mesenterika superior, vena mesenterika inferior, vena koronia ventrikuli dan vena parumbilikales Sappeyi. Arteri hepatis, membawa darah arterial ke hepar. Vena hepatis, membawa darah vena keluar dari hepar menuju muaranya pada *fossa venae cavae* pada vena kava inferior.¹⁵

Hepatosit menyusun kira-kira 60% hati. Hepatosit berbentuk polygonal dan berdiameter 30 um. Sinusoid terdiri dari barisan sel endotel yang dipisahkan dari hepatosit oleh ruang Disse (ruang perisinusoidal) yang mengandung matriks ekstraseluler. Sel lain yang ada dalam dinding sinusoidal adalah sel fagosit dari sistem retikuloendotelial (sel Kupffer), dan *hepatic stellate cells* yang disebut juga *Ito cells* atau *lipocytes* seperti yang terlihat pada gambar 1.^{2, 15, 16} *Hepatic stellate cells* (HSC) memiliki sitoplasma yang panjang sampai ke sinusoid dan bersentuhan dengan hepatosit.²



Gambar 1. Organel sel hati.¹⁵

Hepatic stellate cells terletak di dalam ruang Disse.¹⁵ Secara normal *hepatic stellate cells* diam/tidak bergerak dan akan memproduksi sejumlah kecil matriks ekstraseluler seperti kolagen tipe IV untuk membentuk membran dasar.^{13, 17} Jika terdapat jejas pada hati dan HSC terpapar oleh radikal oksidatif reaktif yang berasal dari kerusakan hepatosit, aktivasi sel Kuppfer, dan infiltrasi makrofag maka *hepatic stellate cells* akan berubah secara morfologi menjadi miofibroblas yang memproduksi kolagen tipe I, III, IV.^{16, 17} Proses aktivasi *hepatic stellate cells* ditandai dengan diproduksinya sejumlah besar komponen matriks ekstraseluler. Aktivasi *hepatic stellate cells* dipicu oleh sitokin seperti TGF- β 1 yang mengaktivasi enzim transglutaminase dan sintesis kolagen.¹³

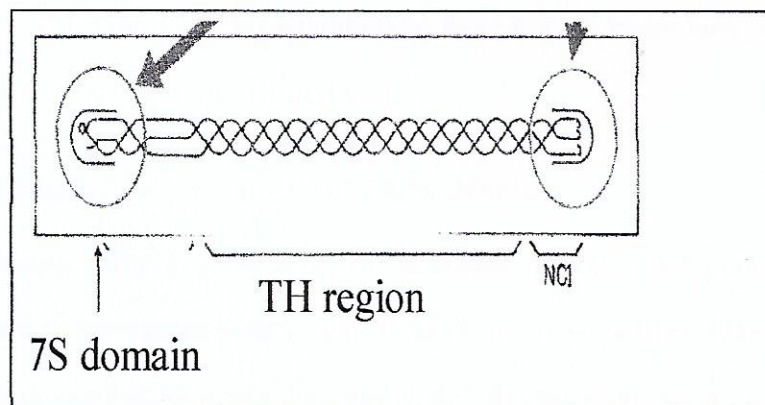
2.2. MATRIKS EKSTRASELULAR

Matriks ekstraselular adalah kesatuan struktur kompleks yang mengelilingi dan menyokong sel yang terdapat pada jaringan mamalia.¹⁸ Pada jaringan hati normal terdapat matriks ekstraseluler yang terdiri dari tiga kelompok makromolekul yaitu kolagen, glikoprotein adhesif dan proteoglikan. Makromolekul yang utama adalah

kelompok kolagen yang terdiri atas kolagen interstisial (kolagen tipe I dan III) serta kolagen membran basal (kolagen tipe IV). Kolagen yang terbanyak pada jaringan hati normal adalah kolagen tipe IV.¹⁶ Matriks ekstraselular ini menjaga struktur normal hati.¹⁹

2.2.1. Kolagen Tipe IV

Kolagen tipe IV merupakan komponen penting dari matriks ekstraselular.²⁰ Kolagen tipe IV merupakan elemen esensial pada *basement membrane*. Kolagen tipe IV bersama laminin membentuk kompleks dengan molekul yang besar pada *basement membrane*.¹⁴ Molekul kolagen tipe IV dapat membentuk jaringan yang kompleks lewat interaksi dengan molekul yang berdekatan melalui ikatan disulfida.¹⁹ Struktur kolagen tipe IV terdiri dari tiga domain yaitu N-terminal 7S domain, *C-terminal globular domain* (NC1) dan bagian pusat *triple helix domain* seperti pada gambar 2. Interaksi antara domain NC1, domain 7S dan juga *triple helix domain* menyebabkan terbentuknya jaringan kolagen tipe IV yang stabil.²¹



Gambar 2. Bentuk molekul kolagen tipe IV. daichii pure chemical

Kadar kolagen tipe IV dapat diperiksa dengan cara sandwich *Enzyme Linked Immunoassay* (ELISA), *radioimmunoassay* (RIA) atau *latex turbidimetric immunoassay* (LTIA) yang menggunakan antibodi monoklonal.^{22, 23} Pada pemeriksaan LTIA, kolagen IV yang terdapat di serum bereaksi dengan lateks yang telah dilapisi *anti human IV*

collagen antibody, sehingga terjadi aglutinasi. Kadar kolagen IV diukur berdasarkan perubahan hasil absorban pada reaksi aglutinasi.²³

Penelitian Sakugawa dengan cara RIA menunjukkan bahwa kolagen tipe IV dan asam hyaluronat mempunyai hubungan yang bermakna dengan derajat fibrosis hati pada pasien NAFLD.²⁴

Penelitian yang dilakukan oleh Takamatsu dkk (1997) seperti yang dikutip oleh Voza menunjukkan bahwa kadar kolagen tipe IV didalam serum meningkat pada proses fibrosis hati.²⁵ Penelitian yang dilakukan oleh Takamatsu dkk serta Hahn dkk dengan cara ELISA seperti yang dikutip oleh Santos menunjukkan adanya hubungan antara kadar kolagen tipe IV dengan derajat fibrosis pada penderita penyakit hati kronik.¹²

Pada penelitian yang dilakukan oleh Xie SB dkk dengan cara RIA didapatkan hasil bahwa kadar kolagen tipe IV serum meningkat pada fibrosis hati.²⁶ Penelitian yang dilakukan oleh Guang Xu dkk dengan cara RIA juga mendapatkan hasil kadar kolagen tipe IV serum meningkat dan mencapai kadar tertinggi pada sirosis hati.¹⁴ Penelitian yang dilakukan oleh Gen Lu dkk mendapatkan hasil bahwa kadar kolagen tipe IV dan asam hialuronat meningkat pada fibrosis hati.²⁷

2.3. NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE (NAFLD)

Nonalcoholic fatty liver didapatkan sebanyak 10-24% dari populasi umum di berbagai negara.⁷ *Nonalcoholic fatty liver disease* merupakan suatu kondisi klinis yang dapat memburuk menjadi penyakit hati terminal.²⁸ Berdasarkan studi populasi dengan menggunakan ultrasound dan tes faal hati cenderung memperlihatkan prevalensi yang meningkat untuk NAFLD berkisar 17-33% dan untuk NASH 5,7-16,5%.² Di Indonesia, Lesmana dkk melaporkan 17 pasien NASH dengan umur rata-rata 42 tahun dan sebanyak 82,4% adalah lelaki, sedangkan Irsan dkk melaporkan prevalensi steatosis dalam populasi umum sebesar 30,6%²⁸

Nonalcoholic fatty liver disease merupakan penyakit hati kronik di negara Barat. Hal ini berhubungan dengan resistensi insulin dan sindrom metabolik.²⁹⁻³¹ Prevalensi NAFLD pada penderita diabetes sebesar 50% dan pada penderita obesitas sebesar 76%. Penderita NAFLD kemungkinan mempunyai angka mortalitas yang tinggi.²⁹

Penelitian yang dilakukan oleh Bahrami tentang penderita NAFLD di negara berkembang mendapatkan adanya perbedaan epidemiologi dan karakteristik.³² Faktor penyebab perbedaan penderita NAFLD di negara berkembang dan negara maju adalah kebudayaan, sosial ekonomi, kebiasaan makan, dan faktor genetik.³² Faktor risiko yang berhubungan dengan NAFLD adalah obesitas, diabetes melitus tipe 2, dan hiperlipidemia.⁷ Sebanyak 67% pasien dengan indeks massa tubuh (IMT) $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ serta lebih dari 90% pasien dengan IMT $\geq 39 \text{ kg/m}^2$ mempunyai kecenderungan mendapat steatosis. Di Amerika sebanyak 8,6 juta orang yang menderita obesitas mendapatkan steatosis.⁸

Banyak pasien NAFLD tidak menunjukkan gejala walaupun beberapa pasien melaporkan adanya kelelahan, perasaan tidak enak, rasa penuh pada abdomen bagian kanan atas. Hepatomegali hanya ditemukan pada 50% subyek pada pemeriksaan permulaan.^{2, 7, 8} Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Bahcecioglu dkk di Turki didapatkan bahwa NAFLD ditemukan pada 46% pasien yang melakukan *general check up* dan didapatkan kenaikan aktivitas enzim hati, 34% pasien selama pengobatan penyakit lain, dan hanya 10% pasien dengan keluhan lelah, perasaan tidak enak di perut serta perdarahan viseral.³³

Penyebab perlemakan hati antara lain obat dan kelainan metabolik. Penyebab makrovesikular steatosis yang berhubungan dengan gangguan keseimbangan sintesis hepatik antara lain adalah obat glukokortikoid, penyakit lipodistrofi, penyakit disbetalipoproteinemia, obat penghambat kalsium, obat tamoxifen, obat methotrexate, sedangkan penyebab mikrovesikular steatosis yang berhubungan dengan defek pada

fungsi mitokondria adalah obat *valproic acid*, obat aspirin, obat tetrasiklin, perlemakan hati pada kehamilan. Penyakit Wolman merupakan penyebab fosfolipidosis hepatik yang berhubungan dengan akumulasi fosfolipid di lisosom. (Tabel 1)⁷

Tabel 1. Penyebab perlemakan hati.⁷

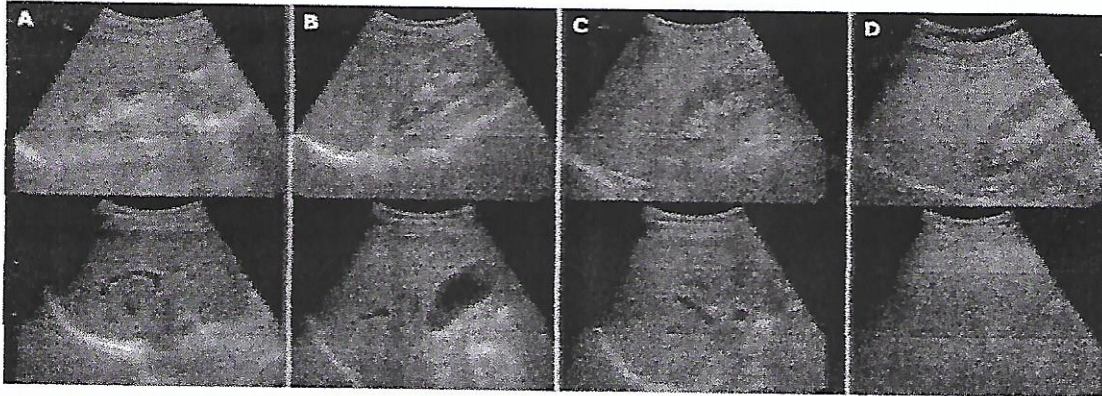
Obat	Metabolik
Glukokortikoid	Lipodistrofi
Aspirin, penghambat kalsium	Disbetalipoproteinemia
Tamoksifen, Tetrasiklin	Penyakit Wolman
<i>Methotrexate, Valproic acid</i>	Perlemakan hati pada kehamilan

2. 3.1. Klasifikasi derajat *Nonalcoholic Fatty Liver Disease* (NAFLD)

Nonalcoholic Fatty Liver Disease dibedakan dalam empat derajat kelainan histologis yaitu derajat I adanya infiltrasi lemak ke hati, derajat II adanya infiltrasi lemak dengan inflamasi, derajat III adanya infiltrasi lemak dengan degenerasi *ballooning*, dan derajat IV adanya infiltrasi lemak dengan lesi mirip hepatitis alkoholis dan fibrosis sinusoidal, infiltrasi polimorfonuklear dengan atau tanpa Mallory hialin. NAFLD derajat tiga dan empat disebut NASH, dengan perkataan lain NASH merupakan bagian dari NAFLD.¹ Istilah NASH pertama kali dideskripsikan oleh Ludwig, dimana ia menemukan adanya lesi *alcoholic steatohepatitis* (ASH) pada pasien yang tidak mengonsumsi alkohol serta tidak ada penyakit hati kronik.³⁴

Berdasarkan pemeriksaan USG, perlemakan hati juga dapat dibedakan menjadi derajat ringan, sedang, dan lanjut.³⁵ Derajat perlemakan diukur berdasarkan peningkatan ekogenisitas hati, dan hilangnya ekogenisitas dinding vena portal.³⁶ Pada derajat ringan terdapat peningkatan sedikit ekogenisitas hati, dan adanya garis *echo* dinding vena portal. Pada derajat sedang didapatkan ekogenisitas dinding vena portal

terutama cabang perifer yang menghilang. Pada derajat lanjut didapatkan ekogenisitas dinding vena portal termasuk cabang utama menghilang. (Gambar 3)^{35, 36}



Gambar 3. USG pada hati yang menunjukkan derajat perlemakan. (A). hati normal. (B). perlemakan hati ringan. (C). perlemakan hati sedang. (D). perlemakan hati lanjut/berat.³⁵

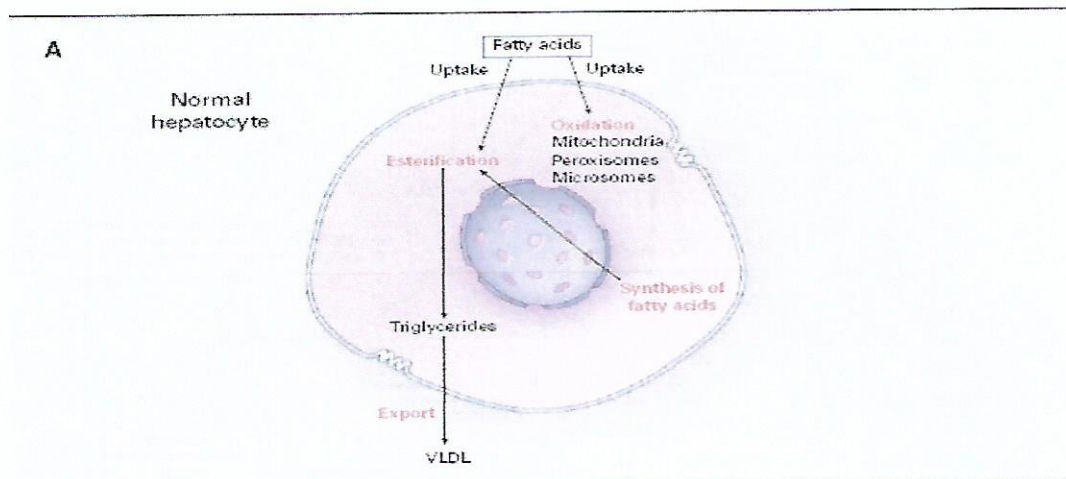
Derajat lesi steatosis, steatohepatitis, dan fibrosis dapat dibagi berdasarkan pemeriksaan histopatologis . (Tabel 2)⁷

Tabel 2. Derajat steatosis, steatohepatitis, dan fibrosis secara histopatologis.⁷

Derajat Steatosis	
Derajat I:	< 33% hepatosit yang terkena
Derajat II:	33%-66% hepatosit yang terkena
Derajat III:	> 66% hepatosit yang terkena
Derajat Steatohepatitis	
Derajat I (Ringan)	
Steatosis:	predominan macrovesicular, meliputi 66% lobules hati.
Ballooning:	adakalanya ditemukan pada zone 3 hepatosit.
Inflamasi lobus:	menyebar, inflamasi akut (sel PMN) ringan dan sesekali inflamasi kronik (sel MN).
Inflamasi portal:	tidak ada atau ringan.
Derajat 2 (Sedang)	
Steatosis:	campuran macrovesicular dan microvesicular.
Ballooning:	jelas pada zone 3.
Inflamasi lobus:	sel PMN yang berhubungan dengan <i>ballooned</i> hepatosit, fibrosis periseluler, inflamasi kronik ringan mungkin ada.
Inflamasi portal:	ringan sampai sedang.
Derajat 3 (Lanjut)	
Steatosis:	meliputi > 66% lobules (panacinar), umumnya steatosis campuran.
Ballooning:	predominan pada zone 3.
Inflamasi lobus:	inflamasi akut dan kronik menyebar, sel PMN pada zone 3 dari ballooning dan fibrosis perisinusoidal.
Inflamasi portal:	ringan sampai sedang
Derajat Fibrosis	
Derajat I:	zona 3 perivenular, perisinusoidal, atau fibrosis periseluler, fokal atau luas.
Derajat 2:	sama seperti diatas dengan fibrosis periportal yang fokal atau luas.
Derajat 3:	<i>bridging fibrosis</i> , fokal atau luas.
Derajat 4:	sirosis.

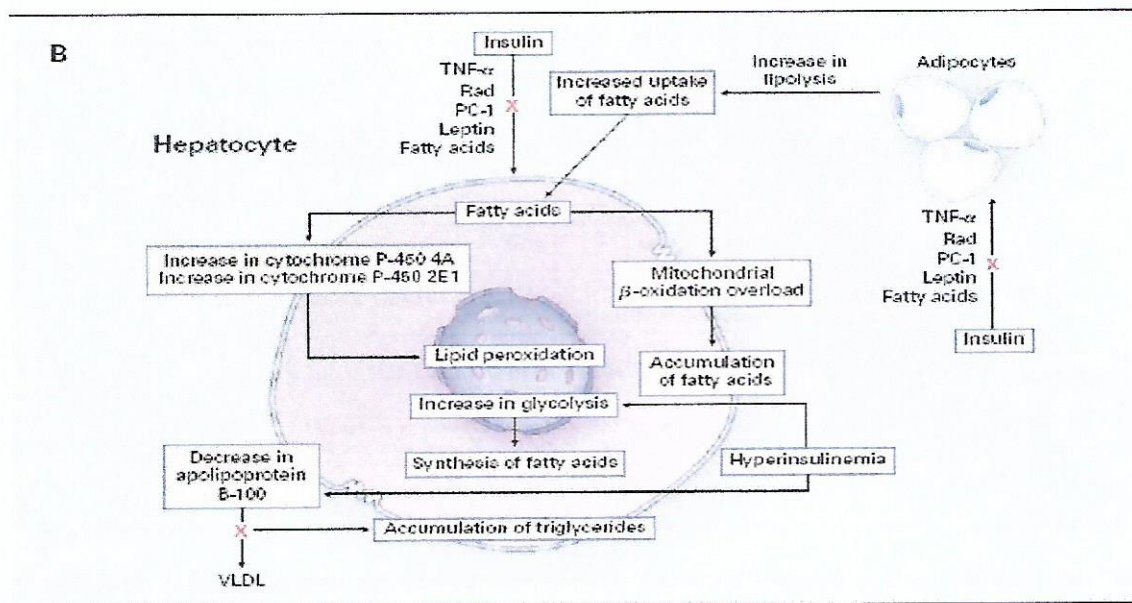
2.3.2. Patogenesis *Nonalcoholic Fatty Liver Disease* (NAFLD).

Penyimpanan lipid merupakan prasyarat terjadinya NAFLD.⁷ Asam lemak hati secara normal diesterifikasi menjadi trigliserida, sebagian trigliserida dikeluarkan dari hepatosit sebagai *very low density lipoproteins* (VLDL). Peningkatan kadar lipid terutama trigliserida di dalam hepatosit pada pasien NAFLD adalah hasil dari ketidakseimbangan antara sistem enzim yang mengambil dan mensintesis asam lemak serta enzim yang mengoksidasi dan mengeluarkan asam lemak. (Gambar 4)⁷



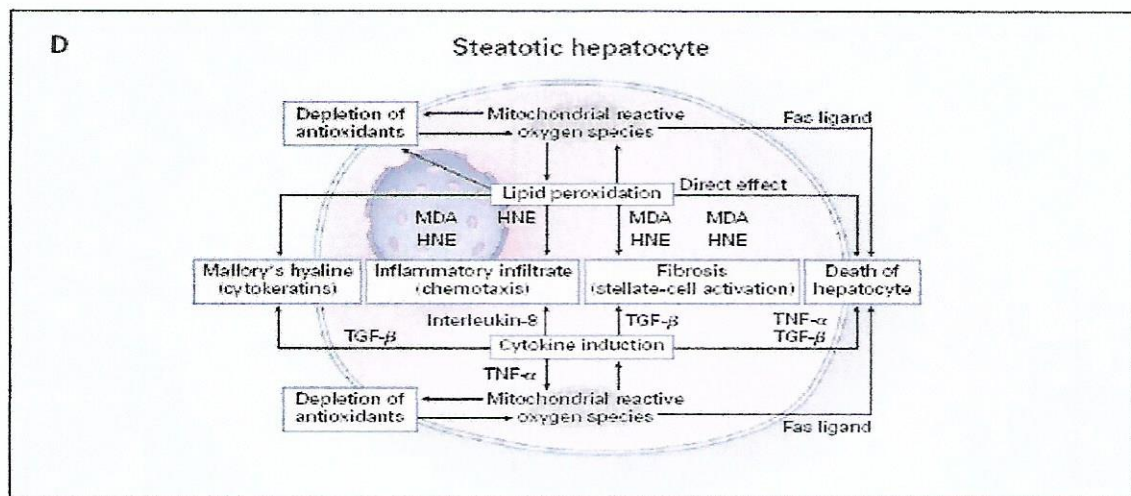
Gambar 4. Patogenesis *nonalcoholic fatty liver disease* melalui mekanisme ketidakseimbangan enzim yang mengambil dan mensintesis asam lemak.⁷

Resistensi insulin juga berperan penting dalam akumulasi lemak di hepatosit melalui dua jalan yaitu lipolisis (yang akan meningkatkan sirkulasi asam lemak), dan hiperinsulinemia. Asam lemak berperan pada oksidasi mitokondrial β yang berlebih sehingga dihasilkan akumulasi asam lemak di dalam hepatosit. Asam lemak merupakan substrat yang akan menginduksi enzim lipooksigenasi mikrosomal yaitu sitokrom P-450 2E1 dan 4A. Kadar sitokrom P-450 2E1 akan meningkat pada pasien steatohepatitis dan menghasilkan radikal oksigen bebas yang mampu menginduksi peroksidasi lipid pada membran hepatosit. Hiperinsulinemia akan meningkatkan glikolisis yang selanjutnya meningkatkan sintesis asam lemak di dalam hepatosit dan menyokong terjadinya akumulasi trigliserida di dalam hepatosit melalui penurunan produksi apolipoprotein B-100 hati. (Gambar 5)⁷



Gambar 5. Patogenesis *nonalcoholic fatty liver disease* melalui mekanisme resistensi insulin.⁷

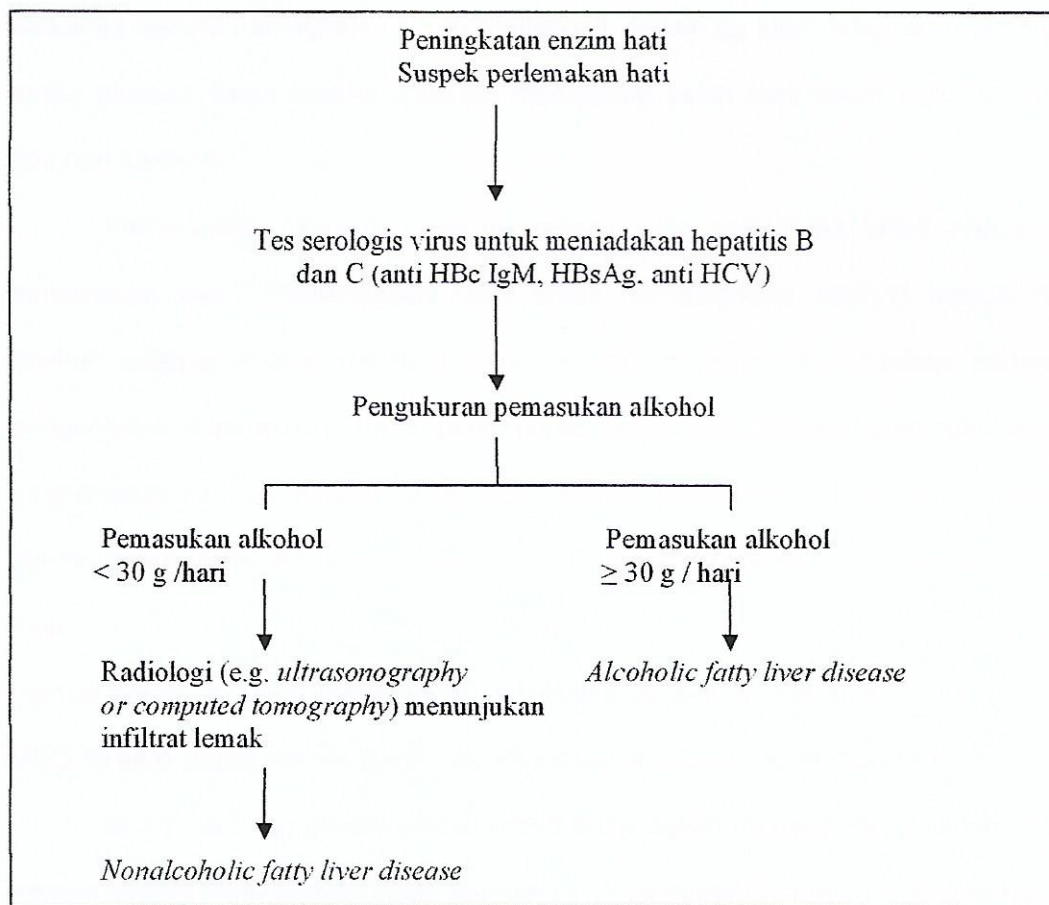
Oksigen reaktif mitokondrial menyebabkan perubahan steatosis ke steatohepatitis dan fibrosis melalui tiga jalan yaitu peroksidasi lipid, induksi sitokin, dan induksi ligand Fas. Oksigen reaktif (ROS) merupakan pemicu peroksidasi lipid yang menyebabkan kematian sel serta menghasilkan malondialdehyde (MDA) dan 4-hydroxynonenal (HNE). MDA dan HNE menyebabkan kematian sel, berperan dalam pembentukan *Mallory's hyaline*, dan mengaktifkan sel *stellate*, serta menaikkan sintesis kolagen. Oksigen reaktif menginduksi pembentukan sitokin TNF- α , *transforming growth factor* β (TGF- β), dan interleukin-8. TGF- β mengaktifkan sel *stellate* untuk mensintesis kolagen. Interleukin-8 adalah *chemoattractant* untuk neutrofil. Oksigen reaktif mitokondrial menyebabkan ekspresi Fas ligand di hepatosit. Fas ligand pada satu hepatosit dapat berinteraksi dengan Fas di hepatosit lain yang menyebabkan kematian hepatosit. (Gambar 6)⁷



Gambar 6. Patogenesis perubahan steatosis ke steatohepatitis dan fibrosis melalui mekanisme peroksidasi lipid, induksi sitokin, dan induksi Fas ligand.⁷

2.3.3. Pemeriksaan Laboratorium, Ultrasonografi, dan Biopsi hati

American Gastroenterological Association merekomendasikan bahwa untuk mendiagnosis NAFLD perlu ditanyakan tentang riwayat penggunaan alkohol.⁸ Untuk mendiagnosis NAFLD maka seseorang harus bebas dari penyakit hati karena alkohol dan hepatitis virus, pemasukan alkohol dalam sehari kurang dari 20 gram untuk wanita dan kurang dari 30 gram untuk laki-laki. (Gambar 7)⁸



Gambar 7. Algoritma diagnosis *nonalcoholic* dan *alcoholic fatty liver disease*.⁸

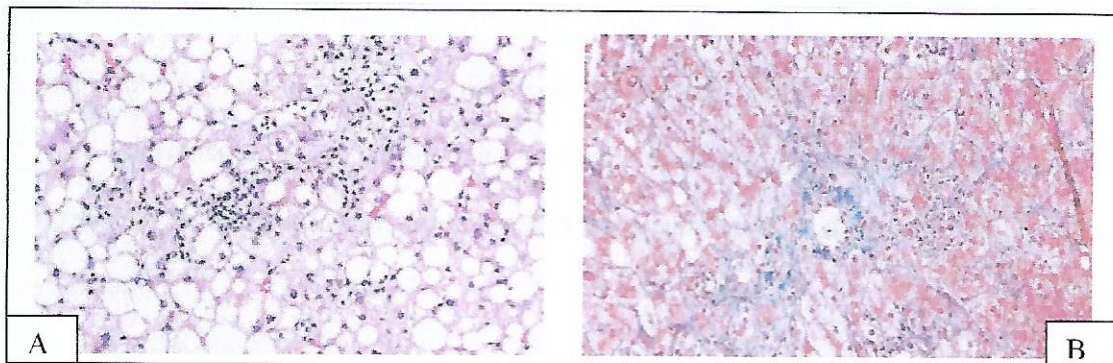
Pada pemeriksaan laboratorium pasien NAFLD dapat ditemukan adanya peningkatan kadar AST, ALT atau keduanya dari ringan sampai sedang. Kadang beberapa pasien datang dengan enzim hati yang normal sama sekali. Peningkatan AST atau ALT mungkin satu sampai empat kali dari batas atas nilai normal. Rasio AST/ALT normal kurang dari 1, tetapi rasio tersebut meningkat pada fibrosis yang lanjut terutama pada pasien dengan sirosis NAFLD.^{7, 8, 37} Fosfatase alkali (ALP) dapat meningkat dua kali dari batas atas nilai normal, *gamma glutamyltransferase* (GGT) juga meningkat. Kelainan laboratorium yang lain seperti hipoalbuminemia, *protrombin time* yang memanjang, dan hiperbilirubinemia mungkin juga ditemukan pada pasien NAFLD yang sudah mencapai NASH.^{7, 8} Dislipidemia dapat ditemukan pada 21-83% pasien dan

biasanya berupa peningkatan kadar trigliserida. Selain itu juga didapatkan peningkatan kadar glukosa darah karena diabetes merupakan salah satu faktor risiko perlemakan hati non alkoholik.³⁷

Pemeriksaan USG merupakan metode yang sederhana untuk mendiagnosis perlemakan hati.¹⁰ Pemeriksaan USG untuk mendiagnosis NAFLD adalah dengan melihat adanya infiltrat lemak di hati.⁸ Lemak di hati menyebabkan peningkatan ekogenisitas (hiperekoik). Pada perlemakan hati ringan terdapat peningkatan sedikit ekogenisitas hati, pada perlemakan hati sedang disertai juga kehilangan ekogenisitas dinding vena porta terutama cabang perifer, dan pada perlemakan hati lanjut disertai juga kehilangan ekogenisitas dinding vena porta sentral.^{29, 36} Pemeriksaan dengan menggunakan USG ini mempunyai sensitivitas 82%-89% dan spesifisitas 93%, tetapi USG ini tidak dapat membedakan secara akurat steatosis dan fibrosis hati.^{8, 10, 11}

Biopsi hati merupakan pemeriksaan baku dalam menentukan inflamasi hati dan derajat fibrosis yang berhubungan dengan penerapan pengobatan dan prognosis. Biopsi hati pada penderita NAFLD merupakan hal yang kontroversial sebab pada biopsi didapatkan 30% pasien mengalami rasa nyeri sementara, 3% pasien mengalami rasa sakit yang hebat. Untuk diagnosis, biopsi hati tidak diperlukan untuk *typical* pasien NAFLD dengan hasil test hati abnormal, faktor risiko klasik untuk NAFLD (obesitas, DM tipe 2, dan dislipidemia) serta pemeriksaan USG yang menunjukkan perlemakan.^{8, 38, 39}

Gambaran biopsi hati pada penderita NAFLD menunjukkan adanya steatosis, campuran infiltrasi sel inflamasi, *hepatocyte ballooning*, *Mallory's hyaline*, dan fibrosis. Steatosis yang dominan adalah adanya lemak makrovesikuler. Infiltrat inflamasi biasanya terdiri dari campuran netrofil dan limfosit. Degenerasi hepatosit ballooning merupakan akumulasi cairan intraseluler yang ditandai dengan pembengkakan sel. *Mallory's hyaline* dapat ditemukan pada 50% pasien NAFLD tetapi bukan merupakan tanda spesifik untuk NAFLD. (Gambar 8)^{7, 29}



Gambar 8. Gambaran histologi pada penderita NAFLD.⁷ Gbr.A. menunjukan steatosis (predominan macrovesicular), infiltrate inflamasi, *mallory'shyaline*, dan hepatosit ballooning. Gbr.B. menunjukan fibrosis perivenular. Pola fibrosis ini merupakan salah satu gambaran karakteristik NAFLD.

2.4. FIBROSIS HATI

Fibrosis hati adalah keadaan kelebihan akumulasi protein matriks ekstraselular yang terjadi pada penyakit hati kronis.^{40, 41} Fibrosis hati berhubungan dengan morbiditas dan mortalitas setelah berkembang menjadi sirosis.⁴⁰ Penelitian yang dilakukan oleh Angulo dkk (1999) mendapatkan hasil bahwa penderita NASH yang sudah lanjut usia, obesitas, dan menderita diabetes melitus mempunyai risiko besar untuk mendapatkan sirosis hati.⁴²

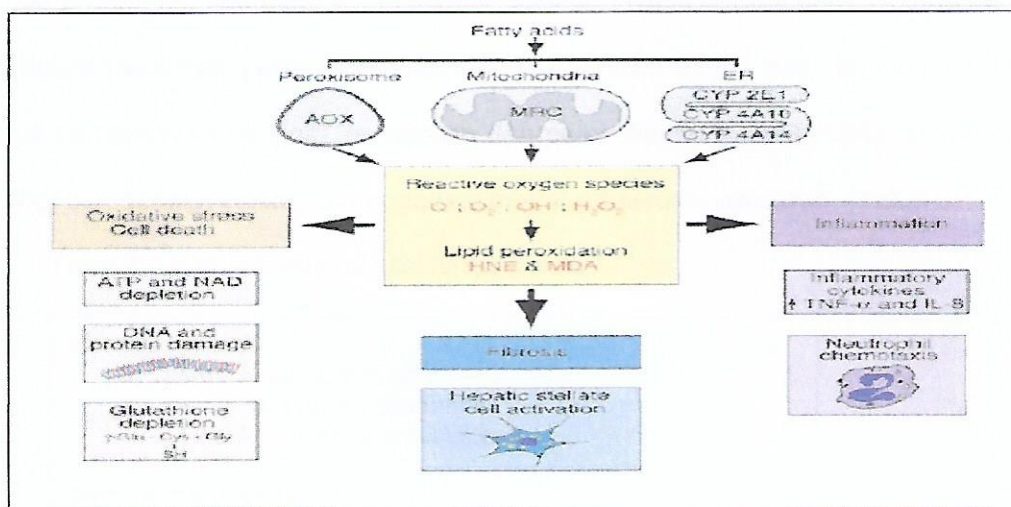
Kira-kira 15%-40% penderita NASH akan berkembang menjadi fibrosis hati.⁴³ Sekarang ini NASH merupakan penyebab umum ketiga timbulnya penyakit hati kronik di Amerika setelah penyakit hati karena alkohol dan hepatitis C.⁴⁴ Patogenesis NASH belum jelas, hipotesis "*two hit*" dari Day dkk masih dianut. *First hit* adalah adanya akumulasi asam lemak bebas dan trigliserida di hati (steatosis), dan peran resistensi insulin. *Second hit* ditandai oleh progresi steatosis menjadi steatohepatitis (NASH) dimana sejumlah faktor berperan dalam proses ini seperti stress oksidan, cedera mitokondria, lipotoksis asam lemak, dan sitokin inflamasi.⁴⁵

Pada fibrosis hati terjadi perubahan jumlah dan kualitas matriks ekstraselular. Jumlah kolagen total di hati akan meningkat 3-10 kali lipat.²⁰ Akumulasi dari protein matriks ekstraselular dapat mengubah susunan hati melalui pembentukan *fibrous scar*. Fibrosis hati berhubungan dengan kolapsnya parenkim hati dan diganti dengan jaringan kaya kolagen.⁴⁰

2.4.1. Patogenesis Fibrosis Hati

Pada NAFLD dapat terjadi kerusakan sel hati yang diakibatkan oleh lipid. Mekanisme yang terjadi yaitu melalui *reactive oxygen species* (ROS) dan hasil peroksidasi lipid. *Reactive oxygen species* (ROS) dibentuk melalui proses oksidatif di dalam sel. Di dalam mitokondria, aktivitas *mitochondrial respiratory chain* (MRC) yang rusak berperan pada pembentukan anion superoksida dan hidrogen peroksida.⁴⁶

Akumulasi asam lemak di sitosol meningkatkan oksidasi asam lemak di peroksisomal dan retikulum endoplasmik. Reaksi oksidasi di peroksisomal dikatalisis oleh *acyl-CoA oxidase* (AOX) yang membentuk hidrogen peroksida melalui pemberian elektron ke molekul oksigen. Oksidasi di retikulum endoplasmik dikatalisis oleh enzim sitokrom P450 (CYP) 2E1, 4A10, dan 4A14. *Polyunsaturated fatty acids* (PUFA) merupakan hasil peroksidasi lipid oleh ROS, selanjutnya hasil peroksidasi PUFA adalah *aldehid seperti trans-4-hydroxy-2-nonenal* (HNE) dan *malondialdehyde* (MDA). ROS dan *aldehid* menginduksi *oxidative stress* dan kematian sel melalui habisnya ATP dan NAD, kerusakan DNA dan protein, serta kehabisan glutathione. ROS dan *aldehid* menginduksi inflamasi melalui sitokin proinflamasi yang berperan pada kemotaksis neutrofil. Sehingga ROS dan hasil dari peroksidasi lipid berperan pada terjadinya fibrosis. Pada fibrosis terjadi aktivitas *hepatic stellate cells* yang mensintesis kolagen. (Gambar 9)⁴⁶



Gambar 9. Mekanisme terjadinya kerusakan sel hati pada NAFLD yang diinduksi oleh lipid.⁴⁶

Proses fibrosis hati berhubungan dengan respons inflamasi dan deposit matriks ekstraselular. Jika terdapat kerusakan pada hati dan regenerasi untuk perbaikan hati gagal maka hepatosit akan diganti dengan matriks ekstraselular termasuk kolagen.⁴⁰ Fibrosis hati berhubungan dengan jumlah dan komposisi matriks ekstraselular. Pada kerusakan hati lanjut terdapat matriks ekstraseluler seperti kolagen tipe IV enam kali lebih banyak daripada hati normal.⁴⁰

Peroksidasi lipid diketahui berhubungan dengan aktivasi sel *stellate* dan sintesis kolagen pada jaringan hati.⁴² HSC yang aktif akan berakumulasi di tempat perbaikan jaringan hati yang rusak dengan mensekresi sejumlah besar matriks ekstraselular.^{40, 47}

2.4.2. Petanda Noninvasif untuk Fibrosis Hati

Biopsi hati merupakan *gold standard* untuk menentukan derajat inflamasi dan fibrosis hati.³⁹ Metode biopsi hati mempunyai keunggulan dan keterbatasan. Keunggulannya adalah untuk menentukan diagnosis, etiologi, dan derajat fibrosis, sedangkan keterbatasannya adalah adanya komplikasi, dan biaya yang relatif mahal.²⁰ Sekarang para klinisi mempunyai banyak pilihan untuk menilai fibrosis hati, baik berupa

metode invasif maupun metode noninvasif. Metode invasif berupa pemeriksaan histologi dan imunohistokimia yang menggunakan bahan dari biopsi hati. Metode noninvasif berupa pemeriksaan serologi, pencitraan dan pemeriksaan genetik. Untuk pemeriksaan serologi dan genetik biasanya menggunakan bahan serum dari darah. (Tabel 3)^{18, 20}

Tabel 3. Metode untuk menilai fibrosis hati.²⁰

Metode Invasif
pemeriksaan histologi
sistem skoring semikuantitatif
pemeriksaan Immunohistokimia
Metode Noninvasif
Pemeriksaan Serologi
- Petanda tidak langsung
- Petanda langsung
- Gambaran sitokin
Pemeriksaan pencitraan
- ultrasonografi
- <i>computed tomography</i>
- <i>magnetic resonance imaging</i>
- elastografi
pemeriksaan genetik

Sekarang ini telah ada perkembangan baru tentang petanda biokimia noninvasif untuk fibrosis hati yaitu petanda langsung yang menggambarkan matriks ekstraselular dan petanda tidak langsung yang menggambarkan fungsi hati.²⁰ Petanda tidak langsung untuk menilai fibrosis hati antara lain rasio AST/ALT. Rasio AST/ALT yang lebih dari 1 mempunyai nilai prediktif untuk fibrosis hati lanjut atau sirosis.²⁰ Petanda tidak langsung ini cukup mudah dan sederhana untuk dikerjakan.⁴⁸

Petanda langsung untuk fibrosis hati antara lain kolagen tipe IV, asam hialuronat.^{20, 25, 48} Kolagen tipe IV dan asam hialuronat adalah petanda langsung untuk fibrosis hati yang berhubungan dengan deposit matriks.²⁰

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Rancangan penelitian:

Desain penelitian adalah potong lintang dan data dilaporkan dalam bentuk deskriptif dan analitik.

3.2. Tempat dan waktu penelitian:

Penelitian dilakukan di Sub Departemen Kimia, Departemen Patologi Klinik, FKUI-RSCM dan Sub Bagian Hepatologi Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI-RSCM. Penelitian dilaksanakan selama bulan April – September 2008

3.3. Subyek penelitian:

Subyek penelitian adalah penderita NAFLD, diambil secara berurutan pada pasien berobat jalan di poliklinik Hepatologi yang memenuhi kriteria masukan.

3.3.1. Kriteria masukan:

- a. Penderita perlemakan hati nonalkoholik pria dan wanita berusia antara 17-70 tahun berdasarkan pemeriksaan USG.⁵
- b. Bersedia mengikuti penelitian dengan menandatangani *informed consent*.

3.3.2. Kriteria tolakan:

- a. Pengguna alkohol.¹²
- b. Penderita hepatitis B dan atau hepatitis C.^{8, 12}

3.4. Perhitungan jumlah sampel:

Jumlah sampel yang diperlukan untuk mengetahui kadar kolagen tipe IV pada berbagai derajat penyakit perlemakan hati nonalkoholik serta hubungannya dengan

gambaran USG dan parameter laboratorium lain ditetapkan berdasarkan rumus besar sampel untuk koefisien korelasi sampel tunggal.⁴⁹

Perkiraan koefisien korelasi (r) ditetapkan sebesar 0,5. Tingkat kemaknaan yang dikehendaki adalah 95% ($z\alpha = 1,96$) dan power yang dikehendaki adalah 80% ($z\beta = 0,842$), bila dimasukkan ke dalam rumus:⁴⁹

$$n = \left(\frac{z\alpha + z\beta}{0,5 \ln((1+r)/(1-r))} \right)^2 + 3$$

$$\text{Maka } n = \left(\frac{1,96 + 0,842}{0,5 \ln((1+0,5)/(1-0,5))} \right)^2 + 3$$

$$n = 29,03 \rightarrow 30$$

Jumlah subyek ditetapkan sebanyak 30 orang untuk masing-masing derajat, sehingga jumlah subyek adalah sebanyak $3 \times 30 = 90$ orang.

3.5. Batasan operasional:

1. Jenis kelamin pria dan wanita serta usia 17-70 tahun didapat berdasarkan keterangan yang terdapat pada Kartu Tanda Penduduk (KTP). Pada perhitungan usia dilakukan pembulatan, apabila < 6 bulan maka usia dibulatkan ke bawah dan apabila ≥ 6 bulan maka usia dibulatkan ke atas.
2. Penderita perlemakan hati berdasarkan:

Pemeriksaan USG dengan penampakan gambaran perlemakan hati.¹²

Pemeriksaan USG dilakukan di Divisi Hepatologi Departemen Ilmu Penyakit Dalam. Perlemakan hati dibagi dalam tiga derajat yaitu derajat ringan, derajat sedang, dan derajat berat.

Derajat ringan: akan dijumpai keadaan hepatomegali dengan peningkatan ekogenitas parenkim hepar *bright liver* dimana kubah diafragma dan seluruh struktur vaskular hati masih dapat diperlihatkan dengan jelas.

Derajat sedang: selain ekogenitas yang makin meningkat pada daerah permukaan hati akan dijumpai kesuraman pada parenkim di bawah daerah permukaan tersebut diatas, diafragma sedikit suram dan struktur vaskular perifer hati mulai sulit dikenali.

Derajat berat: ekogenitas daerah permukaan meningkat dan sebagian besar parenkim hati di bawahnya tampak suram dan sulit untuk identifikasi diafragma dan struktur vaskular hati.

3. Pengguna alkohol disingkirkan bila meminum alkohol > 20 g/hari (kira-kira 1 gelas bir, dan semua jenis alkohol) baik pada peminum alkohol sekarang dan lampau.¹²
4. Penderita hepatitis B dan atau hepatitis C disingkirkan berdasarkan data rekam medis (Hasil pemeriksaan HB_sAg dan anti HCV negatif).
5. Kadar kolagen tipe IV ditetapkan berdasarkan pemeriksaan menggunakan metode *latex turbidimetric immunoassay* dengan kit buatan Daiichi Jepang.

3.6. Bahan penelitian:

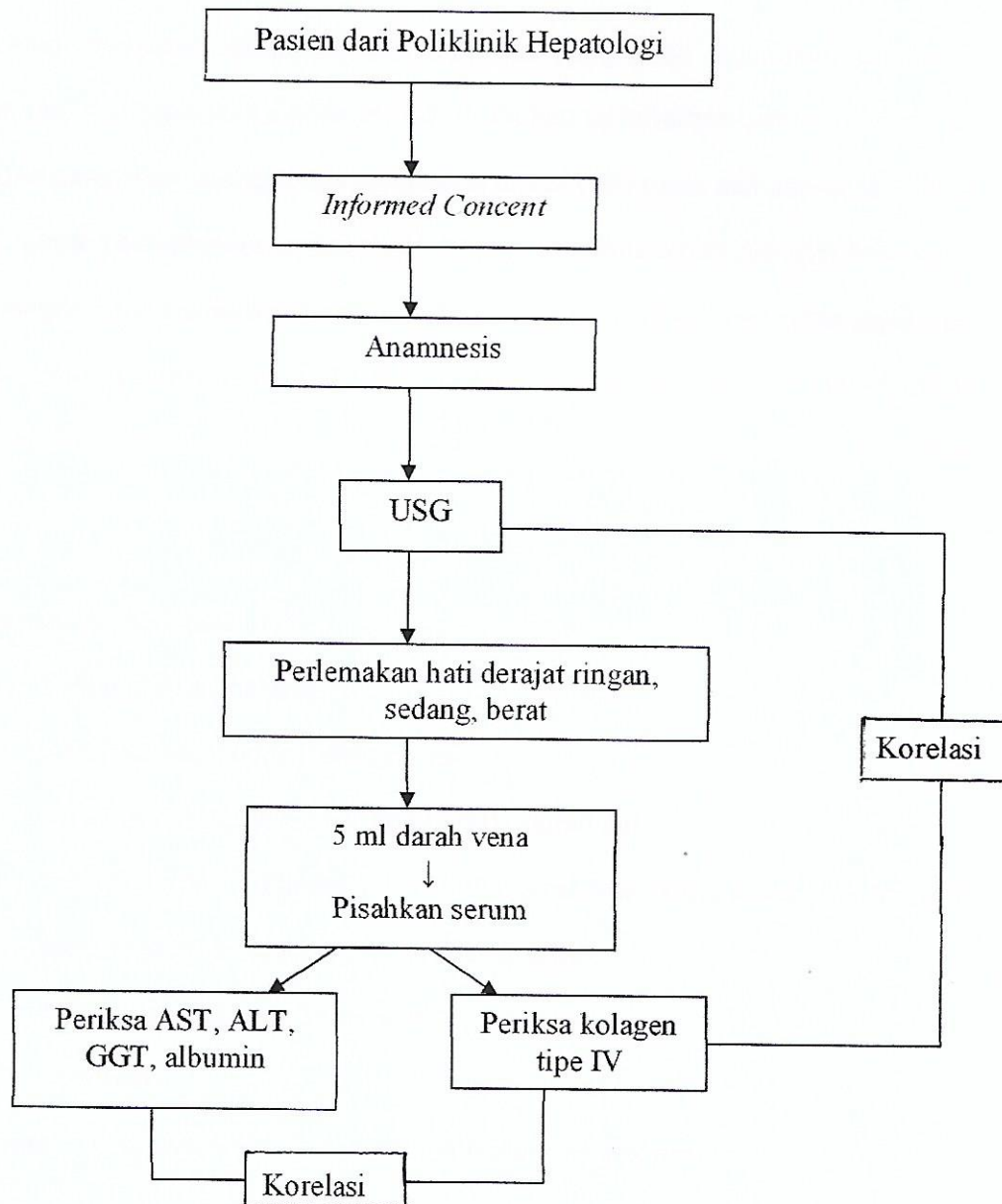
Bahan penelitian berupa 5 ml darah vena yang diambil dari vena cubiti ditampung dalam tabung tanpa antikoagulan.

3.7. Cara kerja

Subyek penelitian yang memenuhi kriteria dipilih secara berurutan dan diberikan penjelasan mengenai penelitian. Setelah itu diminta kesediaannya untuk menandatangani *informed consent* lalu dilakukan anamnesis dan pengambilan data dasar. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan USG yang dikerjakan oleh dokter di Divisi Hepatologi Departemen IPD untuk melihat adanya gambaran perlemakan hati.

Sebelum dilakukan pengambilan darah, pasien duduk tenang selama 15 menit kemudian diambil darah dari vena cubiti sebanyak 5 ml menggunakan tabung tanpa antikoagulan. Serum dipisahkan dari darah tersebut paling lambat 1 jam setelah pengambilan darah. Darah disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit, lalu serum yang didapat dimasukkan ke dalam dua *sample cup eppendorf*. Serum dalam *sample cup eppendorf* pertama digunakan untuk pemeriksaan kadar AST, ALT, albumin, GGT yang dikerjakan langsung setiap hari pengambilan sampel. Serum dalam *sample cup eppendorf* kedua digunakan untuk pemeriksaan kadar kolagen tipe IV. Pemeriksaan kadar kolagen tipe IV dilakukan setelah jumlah sampel terpenuhi / dilakukan secara kolektif. Oleh karena itu serum harus disimpan pada suhu 2-8°C atau pada suhu - 40°C. Kadar kolagen tipe IV dalam serum stabil selama satu minggu bila disimpan pada suhu 2-8°C di lemari es dan stabil selama satu tahun bila disimpan pada suhu - 40°C di lemari pendingin khusus.

3.8. Alur kerja penelitian



3.9. Pemeriksaan

3.9.1. Pemeriksaan pendahuluan

Sebelum penelitian dilakukan, terhadap alat yang akan digunakan dilakukan kalibrasi dengan menggunakan kalibrator, lalu dilakukan uji ketelitian *within run* serta uji ketepatan dari parameter laboratorium yang akan diteliti yaitu pada alat pemeriksa kimia Hitachi 912 untuk pemeriksaan kolagen tipe IV. Uji ketelitian *within run* dan ketepatan dilakukan dengan cara memeriksa bahan kontrol sebanyak lima kali berurutan pada hari yang sama. Untuk pemeriksaan AST, ALT, GGT dan albumin dengan mengikuti uji ketepatan *between day* dengan cara memeriksa bahan kontrol sebanyak satu kali pada hari pemeriksaan penelitian.

3.9.2. Pemeriksaan AST (SGOT)⁵⁰

Alat : Hitachi 912 Analyzer

Metode : AST tanpa *pyridoxal phosphate*

Reagen : AST dari ROCHE lot no. 602 000-01 terdiri dari:

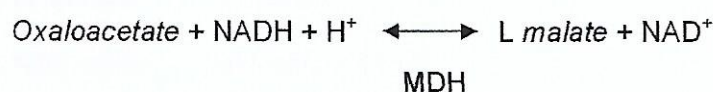
* TRIS buffer: 100mmol/l pH 7,8; L-*aspartate* 300 mmol/l; NADH 0,23 mmol/l; MDH $\geq$ 0,53 U/ml; LDH $\geq$ 0,75 U/ml.

* R2 α *ketoglutarate* 75 mmol/l.

Prinsip : UV test



AST merupakan enzim yang mengkatalisis reaksi keseimbangan. Peningkatan oxaloacetat diukur dalam reaksi berikutnya yang dikatalisis oleh enzim malat dehidrogenase.



NADH dioksidasi menjadi NAD^+ . Penurunan NADH secara langsung sebanding dengan rata-rata pembentukan oxaloacetat dan aktivitas AST.

Linearitas : 4-800 U/L

Nilai rujukan : laki-laki : < 37 U/L

wanita : < 31 U/L

3.9.3. Pemeriksaan ALT (SGPT)⁵¹

Alat : Hitachi 912 Analyzer

Metode : ALT tanpa *pyridoxal phosphate*

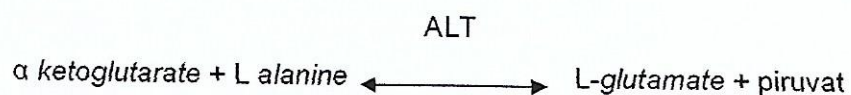
Reagen : ALT dari ROCHE lot no 602 047-01 terdiri dari:

* R1 TRIS buffer (*tris hidroxyethyl-aminomethane*):

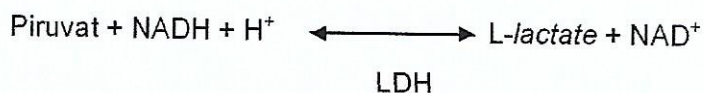
125 mmol/l pH 7,3; L *alanine* 625 mmol/l; NADH 0,23 mmol/l; LDH $\geq$ 1,5 U/ml

* R2 α *ketoglutarate* 94 mmol/l

Prinsip : UV test



ALT adalah enzim yang mengkatalisis reaksi keseimbangan. Peningkatan piruvat diukur dalam reaksi berikutnya yang dikatalisis oleh enzim laktat dehidrogenase/LDH.



Pada reaksi ini, NADH dioksidasi menjadi NAD. Rata-rata penurunan NADH secara langsung sebanding dengan rata-rata pembentukan piruvat dan aktivitas ALT.

Linearitas : 4-600 U/L

Nilai rujukan : laki-laki : < 41 U/L

wanita : < 31 U/L

3.9.4. Pemeriksaan Albumin⁵²

Alat : Hitachi 912 Analyzer

Metode : Albumin BCG

Reagen : Albumin dari ROCHE lot no 600 176-01 terdiri dari:

* R1 berisi sitrat buffer 95 mmol/l, pH 4,1.

* R2 berisi sitrat buffer 95 mmol/l pH 4,1; *bromcresol green* 0,66 mmol/l.

Prinsip : kolorimetrik dengan metode *endpoint*

Albumin sebagai kation dapat berikatan dengan *Bromcresol green* (BCG) yang berperan sebagai anion untuk membentuk kompleks warna hijau biru.

pH 4,1

Albumin + BCG $\xrightarrow{\text{pH 4,1}}$ albumin BCG complex

Linearitas : 1,0 - 7,0 g/dL

Nilai rujukan : 3,4 - 4,8 g/dL

3.9.5. Pemeriksaan *Gammaglutamyl transferase* (GGT)⁵³

Alat : Hitachi 912 Analyzer

Metode : *Gammaglutamyl transferase*

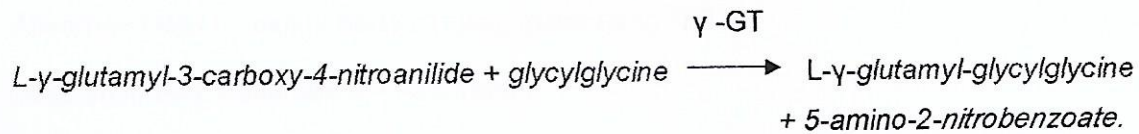
Reagen : GGT dari ROCHE lot no 688 321-01 terdiri dari:

* R1 TRIS buffer 123 mmol/l pH 8,25 (25°C); *glycylglycine* 123 mmol/l

* R2 *acetate buffer* 10 mmol/l pH 4,5 (25°C); L- γ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide 25 mmol/l

Prinsip : *Enzymatic colorimetric*

L- γ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide yang ditambahkan *glycylglycine* dengan bantuan enzim *gammaglutamyl transferase* berubah menjadi L- γ -glutamyl-glycylglycine dan 5-amino-2-nitrobenzoate. Jumlah 5-amino-2-nitrobenzoate yang dilepaskan sebanding dengan aktivitas γ -GT dan diukur secara fotometrik.



Linearitas : 3-1200 U/L

Nilai rujukan : laki-laki : 8-61 U/L

wanita : 5-36 U/L

3.9.6. Pemeriksaan Kolagen type IV²³

Alat : Hitachi 912 analyzer

Metode : *Latex turbidimetric immunoassay* (LTIA)

Reagen : terdiri dari R1 dan R2 dengan nomor lot FC02401, tanggal kadaluarsa Desember 2008.

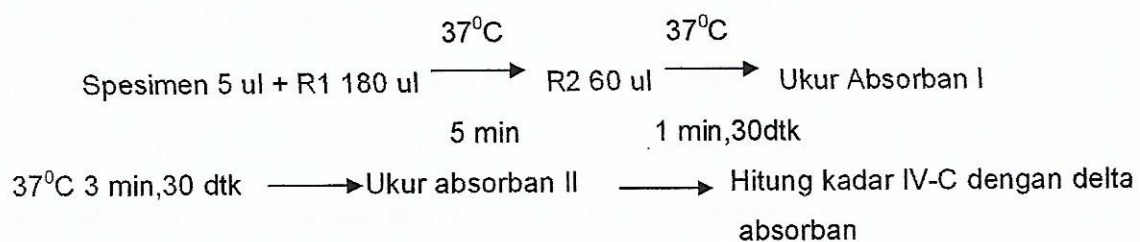
* R1: Buffer (buffer *Na-phosphate* yang mengandung bovine serum albumin).

* R2: *Latex suspension* (latex yang dilapisi Mouse anti human IV C antibody).

* IV-C Standard (Human IV-C)

Bahan : serum

Prinsip : Pemeriksaan kolagen tipe IV menggunakan metode *latex turbidimetric immunoassay* (LTIA). IV-C bereaksi dengan lateks yang dilapisi anti human IV-C antibody, diikuti terjadinya aglutinasi. Kadar IV-C diukur berdasarkan perubahan absorbansi dari reaksi aglutinasi tersebut.



Absorban I dan II : diukur pada panjang gelombang 700 nm

Delta absorban: Absorban II – Absorban I

Linearitas : 16-800 ng/mL

Nilai rujukan : < 140 ng/mL

3.10. Pengolahan data

Data hasil uji ketelitian dan ketepatan pemeriksaan setiap parameter laboratorium yang akan diteliti dicatat dalam tabel dan dihitung nilai rerata (mean), standard deviasi (SD), koefisien variasi (CV), dan penyimpangan (d). CV merupakan nilai SD dibagi rerata dikalikan 100 persen. Penyimpangan merupakan persentase dari selisih hasil yang diperiksa dengan nilai rerata kontrol dibagi dengan nilai rerata kontrol.

Karakteristik dasar subyek penelitian dicatat dalam tabel yang berisi proporsi penderita berdasarkan usia, jenis kelamin, derajat perlemakan hati, nilai AST, nilai ALT, nilai albumin, nilai GGT, nilai kolagen tipe IV. Untuk mengetahui normalitas data nilai kolagen tipe IV, AST, ALT, Albumin dan GGT dilakukan uji distribusi data dengan *Kolmogorov-Smirnov* pada kelompok perlemakan derajat ringan, sedang dan berat. Apabila didapatkan $p > 0.05$ maka distribusi dianggap normal, sehingga nilai kolagen tipe IV, AST, ALT, Albumin dan GGT untuk masing-masing kelompok dihitung rerata dan SD ($\bar{x} \pm 1SD$), bila tidak normal dalam bentuk median dan rentang nilai (penentuan nilai didapatkan dengan perhitungan rentang nilai interquartile dari 25% sampai 75%).

Untuk mengetahui hubungan kolagen tipe IV dengan derajat perlemakan hati serta hubungan kolagen tipe IV dengan AST, ALT, Albumin dan GGT pada masing-masing derajat dilakukan uji korelasi. Bila distribusi kedua data normal dipakai uji korelasi *Pearson*, tetapi bila didapatkan distribusi kedua data tidak normal dipakai uji *Spearman rho*. Dari uji korelasi didapatkan nilai koefisien korelasi (r) yang menentukan kuat atau lemahnya korelasi tersebut. Rentang nilai r berkisar dari 0 sampai 1, nilai $r \geq$

0.7 korelasi baik, $r = 0.5-0.69$ korelasi sedang, $r = 0.3-0.49$ korelasi lemah, dan $r = < 0.3$ korelasi sangat lemah.⁵⁴

BAB IV

HASIL PENELITIAN

4.1 UJI KETELITIAN DAN KETEPATAN

Uji ketelitian dan ketepatan *within run* alat Hitachi 912 untuk pemeriksaan kolagen tipe IV dilakukan lima kali berturut-turut dengan menggunakan bahan kontrol Seronorm Human lot no. JN 4381 exp 11.2008.

Hasil uji ketelitian *within run* pemeriksaan kolagen tipe IV didapatkan *coefficient of variation* (CV) untuk bahan kontrol Seronorm Human adalah 1.08%. Hasil uji ketepatan didapatkan *deviation* (d) dengan bahan kontrol Seronorm Human adalah (-1.05%) – 1.23%, seperti tercantum pada tabel 4. Uji ketelitian *between day* tidak dilakukan karena seluruh pemeriksaan dilakukan pada satu hari.

Tabel 4. Hasil uji ketelitian dan ketepatan pemeriksaan kolagen tipe IV dengan alat Hitachi 912 menggunakan bahan kontrol Seronorm Human

No	Seronorm Human
	114 (97 - 131) ng/mL
1	112.8
2	114.5
3	112.8
4	115.4
5	115.0
Mean (ng/mL)	114.1
SD (ng/mL)	1.23
CV (%)	1.08
d (%)	(-1.05) – 1.23

4.2 DEMOGRAFI DAN KARAKTERISTIK KLINIS SUBYEK PENELITIAN

Pada penelitian ini diperoleh 90 subyek penelitian yang memenuhi kriteria masukan dan tolakan. Berdasarkan pemeriksaan USG didapatkan subyek penelitian dengan perlemakan hati derajat ringan sebanyak 32 orang (35,6%), subyek dengan perlemakan hati derajat sedang sebanyak 35 orang (38,9%), subyek dengan perlemakan hati berat sebanyak 23 orang (25,6%), seperti terlihat pada tabel 5.

Pada tabel 5 terlihat subyek penelitian ini terdiri dari 62 orang wanita (68,9%) dan 28 orang pria (31,1%). Pada perlemakan hati derajat ringan terdiri dari 9 orang pria (28,1%) dan 23 orang wanita (71,9%). Pada perlemakan hati derajat sedang terdiri dari 7 orang pria (20%) dan 28 orang wanita (80%). Pada perlemakan hati derajat berat terdiri dari 12 orang pria (52,2%) dan 11 orang wanita (47,8%).

Secara keseluruhan rentang usia subyek penelitian adalah 20 sampai 66 tahun, rerata usia subyek adalah 44,1 tahun. Rentang usia untuk perlemakan hati derajat ringan adalah 25-56 tahun dengan rerata usia adalah 45,56 tahun. Rentang usia untuk perlemakan hati derajat sedang adalah 25-64 tahun dengan rerata usia adalah 43,94 tahun. Rentang usia untuk perlemakan hati derajat berat lebih lebar yaitu 20-66 tahun dengan rerata usia adalah 42,39 tahun seperti terlihat pada tabel 5.

Dari seluruh subyek penelitian penyebab perlemakan hati derajat ringan terbanyak adalah dislipidemia sebanyak 10 orang (31,25%) diikuti penyakit diabetes melitus sebanyak 7 orang (21,8%) dan hiperkolesterolemia sebanyak 7 orang (21,87%). Pada perlemakan hati derajat sedang penyebab terbanyak adalah diabetes melitus dan hipertensi sebanyak 9 orang (25,71%) diikuti diabetes melitus saja, obesitas saja serta hiperkolesterolemia saja masing-masing sebanyak 6 orang (17,14%). Pada perlemakan hati derajat berat penyebab terbanyak adalah obesitas dan hiperkolesterolemia sebanyak 5 orang (21,7%). Perlemakan hati juga dapat disebabkan oleh kombinasi tiga faktor risiko yaitu 1).diabetes melitus, hipertensi dan dislipidemia sebanyak empat orang,

2).obesitas, diabetes melitus dan hipertensi sebanyak dua orang seperti terlihat pada tabel 5.

Tabel 5. Demografi dan karakteristik klinis subyek penelitian

No	Karakteristik subyek penelitian	NAFLD		
		Ringan n(%)	Sedang n(%)	Berat n(%)
A.	Peserta penelitian (orang)	32(35,6)	35(38,9)	23(25,6)
B.	Jenis Kelamin			
	1. Pria	9(28,1)	7(20)	12(52,2)
	2. Wanita	23(71,9)	28(80)	11(47,8)
C.	Usia (tahun)			
	1. Rentang	25-56	25-64	20-66
	2. Rerata	45,56	43,94	42,39
D.	Penyebab NAFLD			
	a. satu faktor penyebab			
	1. Dislipidemia	10(31,25)	1(2,86)	0
	2. Diabetes melitus	7(21,87)	6(17,14)	0
	3. Hiperkolesterolemia	7(21,87)	6(17,14)	1(4,35)
	4. Hipertrigliseridemia	2(6,25)	2(5,71)	0
	5. Hipertensi	2(6,25)	0	0
	6. Obesitas	0	6(17,14)	3(13,04)
	b.dua faktor penyebab			
	1. Dislipidemia & hipertensi	1(3,13)	1(2,86)	1(4,35)
	2. Dislipidemia & diabetes melitus	3(9,38)	1(2,86)	1(4,35)
	3. Diabetes melitus & hiperkolesterolemia	0	1(2,86)	2(8,69)
	4. Diabetes melitus & hipertrigliseridemia	0	1(2,86)	0
	5. Diabetes melitus & hipertensi	0	9(25,71)	1(4,35)
	6. Hiperkolesterolemia & hipertensi	0	0	1(4,35)
	7. Obesitas & dislipidemia	0	0	2(8,69)
	8. Obesitas & diabetes melitus	0	1(2,86)	0
	9. Obesitas & hiperkolesterolemia	0	0	5(21,74)
	c. tiga faktor penyebab*	0	0	6(26,09)

* Kombinasi tiga faktor penyebab yang terdapat pada penelitian ini adalah 1) diabetes melitus, hipertensi dan dislipidemia, 2) obesitas, diabetes melitus dan hipertensi

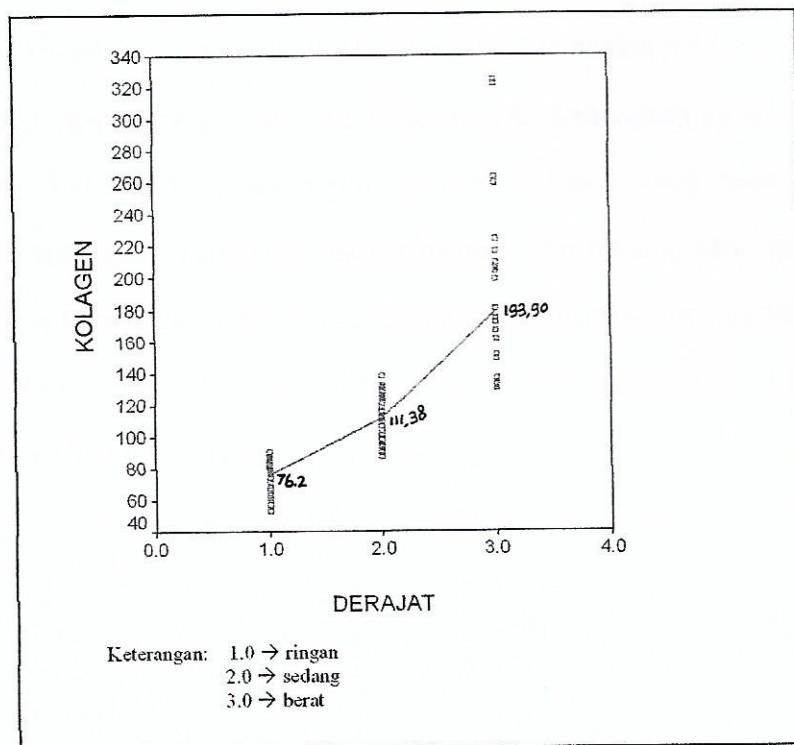
4.3 KADAR KOLAGEN TIPE IV

Hasil uji normalitas distribusi data dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* terhadap kadar kolagen tipe IV pada derajat ringan menunjukkan distribusi yang tidak normal dengan $p=0.04$, maka kadar kolagen tipe IV untuk derajat ringan ditampilkan dalam nilai median dan rentang nilai. Nilai median kolagen tipe IV pada derajat ringan adalah 78,7 ng/mL dengan rentang nilai interquartile 25% dan 75% adalah 68,80 ng/mL dan 83,65 ng/mL, sehingga kadar kolagen untuk derajat ringan adalah 68,80-83,65 ng/mL. Hasil uji normalitas distribusi data dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* terhadap kadar kolagen tipe IV pada derajat sedang dan berat menunjukkan distribusi yang normal dengan $p=0.200$, maka kadar kolagen tipe IV untuk derajat sedang dan berat ditampilkan dalam nilai mean dan SD. Nilai mean untuk kolagen tipe IV derajat sedang adalah 111,38 ng/mL dan nilai SD adalah 14,22 ng/mL, sehingga kadar kolagen untuk derajat sedang adalah 97,16-125,60 ng/mL. Nilai mean untuk kolagen tipe IV derajat berat adalah 193,90 ng/mL dan nilai SD adalah 56,33 ng/mL, sehingga kadar kolagen untuk derajat berat adalah 137,57-250,23 ng/mL seperti terlihat pada tabel 6 dan gambar 10.

Tabel 6. Uji distribusi kolagen tipe IV (ng/mL) pada perlemakan hati derajat ringan, sedang dan berat

Kelompok	Ringan	Sedang	Berat
n	32	35	23
Uji distribusi (p)*	0.042	0.200	0.200
Mean (ng/mL)	76,2	111,38	193,90
Median (ng/mL)	78,7	110,2	180,5
SD		14,22	56,33
Interquartile	68,80-83,65		

* Uji distribusi dengan *Kolmogorov-Smirnov*, distribusi normal apabila $p>0.05$



Gambar 10. Scatter diagram kadar kolagen tipe IV

4.4 KORELASI KOLAGEN TIPE IV DENGAN GAMBARAN USG PERLEMAKAN HATI

Untuk mengetahui hubungan antara kolagen tipe IV dengan gambaran USG perlemakan hati dilakukan uji korelasi untuk mendapatkan koefisien korelasi (r) dengan menggunakan uji *Spearman's rho*. Hasil uji *Spearman's rho* didapatkan adanya korelasi antara kadar kolagen tipe IV dengan gambaran USG ($p < 0.001$, $r=0,933$).

4.5 KADAR AST, ALT, GGT dan ALBUMIN

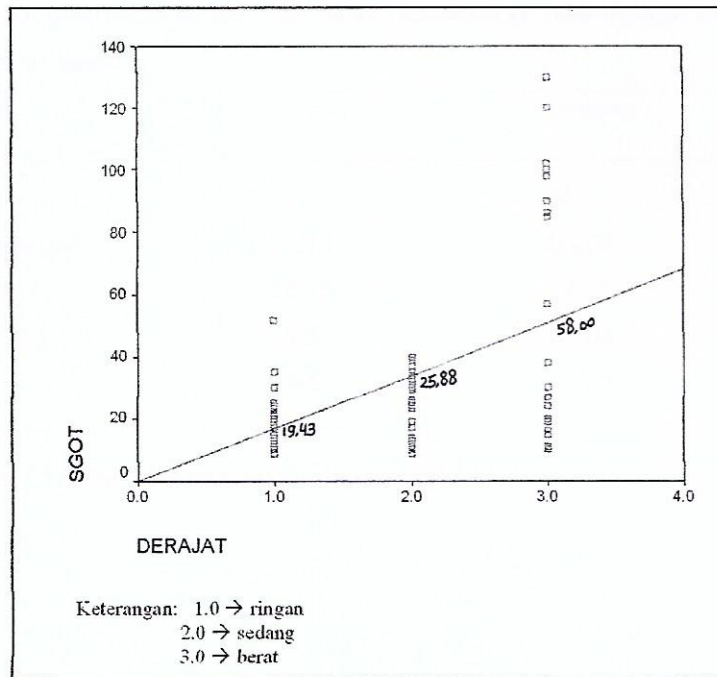
Hasil uji normalitas distribusi data dengan uji *Kolmogorov-Smimov* untuk kadar AST pada derajat ringan memiliki distribusi tidak normal dengan $p=0.027$, maka kadar ditampilkan dalam median dan rentang nilai. Nilai median AST untuk derajat ringan adalah 20,0 U/L dengan rentang nilai interquartile 25% dan 75% adalah 12,50 U/L dan 23,75 U/L, sehingga kadar AST derajat ringan adalah 12,50-23,75 U/L. Sedangkan uji normalitas distribusi data kadar AST untuk derajat sedang memiliki distribusi yang

normal dengan $p=0.188$, maka kadar ditampilkan dalam mean dan SD. Mean kadar AST untuk derajat sedang adalah 25,88 U/L dan nilai SD adalah 9,51 U/L, sehingga kadar AST untuk derajat sedang adalah 16,37-35,39 U/L. Sedangkan uji normalitas distribusi data kadar AST untuk derajat berat memiliki distribusi yang tidak normal dengan $p=0.003$, maka kadar ditampilkan dalam median dan rentang nilai. Nilai median AST untuk derajat berat adalah 38,00 U/L dengan rentang nilai interquartile 25% dan 75% adalah 10,20 U/L dan 98,00 U/L, sehingga kadar AST derajat berat adalah 10,20-98,00 U/L seperti terlihat pada tabel 7 dan gambar 11.

Tabel 7. Uji distribusi kadar AST pada perlemakan hati derajat ringan, sedang dan berat.

Kelompok	Ringan	Sedang	Berat
n	32	35	23
Uji distribusi (p)*	0.027	0.188	0.003
Mean (U/L)	19,43	25,88	58,00
Median (U/L)	20,00	26,00	38,00
SD		9,51	
Interquartile	12,5-23,75		10,20-98,00

* Uji distribusi dengan *Kolmogorov-Smirnov*, distribusi normal apabila $p>0.05$



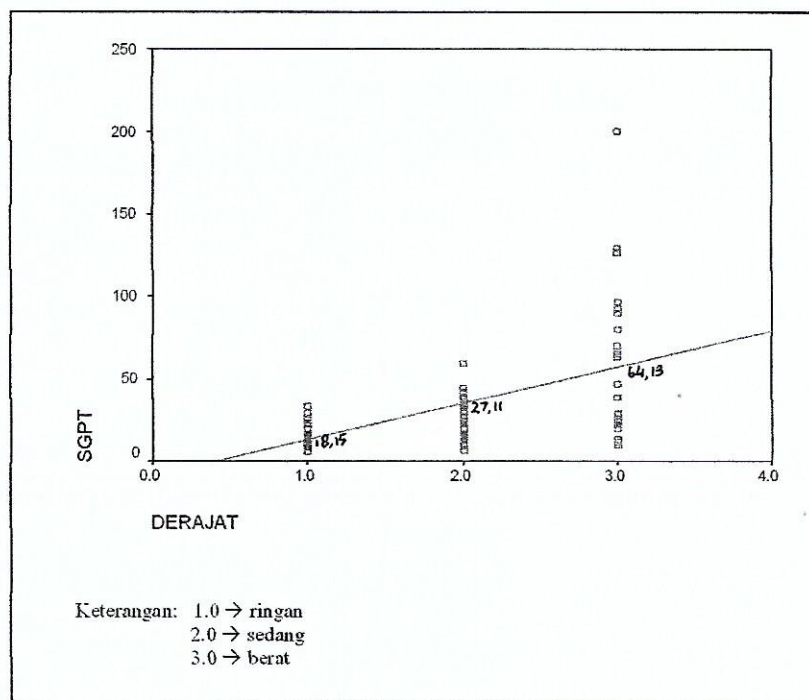
Gambar 11. Scatter diagram kadar AST

Hasil uji normalitas distribusi data dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* untuk kadar ALT pada derajat ringan, sedang dan berat memiliki distribusi yang normal dengan $p=0.076$ untuk derajat ringan, $p=0.200$ untuk derajat sedang, dan $p=0.151$ untuk derajat berat, maka kadar ditampilkan dalam mean dan SD. Mean kadar ALT untuk derajat ringan adalah 18,15 U/L dan SD adalah 6,95 U/L, sehingga kadar ALT untuk derajat ringan adalah 11,20-25,10 U/L. Untuk derajat sedang, mean kadar ALT adalah 27,11 U/L dan SD adalah 13,03 U/L, sehingga kadar ALT untuk derajat sedang adalah 14,08-40,14 U/L. Untuk derajat berat, mean kadar ALT adalah 64,13 U/L dan SD adalah 48,60 U/L, sehingga kadar ALT untuk derajat berat adalah 15,53-112,73 U/L seperti terlihat pada tabel 8 dan gambar 12.

Tabel 8. Uji distribusi kadar ALT pada perlemakan hati derajat ringan, sedang dan berat.

Kelompok	Ringan	Sedang	Berat
n	32	35	23
Uji distribusi (p)*	0.076	0.200	0.151
Mean (U/L)	18,15	27,11	64,13
Median (U/L)	19,5	27,00	64,00
SD	6,95	13,03	48,60

* Uji distribusi dengan *Kolmogorov-Smirnov*, distribusi normal apabila $p > 0.05$



Gambar 12. Scatter diagram kadar ALT

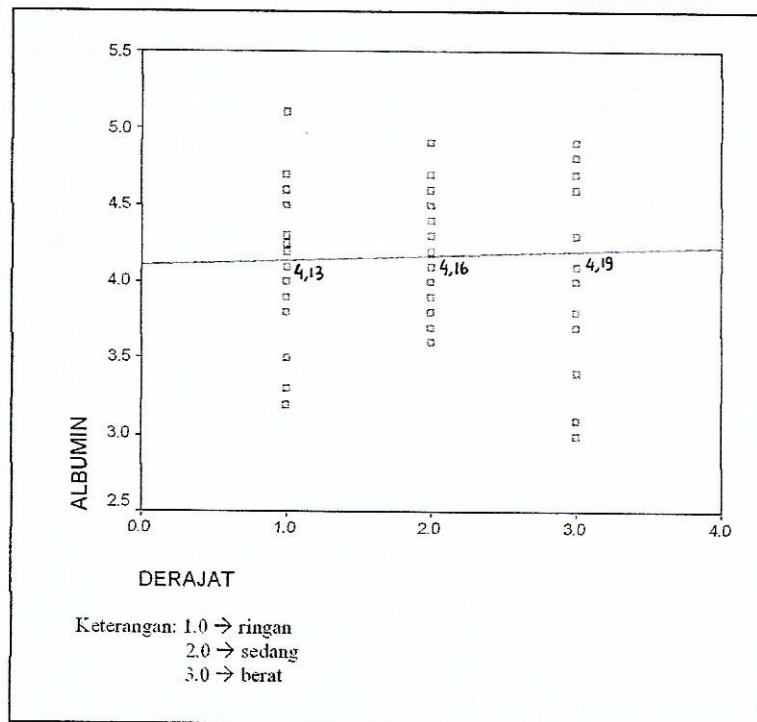
Hasil uji normalitas distribusi data dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* untuk kadar albumin pada derajat ringan dan berat memiliki distribusi yang tidak normal dengan $p=0.002$ untuk derajat ringan dan $p=0.004$ untuk derajat berat, maka kadar ditampilkan dalam median dan rentang nilai. Nilai median kadar albumin untuk derajat ringan adalah 4,10 g/dL dengan rentang nilai interquartile 25% dan 75% adalah 3,59 g/dL dan 4,30

g/dL, sehingga kadar albumin untuk derajat ringan adalah 3,59-4,30 g/dL. Nilai median untuk derajat berat adalah 4,30 g/dL dengan rentang nilai interquartile 25% dan 75% adalah 3,80 g/dL dan 4,70 g/dL, sehingga kadar albumin untuk derajat berat adalah 3,80-4,70 g/dL. Sedangkan uji normalitas distribusi data untuk kadar albumin derajat sedang memiliki distribusi yang normal dengan $p=0.059$, maka kadar ditampilkan dalam mean dan SD. Mean kadar albumin untuk derajat sedang adalah 4,16 g/dL dan SD adalah 0,31 g/dL, sehingga kadar albumin derajat sedang adalah 3,85-4,47 g/dL seperti terlihat pada tabel 9 dan gambar 13.

Tabel 9. Uji distribusi kadar Albumin pada perlemakan hati derajat ringan, sedang dan berat.

Kelompok	Ringan	Sedang	Berat
n	32	35	23
Uji distribusi (p)*	0.002	0.059	0.004
Mean (g/dL)	4,13	4,16	4,19
Median (g/dL)	4,10	4,20	4,30
SD		0,31	
Interquartile	3,59-4,30		3,80-4,70

* Uji distribusi dengan *Kolmogorov-Smirnov*, distribusi normal apabila $p>0.05$



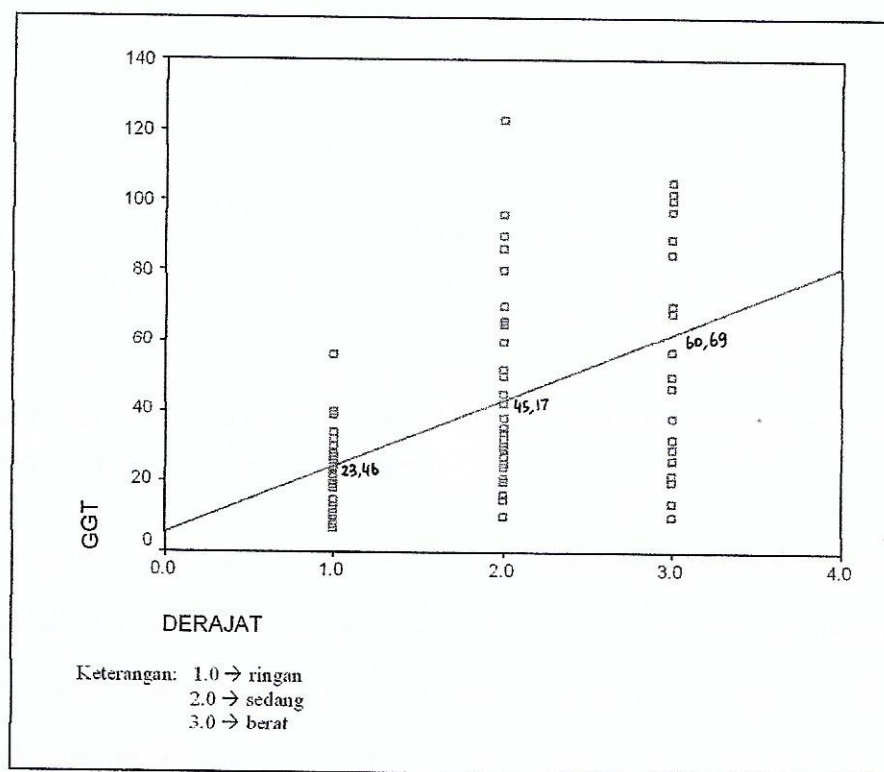
Gambar 13. Scatter diagram kadar albumin

Hasil uji normalitas distribusi data dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* untuk kadar GGT pada derajat ringan, sedang dan berat memiliki distribusi yang normal dengan $p=0.123$ untuk derajat ringan, $p=0.132$ untuk derajat sedang, dan $p=0.177$ untuk derajat berat, maka kadar ditampilkan dalam mean dan SD. Mean kadar GGT untuk derajat ringan adalah 23,46 U/L dan SD adalah 10,04 U/L, sehingga kadar GGT untuk derajat ringan adalah 13,42-33,50 U/L. Mean kadar GGT untuk derajat sedang adalah 45,17 U/L dan SD adalah 27,19 U/L, sehingga kadar GGT untuk derajat sedang adalah 17,98-72,36 U/L. Mean kadar GGT untuk derajat berat adalah 60,69 U/L dan SD adalah 35,20 U/L, sehingga kadar GGT untuk derajat berat adalah 25,49-95,89 U/L seperti terlihat pada tabel 10 dan gambar 14.

Tabel 10. Uji distribusi kadar GGT pada perlemakan hati derajat ringan, sedang dan berat.

Kelompok	Ringan	Sedang	Berat
n	32	35	23
Uji distribusi (p)*	0.123	0.132	0.177
Mean (U/L)	23,46	45,17	60,69
Median (U/L)	23,50	38,00	57,00
SD	10,04	27,19	35,27

* Uji distribusi dengan *Kolmogorov-Smirnov*, distribusi normal apabila $p > 0.05$



Gambar 14. Scatter diagram kadar GGT

4.6 KORELASI AST, ALT, GGT DAN ALBUMIN DENGAN KOLAGEN TIPE IV PADA PERLEMAKAN DERAJAT RINGAN, SEDANG DAN BERAT

Sebelum melakukan uji korelasi antara kadar AST, ALT, GGT dan Albumin dengan kolagen tipe IV pada masing-masing derajat dilakukan terlebih dahulu uji

distribusi *Kolmogorov-Smirnov* untuk mengetahui apakah distribusi data normal atau tidak. Berdasarkan hasil uji distribusi *Kolmogorov-Smirnov*, data kadar kolagen, AST, dan albumin untuk derajat ringan memiliki distribusi tidak normal sedangkan data kadar ALT dan GGT memiliki distribusi normal maka dilakukan analisis hubungan dengan uji *Spearman's rho*. Hasil uji *Spearman's rho* untuk derajat ringan didapatkan tidak ada korelasi antara kadar kolagen dengan AST, ALT, GGT dan Albumin seperti terlihat pada tabel 11.

Tabel 11. Hasil analisis hubungan antara kolagen dengan AST, ALT, GGT dan Albumin dan pada derajat ringan

Variabel 1	Variabel 2	Kemaknaan (p) ^a	Koefisien korelasi (r) ^b
Kolagen	AST	0.986	0.003
	ALT	0.576	0.103
	GGT	0.808	- 0.045
	Albumin	0.661	0.081

^a Uji *Spearman's rho*, nilai p bermakna bila <0.05

^b Koefisien korelasi (r): nilai $r \geq 0.7$ korelasi baik, $r=0.5-0.69$ korelasi sedang, $r= 0.3-0.49$ korelasi lemah, $r < 0.3$ korelasi sangat lemah.⁵⁴

Untuk derajat sedang perlemakan hati, berdasarkan uji distribusi *Kolmogorov-Smirnov* didapatkan kadar kolagen, AST, ALT, GGT dan Albumin memiliki distribusi normal, maka dilakukan analisis hubungan dengan uji *Pearson*. Hasil uji korelasi *Pearson* didapatkan tidak ada korelasi antara kadar kolagen dengan AST, ALT, GGT dan Albumin seperti terlihat pada tabel 12.

Tabel 12. Hasil analisis hubungan antara kolagen dengan AST, ALT, GGT dan Albumin pada derajat sedang

Variabel 1	Variabel 2	Kemaknaan (p) ^a	Koefisien korelasi (r) ^b
Kolagen	AST	0.501	- 0.118
	ALT	0.464	- 0.128
	GGT	0.352	0.162
	Albumin	0.074	- 0.306

^a Uji *Pearson*, nilai p bermakna bila <0.01

^b Koefisien korelasi (r): nilai $r \geq 0.7$ korelasi baik, $r=0.5-0.69$ korelasi sedang, $r= 0.3-0.49$ korelasi lemah, $r < 0.3$ korelasi sangat lemah.⁵⁴

Untuk derajat berat perlemakan hati, berdasarkan uji distribusi *Kolmogorov-Smirnov* didapatkan kadar AST dan albumin memiliki distribusi tidak normal sedangkan kadar kolagen, ALT dan GGT memiliki distribusi normal maka dilakukan analisis hubungan dengan uji *Spearman's rho*. Hasil uji *Spearman's rho* didapatkan tidak ada korelasi antara kadar kolagen dengan AST, ALT, GGT dan Albumin seperti terlihat pada tabel 13.

Tabel 13. Hasil analisis hubungan antara kolagen dengan AST, ALT, GGT dan Albumin pada derajat berat

Variabel 1	Variabel 2	Kemaknaan (p) ^a	Koefisien korelasi (r) ^b
Kolagen	AST	0.193	0.282
	ALT	0.660	0.097
	GGT	0.196	0.280
	Albumin	0.396	- 0.186

^a Uji *Spearman's rho*, nilai p bermakna bila <0.05

^b Koefisien korelasi (r): nilai $r \geq 0.7$ korelasi baik, $r=0.5-0.69$ korelasi sedang, $r= 0.3-0.49$ korelasi lemah, $r < 0.3$ korelasi sangat lemah.⁵⁴

BAB V

PEMBAHASAN

5.1 KEKUATAN DAN KETERBATASAN PENELITIAN

Subyek penelitian diambil dari poliklinik Divisi Hepatologi Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI-RSCM. Seluruh peserta penelitian dilakukan pemeriksaan ultrasonografi sehingga dapat diyakini semua subyek adalah penderita perlemakan hati.

Penelitian ini dilakukan pada penderita perlemakan hati yang dilihat dengan menggunakan USG yang merupakan alat deteksi lini pertama untuk melihat derajat perlemakan hati sebelum dilakukan tindakan yang invasif yaitu biopsi hati. Oleh karena itu kadar kolagen tipe IV yang didapat pada penelitian ini diharapkan dapat membantu mengetahui sampai sejauh mana derajat perlemakan hati seseorang selain dengan melihat gambaran USG.

Penelitian ini telah mempertimbangkan keadaan yang dapat mengganggu pemeriksaan dengan memasukkan keadaan tersebut pada kriteria tolakan, salah satunya adalah penderita hepatitis B dan / atau hepatitis C yang tidak dimasukkan pada penelitian ini karena dapat juga berpengaruh pada pengukuran kadar enzim hati dan kadar kolagen tipe IV. Untuk menyingkirkan hepatitis B dilihat hasil pemeriksaan HbsAg dari rekam medis yang dianggap sudah cukup untuk mewakili petanda adanya virus hepatitis B pada penderita dan pemeriksaan HbsAg merupakan pemeriksaan rutin yang dimintakan dari poliklinik hepatologi.

Pada penelitian ini terdapat juga beberapa keterbatasan antara lain tidak semua subyek penelitian dilakukan biopsi hati yang merupakan pemeriksaan baku (USG tidak dapat membedakan NAFLD dan NASH) oleh karena adanya keterbatasan waktu dan biaya, tidak didapatkannya proporsi yang sama untuk masing-masing derajat perlemakan hati, tidak semua subyek penelitian dilakukan pemeriksaan laboratorium

terhadap penyakit hati lain yang dapat berpengaruh pada penelitian ini oleh karena adanya keterbatasan biaya.

5.2 UJI KETELITIAN DAN KETEPATAN

Hasil uji ketelitian dan ketepatan alat Hitachi 912 untuk pemeriksaan kolagen tipe IV dengan bahan kontrol Seronorm Human yang didapat pada penelitian ini adalah CV 1.08% dan penyimpangan (d) (-1.05%) – 1.23%, nilai tersebut dalam batas yang diperkenankan oleh pabrik yaitu < 10%.²³ Bahan kontrol yang disediakan oleh pabrik hanya untuk satu level (level normal). Menurut *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) sebaiknya untuk kontrol pemeriksaan kimia secara umum menggunakan dua level kontrol dan untuk pemeriksaan imunokimia menggunakan tiga level kontrol.⁵⁵

5.3 DEMOGRAFI DAN KARAKTERISTIK KLINIS SUBYEK PENELITIAN

Dari 90 orang subyek penelitian, subyek yang tergolong perlemakan hati nonalkoholik derajat ringan dan derajat sedang didapatkan lebih banyak (35,6% dan 38,9%) dibandingkan subyek perlemakan hati nonalkoholik derajat berat. Keadaan tersebut terjadi disebabkan beberapa hal yaitu pertama, penelitian ini tidak membedakan subyek penelitian yang terambil merupakan kasus baru atau perbaikan dari NAFLD derajat lebih tinggi. Dapat saja subyek tersebut sebelumnya merupakan penderita NAFLD derajat berat kemudian setelah mendapat terapi dan mengalami perbaikan menjadi NAFLD derajat sedang atau ringan. Kedua, sebagian besar pasien NAFLD yang datang ke poliklinik hepatologi merupakan rujukan dari poliklinik spesialis penyakit dalam yang mendapatkan hasil pemeriksaan laboratorium dengan kenaikan enzim transaminase yang ringan sampai sedang serta pasien yang melakukan tindakan preventif dengan berkonsultasi kepada dokter terhadap hasil pemeriksaan laboratorium.

Dari seluruh subyek pada penelitian ini didapatkan subyek wanita lebih banyak daripada subyek pria. Hal ini agak berbeda pada penelitian yang dilakukan oleh Amarapurkar dkk di India dimana didapatkan NAFLD lebih banyak didapatkan pada laki-laki (76%)⁵⁶, tetapi penelitian Ludwig tahun 1980 di USA seperti yang dikutip oleh Bahcecioglu didapatkan penderita NAFLD sebanyak 65% wanita demikian pula dengan penelitian yang dilakukan oleh Powell di Australia tahun 1990 seperti yang dikutip oleh Bahcecioglu didapatkan prevalensi penderita NAFLD wanita sebanyak 83%. Penelitian yang dilakukan oleh Lusong di Filipina tahun 2005 juga mendapatkan prevalensi penderita NAFLD wanita sebanyak 71%.^{33, 57} Banyaknya prevalensi wanita pada penelitian ini dikarenakan pada saat penelitian dilakukan kesediaan untuk ikut dalam penelitian lebih banyak wanita.

Rentang usia pada penelitian ini adalah 20 sampai 66 tahun dengan rerata usia 44,1 tahun. Pada penelitian yang dilakukan oleh Ludwig, Lee, Diehl dan Matteoni seperti yang dikutip oleh Lusong didapatkan rerata umur penderita NAFLD 52-54 tahun, sedangkan pada penelitian oleh Lusong dkk di dapatkan rerata umur penderita NAFLD 21-47 tahun.⁵⁷ Oleh sebab itu kelompok usia pada penelitian ini dari usia muda yaitu sekitar 17 tahun sampai usia lanjut yaitu 70 tahun. Pada penelitian ini didapatkan usia muda lebih banyak menderita NAFLD kemungkinan karena adanya perubahan pola makan dan kebiasaan meminum minuman *soft drink* seperti yang diungkapkan oleh sebuah *study* yang menunjukkan bahwa minuman *soft drink* berhubungan dengan peningkatan risiko NAFLD walaupun mekanismenya belum diketahui secara pasti.³⁸ Keadaan lain yang menyebabkan NAFLD banyak didapat pada usia muda kemungkinan karena sebagian peserta penelitian adalah pegawai yang melakukan *general check up* dengan tingkat pemahaman terhadap hasil laboratorium dan penyakit cukup baik sehingga kesadaran untuk memeriksakan diri juga lebih besar daripada kelompok usia yang sudah lanjut.

Penyebab perlemakan hati nonalkoholik terbanyak pada seluruh subyek penelitian adalah hiperkolesterolemia, diabetes melitus, dislipidemia, dan obesitas, dengan penyebab terbanyak pada derajat ringan adalah dislipidemia, derajat sedang adalah diabetes melitus dan hipertensi serta derajat berat adalah obesitas dan hiperkolesterolemia. Pada subyek penelitian dengan perlemakan hati nonalkoholik derajat berat didapatkan adanya dua sampai tiga faktor penyebab. Bahcecioglu dkk mendapatkan penyebab NAFLD adalah penderita sindroma metabolik yaitu hiperlipidemia (80,6%), obesitas (37%) dan diabetes melitus tipe II (18%).³³ Sindroma metabolik berhubungan dengan resistensi insulin. *Insulin resistance* (IR) berhubungan dengan peningkatan produksi asam lemak bebas di hati yang berasal dari glukosa, selain itu jaringan adiposa juga merupakan sumber TNF α yang mengatur sensitivitas insulin. TNF α dapat meningkatkan *insulin resistance* dengan menurunkan pengaturan terhadap *peroxisome proliferator activated receptor gamma* (PPAR γ) yaitu suatu reseptor yang penting dalam menjaga sensitivitas insulin agar berada dalam batas normal.^{29, 34}

5.4 KADAR KOLAGEN TIPE IV

Pada penelitian ini didapatkan kadar kolagen tipe IV untuk derajat ringan adalah 68,80-83,65 ng/mL, derajat sedang adalah 97,16-125,60 ng/mL dan derajat berat adalah 137,57-250,23 ng/mL. Sedangkan penelitian Sakugawa²⁴ terhadap 42 pasien NAFLD dengan perlemakan hati murni didapatkan kadar kolagen 3,2-5 ng/mL.

Pada penelitian ini nilai yang didapat lebih tinggi dari penelitian Sakugawa kemungkinan karena ada perbedaan subyek penelitian (kriteria tolakan dan masukan yang diambil) serta cara pemeriksaan yang digunakan untuk mengukur kadar kolagen. Subyek pada penelitian Sakugawa adalah pasien NAFLD rawat jalan dengan mengeksklusi penyakit hati lain seperti hepatitis autoimun, hemokromatosis, dan

metabolic liver disease serta dilakukan pemeriksaan biopsi hati. Pemeriksaan kolagen pada penelitian Sakugawa menggunakan cara *radioimmunoassay* (RIA) yang mengukur kolagen IV 7S domain. Sedangkan subyek pada penelitian ini adalah pasien NAFLD rawat jalan yang mengeksklusi penyakit hepatitis B dan atau C dan tidak dilakukan pemeriksaan biopsi hati serta pemeriksaan kolagen menggunakan cara *latex turbidimetric immunoassay* (LTIA).

5.5 KORELASI KOLAGEN TIPE IV DENGAN GAMBARAN USG PERLEMAKAN HATI

Pada penelitian ini didapatkan adanya korelasi antara kadar kolagen dengan derajat perlemakan hati pada gambaran USG. Hal ini dijelaskan kolagen dihasilkan bila terjadi aktivasi HSC. HSC yang teraktivasi akan berubah secara morfologi menjadi miofibroblas yang akan memproduksi kolagen lebih banyak.¹⁶

Sebuah *study* mengungkapkan bahwa HSC yang aktif mirip/serupa dengan adiposit berdasarkan beberapa kemungkinan antara lain adalah HSC dan adiposit mengekspresikan protein matriks ekstraselular dengan menghasilkan kolagen sewaktu HSC teraktivasi. Pada perlemakan hati ini, HSC akan tetap aktif dan meningkatkan produksi kolagen.⁵⁸

Pada bagian ini akan disajikan sedikit mengenai gambaran biopsi hati pasien perlemakan hati derajat berat. Pada penelitian ini hanya ada dua pasien yang mau dilakukan biopsi hati. Data hasil biopsi hati yang disajikan disini hanya sebagai ilustrasi saja mengenai gambaran biopsi dengan kadar kolagen yang didapatkan. Oleh karena hanya ada dua hasil biopsi hati sehingga tidak bisa diambil suatu kesimpulan tentang gambaran biopsi hati dan kadar kolagen yang didapat. Hasil biopsi hati pada kedua pasien adalah sebagai berikut, pada pasien dengan kadar kolagen 180,5 ng/mL didapatkan sel hepar yang umumnya mengalami degenerasi hidropik (*ballooning*),

tampak inflamasi lobular ringan dan fibrosis portal yang sesuai dengan *borderline/probable* NASH. Pada pasien dengan kadar kolagen 322,6 ng/mL didapatkan perlemakan keras makro maupun mikrovesikuler, sebagian besar sel hati menunjukkan *ballooning degeneration*, nekrosis lobular sedang yang sesuai dengan NASH.

5.6 KADAR AST, ALT, GGT, DAN ALBUMIN PADA PERLEMAKAN HATI

Pada penelitian ini, untuk derajat ringan didapatkan kadar AST 12,50-23,75 U/L, kadar ALT 11,20-25,10 U/L, kadar GGT 13,42-33,50 U/L dan kadar albumin 3,59-4,30 g/dL. Untuk derajat sedang, kadar AST 16,37-35,39 U/L, kadar ALT 14,08-40,14 U/L, kadar GGT 17,98-72,36 U/L dan kadar albumin 3,85-4,47 g/dL. Untuk derajat berat, kadar AST 10,20-98,00 U/L, kadar ALT 15,53-112,73 U/L, kadar GGT 25,49-95,89 U/L dan kadar albumin 3,80-4,70 g/dL.

Penelitian Lusong tahun 2005 di Filipina mendapatkan kadar AST untuk penderita NAFLD adalah 131-169 U/L, kadar ALT 175-209 U/L, kadar albumin 27,5-39,5 g/dL.⁵⁷ Sedangkan penelitian Sakugawa dkk mendapatkan kadar AST 25,9-87,5 IU/L, kadar ALT 41,9-178,3 IU/L, kadar GGT 28,3-221,5 IU/L, dan kadar albumin 4,1-4,7 g/dL.²⁴

Penelitian oleh Karnikowski dkk di Brazil pada penderita NAFLD derajat ringan, sedang dan berat mendapatkan kadar AST untuk derajat ringan adalah 18,2-31,4 U/L dan 13,8-40,2 U/L untuk derajat sedang-berat. Kadar ALT untuk derajat ringan adalah 14,5-27,5 U/L dan untuk derajat sedang-berat adalah 7,2-40,2 U/L. Kadar GGT untuk derajat ringan adalah 12,8-28,8 U/L dan untuk derajat sedang-berat adalah 11,8-40,6 U/L.⁵⁹ Penelitian oleh Kim³⁵ dkk di Korea tahun 2005 mendapatkan kadar AST, ALT, dan GGT pada berbagai derajat perlemakan hati berdasarkan jenis kelamin seperti tabel 14.

Tabel 14. Kadar AST,ALT,GGT pada pria dan wanita penderita perlemakan hati pada berbagai derajat berdasarkan pemeriksaan ultrasonografi.³⁵

Karakteristik	Pria			Wanita		
	Ringan	Sedang	Berat	Ringan	Sedang	Berat
AST (IU/L)	25 ± 10	27.5 ± 21.5	29.5 ± 8	21.4 ± 11.3	23 ± 11.2	28.2 ± 6.3
ALT (IU/L)	31.5 ± 18.3	38.3 ± 35.9	50.8 ± 19	21.8 ± 13.8	26.8 ± 17.4	34.8 ± 12.9
GGT (IU/L)	67.1 ± 63.4	148.8 ± 69.4	69.4 ± 42.6	37.7 ± 31.6	32.8 ± 21.3	38.7 ± 11.1

Tabel 15. Beberapa kadar AST,ALT,GGT dan Albumin pada penderita NAFLD

Peneliti	AST (U/L)	ALT (U/L)	GGT(U/L)	Albumin (g/dL)
Lusong	131-169	175-209		27,5-39,5
Sakugawa	25,9-87,5*	41,9-178,3*	28,3-221,5*	4,1-4,7
Karnikowski	R:18,2-31,4	R:14,5-27,5	R:12,8-28,8	
	S-B:13,8-40,2	S-B:7,2-40,2	S-B:11,8-40,6	
Penelitian ini	R:12,50-23,75	R:11,20-25,10	R:13,42-33,50	R:3,59-4,30
	S:16,37-35,39	S:14,08-40,14	S:17,98-72,36	S:3,85-4,47
	B:10,20-98,00	B:15,53-112,73	B:25,49-95,89	B:3,80-4,70

*satuan dalam IU/L

R: ringan, S:sedang, B:berat

Pada penelitian Kamikowski didapatkan kadar AST dan ALT yang tidak sejalan dengan beratnya perlemakan hati seperti pada penelitian ini didapatkan kadar enzim transaminase (AST dan ALT) yang tidak sejalan. Pada penelitian ini, khususnya untuk batas bawah kadar AST pada derajat sedang meningkat dan batas bawah kadar AST pada derajat berat menurun, kemungkinan dikarenakan AST merupakan enzim yang dihasilkan di mitokondria hati sehingga apabila kadarnya menjadi turun/normal memperlihatkan adanya kerusakan hati lanjut karena hati menunjukkan kelemahannya untuk melepaskan enzim tersebut.^{60, 61} Beberapa *study* juga mengatakan bahwa kadar enzim aminotransferase/transaminase tidak berkorelasi dengan aktivitas histologi yang mendasarinya.⁶²

Penelitian Chang menunjukkan adanya hubungan antara ALT dan insiden NAFLD berdasarkan pemeriksaan USG. Pada penelitian ini didapatkan kadar ALT yang

lebih diatas kadar AST. Peningkatan ALT sebagai prediktor independen kejadian NAFLD. Peningkatan ALT sebagai indikator adanya gangguan insulin karena ALT berkontribusi sebagai enzim glukogenik.⁶³ Menurut Harrison, pasien NAFLD mempunyai kadar ALT yang lebih diatas AST, selain itu ALT merupakan enzim yang dihasilkan terutama di hati sehingga ALT lebih spesifik untuk hati.⁶⁰⁻⁶²

Pada penelitian ini didapatkan kadar albumin untuk masing-masing derajat menunjukkan sedikit perbedaan, hal ini menunjukkan perlemakan hati hanya sedikit berpengaruh pada sintesis albumin dan perlemakan hati yang diteliti pada penelitian ini belum sampai pada tahap penyakit hati yang kronik sehingga kadar albumin belum terlalu rendah. Kadar albumin rendah lebih sering ditemukan pada penyakit hati yang kronik daripada akut.⁶¹

Pada penelitian ini juga didapatkan adanya peningkatan kadar GGT yang sejalan dengan derajat ringan, sedang dan beratnya perlemakan hati. Peningkatan enzim GGT berhubungan dengan perlemakan hati. Mekanisme pasti peningkatan GGT berhubungan dengan perlemakan hati belum dapat dijelaskan tetapi Ortega dkk seperti yang dikutip oleh Grundy menjelaskan kemungkinan yaitu bahwa penumpukan lemak di hati dapat mempertinggi stress oksidatif yang mengakibatkan konsumsi GSH lebih banyak dengan kompensasi peningkatan sintesis GGT karena GGT merupakan enzim yang berperan pada katabolisme glutathione (GSH).⁶⁴

5.7 KORELASI AST, ALT, GGT DAN ALBUMIN DENGAN KOLAGEN TIPE IV PADA PERLEMAKAN DERAJAT RINGAN, SEDANG DAN BERAT

Pada penelitian ini didapatkan tidak adanya korelasi antara kadar kolagen dengan kadar AST,ALT,GGT dan albumin pada semua derajat perlemakan hati. Tidak adanya korelasi kemungkinan dikarenakan kadar enzim transaminase dan albumin

menurun/normal pada penyakit hati lanjut sedangkan kadar kolagen akan semakin meningkat pada penyakit hati lanjut.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Guang Xu dkk didapatkan adanya hubungan peningkatan ALT dengan kadar kolagen tipe IV pada penderita fibrosis, yang menunjukkan bahwa kolagen tipe IV meningkat jika terjadi inflamasi hati yang aktif.¹⁴ Terdapatnya perbedaan penelitian ini dengan penelitian Guang Xu kemungkinan disebabkan perbedaan subyek penelitian. Pada penelitian Guang Xu subyek penelitian adalah pasien yang menderita fibrosis sedangkan pada penelitian ini subyek penelitian adalah pasien yang belum menderita fibrosis.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 KESIMPULAN

Telah dilakukan penelitian pada 90 penderita perlemakan hati nonalkoholik derajat ringan, sedang dan berat berdasarkan pemeriksaan USG di poliklinik Hepatologi Departemen Ilmu Penyakit Dalam RSCM. Dari penelitian ini didapatkan adanya peningkatan kadar kolagen dari perlemakan derajat ringan, sedang dan berat dengan kadar kolagen untuk derajat ringan 68,80-83,65 ng/mL, derajat sedang 97,16-125,60 ng/mL, derajat berat 137,57-250,23 ng/mL.

Didapatkan juga adanya korelasi yang baik antara kadar kolagen dengan gambaran USG perlemakan hati ($r=0,933$), sehingga tujuan penelitian ini terbukti. Oleh karena itu disimpulkan kolagen IV ini dapat digunakan sebagai parameter dalam membantu menetapkan derajat penyakit perlemakan hati serta perubahannya ke arah penyakit lebih lanjut.

Didapatkan nilai parameter laboratorium lain (AST, ALT, GGT, albumin) untuk masing-masing derajat. Untuk derajat ringan didapatkan kadar AST 12,50-23,75 U/L, kadar ALT 11,20-25,10 U/L, kadar GGT 13,42-33,50 U/L, kadar albumin 3,59-4,30 g/dL. Untuk derajat sedang didapatkan kadar AST 16,37-35,39 U/L, kadar ALT 14,08-40,14 U/L, kadar GGT 17,98-72,36 U/L, kadar albumin 3,85-4,47 g/dL. Untuk derajat berat didapatkan kadar AST 10,20-98 U/L, kadar ALT 15,53-112,73 U/L, kadar GGT 25,49-95,89 U/L, kadar albumin 3,80-4,70 g/dL.

Untuk parameter laboratorium lain (AST, ALT, GGT, albumin) didapatkan tidak ada korelasi yang baik dengan kolagen tipe IV sehingga parameter ini tidak dapat dipakai untuk menggantikan pemeriksaan kolagen IV dalam menentukan

derajat penyakit perlemakan hati, walaupun didapatkan adanya kecenderungan peningkatan kadar parameter tersebut dari derajat ringan, sedang dan berat.

6.2 SARAN

- 6.2.1 Nilai kolagen tipe IV yang didapat pada penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai parameter dalam membantu diagnosis derajat penyakit perlemakan hati nonalkoholik bila tidak ada alat USG.
- 6.2.2 Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui nilai normal kadar kolagen IV.
- 6.2.3 Sebaiknya dilakukan penelitian pada populasi NAFLD yang dilengkapi dengan pemeriksaan biopsi hati untuk mengetahui kadar kolagen, mengingat pemeriksaan biopsi hati dapat membedakan NASH dengan perlemakan hati mumi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Das SK, Mukherjee S, Vasudevan D. Nonalcoholic fatty liver disease: an underrecognized cause with emerging importance. *Current Science* 2006;90(5):659-65.
2. Lesmana LA. Penyakit perlemakan hati nonalkoholik. Dalam: Sulaiman A, Akbar N, Lesmana LA, Noer S, editor. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Hati*. edisi ke-1. Jakarta: Jayabadi; 2007. hal. 301-5.
3. Basaranoglu M, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic fatty liver disease: Clinical features and pathogenesis. *Gastroenterol & Hepatol* 2006;2(4):282-9.
4. Collantes R, Ong JP, Younossi ZM. Nonalcoholic fatty liver disease and the epidemic of obesity. *Cleve Clin J Med* 2004;71(8):657-64.
5. Russo MW, Jacobson IM. Nonalcoholic fatty liver disease. 2002. Diunduh dari: URL: www.turner-white.com Diakses tanggal 15 Agustus 2007.
6. Amarapurkar D. How common is NAFLD in Asia Pacific and is there local differences. *The Consensus on NAFLD/NASH*. Cebu; 2006.
7. Angulo P. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *N Engl J Med* 2002;346(16):1221-31.
8. Bayard M, Holt J, Boroughs E. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Am Fam Physician* 2006;73:1961-8.
9. Neuschwander-Tetri BA. Fatty liver and nonalcoholic steatohepatitis. *Clinical cornerstone* 2001;3(6):47-54.
10. Lupsor M, Badea R. Imaging diagnosis and quantification of hepatic steatosis: Is it an accepted alternative to needle biopsy? *Rom J Gastroenterol* 2005;14(4):419-25.
11. Farrell GC, Larter CZ. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis. *Hepatology* 2006;43(2):S99-S112.
12. Santos VD, Mor ML, Kondo M, Martins J, Nader H, Lanzoni V, et al. Serum laminin, type IV collagen and hyaluronan as fibrosis markers in nonalcoholic fatty liver disease. *Braz J Med Biol Res* 2005;38(5):747-53.
13. Wu J, Mark A. Hepatic stellate cells: a target for the treatment of liver fibrosis. *J Gastroenterol* 2000;35:665-72.
14. Xu G-G, Luo C-Y, Wu S-M, Wang C-L. The relationship between staging of hepatic fibrosis and the levels of serum biochemistry. *HBPD Int* 2002;1(2):246-8.
15. Sherlock S, Dooley J. Anatomy and function. *Diseases of the liver and biliary system*. 11th ed. London: Blackwell Science; 2002. p.1-17.
16. Amirudin R. Fibrosis hati. Dalam: Sulaiman A, Akbar N, Lesmana LA, Noer S, editor. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Hati*. edisi ke-1. Jakarta: Jayabadi; 2007. hal.329-33.
17. Torok NJ. Recent advances in the pathogenesis and diagnosis of liver fibrosis. *J Gastroenterol* 2008;48:315-21.
18. King MW. The extracellular matrix. 2003. Diunduh dari: URL: mking@medicine.indstate.edu Diakses tanggal 15 Agustus 2007.
19. Hernandez AM, Amenta PS. The extracellular matrix in hepatic regeneration. *FASEB Journal* 1995;9:1401-10.
20. Grigorescu M. Noninvasive biochemical markers of liver fibrosis. *J Gastrointest Liv Dis* 2006;15(2):149-59.
21. Gelse K, Poschl E, Aigner T. Collagens structure, function, and biosynthesis. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2003;55:1531-46.
22. Insert package Human Collagen IV ELISA, Serum. Kamiya Biomedical Company. 2007.
23. Insert package for Determination of Human Type IV Collagen in serum Panassay IV C (Latex). Daichii. 2008.
24. Sakugawa H, Nakayoshi T, Kobashigawa K, Yamashiro T, Maeshiro T, Miyagi S, et al. Clinical usefulness of biochemical markers of liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2005;11(2):255-9.
25. Vozar I. Serum laboratory markers for noninvasive diagnosis and monitoring of liver fibrogenesis in patients with chronic liver disease. *Bratisl Lek Listy* 2005;106(3):123-6.

26. Xie S-B, Yao J-L, Zheng S-S, Yao C-L, Zheng R-Q. The level of serum fibrosis marks and morphometric quantitative measurement of hepatic fibrosis. *HBPD Int* 2002;1(2):202-6.
27. Lu LG, Zeng MD, Wan MB, Li CZ, Mao YM, Li JQ, et al. Grading and staging of hepatic fibrosis, and its relationship with noninvasive diagnostic parameters. *World J Gastroenterol* 2003;9(11):2574-8.
28. Gani RA. Manifestasi Klinik dan Penatalaksanaan Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). Dalam: Kumpulan Abstrak Liver Update 2002. Jakarta: Pusat Informasi dan Penerbitan Bagian Ilmu Penyakit Dalam FKUI; 2002. hal.28-30.
29. Adams LA, Angulo P, Lindor KD. Nonalcoholic fatty liver disease. *JAMC* 2005;172(7):899-905.
30. McAvoy N, Lockman A, Hayes P. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD):an overview. *J R Coll Physicians Edinb* 2007;37:9-17.
31. McAvoy N, Ferguson J, Campbell I, Hayes P. Nonalcoholic fatty liver disease: natural history, pathogenesis, and treatment. *Br J Diabetes Vasc Dis* 2006;6:251-60.
32. Bahrami H. Nonalcoholic fatty liver disease in developing countries. *World J Gastroenterol* 2005;11(24):3808-9.
33. Bahcecioglu IH, Koruk M, Yilmaz O, Bolukbas C, Bolukbas F, Tuncer I, et al. Demographic and Clinicopathological characteristics of Nonalcoholic fatty liver disease in the East Southeastern Anatolia Regions in Turkey. *Med Princ Pract* 2006;15:62-8.
34. Oneta CM, Dufour JF. Nonalcoholic fatty liver disease: treatment options based on pathogenic considerations. *Swiss Med Wkly* 2002;132:493-505.
35. Kim HC, Choi SH, Shin HW, Cheong JY, Lee KW, Lee HC, et al. Severity of ultrasonographic liver steatosis and metabolic syndrome in Korean men and women. *World J Gastroenterol* 2005;11(34):5314-21.
36. Saverymuttu H, Joseph A, Maxwell J. Ultrasound scanning in the detection of hepatic fibrosis and steatosis. *Br Med J* 1986;292:13-5.
37. Hasan I. Perlemakan hati non alkoholik. Dalam: Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, K MS, Setiati S, editor. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. edisi ke-4. Jakarta: Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI; 2006. hal.464-8.
38. Alwis NMWd, Day CP. Nonalcoholic fatty liver disease: The mist gradually clears. *J Hepatol* 2008;48:S104-S12.
39. Afdhal NH. Biopsy or biomarkers: is there a gold standard for diagnosis of liver fibrosis? *Clin Chem* 2004;50(8):1299-300.
40. Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest* 2005;115:209-18.
41. Tiniakos D, Kittas C. Pathology of nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Gastroenterol* 2005;18(2):148-59.
42. Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1999;30(6):1356-62.
43. Tetri BAN. Fatty liver and nonalcoholic steatohepatitis. *Liver Dis* 2001;3(6):47-54.
44. Das K, Kar P. Nonalcoholic Steatohepatitis. *J Assoc Physicians India* 2005;53:195-9.
45. Day C. Nonalcoholic steatohepatitis (NASH):where are we now and where are we going? *Gut* 2002;50:585-8.
46. Browning JD, Horton JD. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *J Clin Invest* 2004;114(2):147-52.
47. Stalnukowitz DK, Weissbrod AB. Liver fibrosis and inflammation. *Ann Hepatol* 2003;2(4):159-63.
48. Sebastiani G, Alberti A. Non invasive fibrosis biomarkers reduce but not substitute the need for liver biopsy. *World J Gastroenterol* 2006;12(23):3682-94.
49. Madiyono B, Moeslichan S, Sastroasmoro S, Budiman I, Purwanto SH. Perkiraan besar sampel. Dalam: Sastroasmoro S, Ismael S, editors. *Dasar-dasar metodologi penelitian klinis*. edisi ke-2. Jakarta: Agung Seto; 2002. hal.259-86.
50. Insert package AST (Aspartate aminotransferase). Roche diagnostic. 2001
51. Insert package ALT (Alanine aminotransferase). Roche diagnostic. 2002
52. Insert package Albumin. Roche diagnostic. 2003
53. Insert package GGT (Gammaglutamyl Transferase). Roche diagnostic. 2003

54. Mundo A. Statistical Methods for Health Care Research. 4 ed. Philadelphia: Lippincott; 2001. p.95-271.
55. Cembrowski GS, Sullivan AM, Hofer TL. Quality Control and Statistics. In: Bishop ML, Engelkirk JLD, Fody EP, editors. Clinical Chemistry Principle,Procedures, Correlations. 4 ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2000. p.40-61.
56. Amarapurkar D, Kamani P, Patel N, Gupte P, Kumar P, Agal S, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease:population based study. *Ann Hepatol* 2007;6(3):161-3.
57. Lusong MAD, Labio E, Daez L, Gloria V. Nonalcoholic fatty liver disease in the Philippines:Comparable with other nations? *World J Gastroenterol* 2008;14(6):913-7.
58. Tsukamoto H. Fat paradox in liver disease. *Keio J Med* 2005;54(4):190-2.
59. Kamikowski M, Cordova C, Oliveira RJd, Karnikowski MGdO, Nobrega OdT. Nonalcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome in Brazilian middle aged and older adults. *Sao Paulo Med J* 2007;125(6):333-7.
60. Giboney PT. Mildly elevated liver transaminase levels in the asymptomatic patient. *Am Fam Physician* 2005;71:1105-10.
61. Fody EP. Liver Function. In: Bishop ML, Engelkirk JLD, Fody EP, editors. Clinical Chemistry Principles, Procedures, Correlations. 4 ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2000. p.353-71.
62. Harrison SA, Tetri BN. Clinical manifestations and diagnosis of NAFLD. In: Farrell GC, George J, Hall PdIM, McCullough AJ, editors. Fatty Liver Disease:NASH and Related Disorders. 1 ed. Massachusetts: Blackwell Publishing; 2005. p.159-67.
63. Chang Y, Ryu S, Sung E, Jang Y. Higher concentrations of alanine aminotransferase within the reference interval predict nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Chem* 2007;53(4):686-92.
64. Grundy SM. Gamma glutamyl transferase, Another biomarker for metabolic syndrome and cardiovascular risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:4-7.

Lampiran 1. Keterangan Lolos Kaji Etik



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS KEDOKTERAN**

Jalan Salemba Raya No. 6 Jakarta Pusat
Pos Box 1358 Jakarta 10430

Kampus Salemba Telp. 31930371, 31930373, 3922977, 3927360, 3912477, 3153236 Fax. : 31930372, 3157288 e-mail : office@fk.ui.ac.id

No : 78 /PT02.FK/ETIK/2008

**KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
ETHICAL CLEARANCE**

Panitia Tetap Penilai Etik Penelitian, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul:
The Committee of The Medical Research Ethics of the Faculty of Medicine, University of Indonesia, with regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :

"KADAR KOLAGEN TIPE IV PADA PENDERITA NONALCOHOLIC FATTY LIVER".

Nama peneliti utama : dr. ALVINA
Name of the principal investigator

Nama institusi : PATOLOGI KLINIK FKUI/RSCM
Name of institution

dan telah menyetujui protokol tersebut di atas.
and approved the above mentioned proposal.

-Peneliti wajib menjaga
kerahasiaan identitas
subyek penelitian

Jakarta, 10 Maret 2008



Prof. Dr. dr. Agus Firmansyah, SpA(K)