

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Kerusakan hati merupakan dasar utama terjadinya gangguan hati yang menjadi penyebab utama kematian di dunia dengan sumbangsih sekitar dua juta kematian setiap tahunnya (Asrani *et al.*, 2019; Krishnan, 2019). Sirosis, hepatitis akibat virus, dan kanker hati menjadi kasus gangguan hati dengan jumlah kematian paling tinggi dengan persentase 3,5% dari total kematian di seluruh dunia (Asrani *et al.*, 2019). Sedangkan di Indonesia, kasus kematian akibat gangguan hati pada tahun 2018 mencapai 59.774 kasus atau 3,51% dari total seluruh kematian (World Health Organization, 2018). Etiologi kerusakan hati sangat beragam mulai dari paparan toksin, virus, hingga kelainan genetik (Sharma dan Nagalli, 2021). Faktor penyebab kerusakan hati berkontribusi terhadap terjadinya inflamasi dan kerusakan pada sel parenkim primer maupun sel nonparenkim yang memicu progresifitas penurunan fungsi hati pada sintesis faktor pembekuan dan protein, detoksifikasi, dan sekresi empedu (Higuchi dan Gores, 2005; Sharma dan Nagalli, 2021). Proses kerusakan dan kematian yang terjadi baik pada sel parenkim primer maupun nonparenkim secara terus menerus akan menyebabkan penyakit hati kronis yang umumnya tidak menunjukkan gejala ataupun tanda hingga pada tingkat lebih parah akan terbentuk kondisi sirosis dan kanker hati (Higuchi dan Gores, 2005; Asrani *et al.*, 2019; Krishnan, 2019). Mekanisme terapi kerusakan hati adalah dengan meregulasi dan memodulasi jalur persinyalan baik yang secara langsung maupun tidak langsung berkontribusi dalam pencegahan dan perbaikan sel hati (Sun *et al.*, 2020).

Asam ursolat (AU) merupakan senyawa triterpenoid pentasiklik alami yang melimpah dan banyak ditemukan dalam makanan, buah-buahan, dan tanaman seperti apel, zaitun, plum, *cranberries*, *rosemary*, oregano, dan *eucalyptus* (Shaikh, Sawant, dan Dixit, 2021; Wang *et al.*, 2021). Kemampuan AU dalam memediasi dan memodulasi beragam jalur mekanisme menjadikan AU memiliki aktivitas antiinflamasi, antioksidan, antiobesitas, antidiabetes, kardioprotektif, antihiperlipidemia, neuroprotektif, hepatoprotektif, antiatrofi otot rangka, antiaterosklerosis, antikanker, kemopreventif, antikarsinogenik, antibiotik, antipenuaan, dan immunomodulator (López-hortas *et al.*, 2018; Seo *et al.*, 2018; Ali *et al.*, 2019; Sun *et al.*, 2020; Shaikh, Sawant, dan Dixit, 2021). Sebagai agen hepatoprotektor, AU bersifat hepatoprotektif yang sekaligus efektif dalam perbaikan terhadap kerusakan hati yang menyebabkan

penyakit hati kronis. Adapun penyakit hati kronis dapat berupa penyakit hati berlemak, fibrosis, sirosis, karsinoma, maupun kanker hati. AU bersifat hepatoprotektif melalui mekanisme diantaranya jalur persinyalan mTOR dan AMPK, menghambat stres retikulum endoplasma pada hati, serta meningkatkan fungsi mitokondria dll (López-hortas *et al.*, 2018; Seo *et al.*, 2018; Ali *et al.*, 2019; Sun *et al.*, 2020; Shaikh, Sawant, dan Dixit, 2021). Namun, pemanfaatan AU sangat terbatas karena termasuk ke dalam BCS kelas IV dengan karakteristik kelarutan dan permeabilitas yang buruk (Miatmoko, Mianing, *et al.*, 2021). Bioavailabilitas AU yang rendah akibat kelarutan dan permeabilitasnya yang buruk serta waktu paruh yang singkat sehingga mempengaruhi efisiensi dan efek terapeutik yang minimal dalam penggunaan klinis (Jin *et al.*, 2016; L. Wang *et al.*, 2021). Maka dari itu, pengembangan strategi penghantaran AU dilakukan untuk memperbaiki karakteristik dan mampu meningkatkan bioavailabilitas (Khwaza, Oyediji, dan Aderibigbe, 2020)

Niosom adalah salah satu model penghantaran obat berbasis nanovesikel dengan struktur bilayer yang terbentuk dari surfaktan nonionik dan kolesterol dalam fase air sehingga mampu memuat obat hidrofilik pada inti partikel serta hidrofobik pada membran bilayer sekaligus. Niosom merupakan bentuk modifikasi dari liposom dimana surfaktan nonionik yang menjadi penyusun utama menghasilkan sediaan yang tidak bermuatan serta memberikan keuntungan *biodegradable*, biokompatibel, nonimunogenik, dan stabil pada saluran cerna utamanya dari pengaruh asam lambung. Niosom memiliki kemampuan meningkatkan *shelf life*, stabilitas, dan penghantaran obat pada target yang spesifik (Ag Seleci *et al.*, 2016). Pemanfaatan niosom pada paclitaxel sebagai salah satu agen kemoterapi yang menjadi lini pertama pada terapi kanker termasuk ke dalam BCS golongan IV telah terbukti memberikan perubahan nilai *Area Under Curve* (AUC) 4,44 kali lebih tinggi, nilai *Mean Residence Time* (MRT) 6,6 kali lebih tinggi, waktu paruh 6,6 lebih tinggi, dan koefisien ekskresi 6,7 lebih rendah dibandingkan paclitaxel *nonaqueous solution* (Sezgin Bayindir, Beşikci, dan Yüksel, 2015). Penggunaan niosom pada terapi kerusakan hati memanfaatkan mekanisme ambilan pasif oleh efek *Enhanced Permeability Retention* (EPR), sel Kupffer, dan ikatan surfaktan nonionik dengan apolipoprotein yang memberikan penghantaran spesifik yang terakumulasi pada hati sebagaimana pada pemanfaatan niosom sebagai sistem penghantar doxorubicin dan silibinin pada terapi kanker hati dan fibrosis hati (Böttger *et al.*, 2020).

Rute penggunaan peroral menjadi fokus pengembangan sediaan niosom AU karena meningkatkan kenyamanan, keamanan, dan meningkatkan kepatuhan pasien terhadap terapi (Li *et al.*, 2018). Peningkatan penetrasi dan absorpsi AU pada saluran cerna pada pemberian secara peroral serta peningkatan stabilitas niosom AU dapat dilakukan menggunakan pelapisan kitosan (Moghassemi *et al.*, 2015; Miatmoko, *et al.*, 2021). Kitosan adalah polisakarida alam yang berasal dari deasetilasi kitin dengan sifat kationik (Alvarenga, 2011; Li *et al.*, 2018). Kitosan memiliki karakteristik biokompatibel, nontoksik, alergenitas yang rendah, mampu terurai secara hayati, dan dapat meningkatkan bioavailabilitas serta waktu sirkulasi obat yang pada pengembangan sediaan nanomaterial memberikan hasil yang positif pada aplikasi medis yang luas (Alvarenga, 2011; Li *et al.*, 2018). Nilai pKa kitosan yang berkisar antara 6,2 hingga 7,0 memberikan kitosan kecenderungan untuk larut di suasana asam yang memberikan stabilitas dan pelepasan obat secara *in vivo* yang baik (Karim dan Sattwa, 2010; Alvarenga, 2011; Khalifa dan Rasool, 2017). Muatan positif dari gugus amino kitosan mampu berikatan secara ionik pada permukaan sel yang bermuatan negatif sehingga menghasilkan sifat *mucoadhesive* yang memberikan pelepasan terkontrol dan peningkatan permeabilitas. Kemampuan membuka *tight junction* dari sel epitel meningkatkan penetrasi ke dalam peredaran sistemik. Sifat kitosan yang hidrofilik meningkatkan waktu sirkulasi karena tidak mudah mengalami opsonisasi (Moghassemi *et al.*, 2015; Mohammed *et al.*, 2017; Moraru *et al.*, 2020; M. Wang *et al.*, 2017). Peningkatan stabilitas oleh pelapisan kitosan pada Nio-AU dikarenakan pelapisan kitosan memberikan nilai zeta potensial pada rentang yang cukup untuk memberikan gaya saling tolak-menolak dan efek sterik oleh kitosan (Aquila, 2018; Miatmoko, Safitri, *et al.*, 2021).

Pada penelitian sebelumnya, sudah dilakukan optimasi formula sediaan Nio-AU dengan menentukan pengaruh rasio span 60 – kolesterol – AU terhadap karakteristik fisikokimia yang meliputi ukuran partikel, ζ -potensial, efisiensi enkapsulasi, serta stabilitas fisik. Formula dengan rasio mol persen span 60 – kolesterol – AU 3 : 2 : 10 dipilih karena menunjukkan karakter fisikokimia yang baik dibandingkan formula yang lain (Ameliah Safitri, 2018). Penelitian oleh Aquila, 2018 dalam melihat pengaruh penambahan kitosan terhadap karakteristik fisikokimia dan pelepasan obat Nio-AU memberikan hasil bahwa pelapisan kitosan dapat meningkatkan ukuran partikel, ζ -potensial, dan *polydispersity index* niosom namun masih dalam rentang yang diterima untuk memberikan sediaan yang stabil dibuktikan pada uji stabilitas fisik dengan tidak

terbentuknya endapan pada sediaan Nio-AU pada suhu 4 °C selama 14 hari. Selain itu pelapisan kitosan memberikan pelepasan yang lebih tinggi pada pH basa. Pada uji *in vitro* terhadap ambilan sel dan sitotoksitas Nio-AU dengan pelapisan kitosan, mampu menurunkan nilai IC₅₀ pada sel HeLa namun meningkatkan IC₅₀ pada sel Huh7it. Sedangkan pelapisan kitosan pada Nio-AU tidak mempengaruhi ambilan sel HeLa secara bermakna (Sarasitha Hariawan, 2020). Pada uji *in vivo*, N-nitrosodietilamin (NDEA) sebagai agen hepatotoksik bersifat hepatokarsinogenik dengan menghasilkan radikal bebas dan menyebabkan inflamasi yang mengarah pada pembentukan karsinoma hati (Cahyani, Miatmoko, dan Hariawan, 2021). Pada penelitian Cahyani, 2020 menggunakan *animal model* kerusakan hati pada mencit yang diinduksi oleh NDEA dengan dosis 25 mg/kg BB yang diberikan seminggu sekali selama 5 minggu, terbentuk kondisi lipidosis pada hati dan steatohepatitis. Pemberian terapi Nio-AU dengan pelapisan kitosan meningkatkan biodistribusi Niosom AU (Nio-AU) yang dilabeli coumarin-6 dibandingkan Nio-AU tanpa pelapisan kitosan. Biodistribusi dalam organ mencit yang diberi Nio-AU dengan pelapisan kitosan (Nio-AU-Cs) menunjukkan akumulasi tinggi secara kualitatif pada organ liver. Pada penelitian lain, sampel plasma mencit yang diberikan Nio-AU-Cs menunjukkan kadar AU yang lebih besar 7x lipat dari pada mencit yang diberi Nio-AU dan 10x lipat lebih besar dari pada mencit yang diberi suspensi AU. Kadar tertinggi AU pada liver terdapat pada mencit yang diberikan suspensi AU dan kadar terendah terdapat pada mencit yang diberi niosom AU dengan pelapisan kitosan yang menunjukkan pelapisan kitosan memberikan waktu sirkulasi yang lebih lama (Priyambudi, 2021).

Dari latar belakang di atas, maka dilakukan penelitian mengenai uji *in vivo* terkait efektivitas terapi kuratif terhadap perbaikan kondisi hati yang rusak akibat induksi NDEA. Uji dilakukan dengan pemberian AU dengan sistem penghantaran Nio-AU-Cs, Nio-AU, dan suspensi AU secara peroral. Pemberian yang setara dengan AU 11 mg/kgBB yang digunakan pada penelitian ini merujuk pada Jin *et al.*, 2016 yang terbukti mampu menghambat pertumbuhan tumor dan metastasis pada hati dengan pemberian setiap dua hari sekali sebanyak delapan kali. Efektivitas terapi dievaluasi berdasarkan parameter berat badan, berat organ relatif terhadap berat badan, morfologi organ, kadar SGOT, kadar SGPT, dan histopatologi jaringan hati. Pemberian Nio-AU-Cs diharapkan akan memberikan perbaikan berupa profil berat badan, berat relatif organ, morfologi organ, penurunan kadar SGOT dan SGPT, serta perbaikan histologi jaringan hati yang lebih baik dibandingkan Nio-AU dan suspensi AU dalam kurun

waktu terapi dan dosis yang sama karena niosom yang dilapisi kitosan mampu meningkatkan bioavailabilitas, waktu sirkulasi, dan akumulasi pada organ liver.

1.2. Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah pengaruh pelapisan kitosan pada niosom asam ursolat terhadap peningkatan efektivitas terapi kuratif kerusakan hati pada mencit yang diinduksi N-Nitrosodietilamin ditinjau dari berat badan, berat relatif organ terhadap berat badan, dan morfologi organ?
2. Bagaimanakah pengaruh pelapisan kitosan pada niosom asam ursolat terhadap peningkatan efektivitas terapi kuratif kerusakan hati pada mencit yang diinduksi N-Nitrosodietilamin ditinjau dari kadar SGOT dan SGPT?
3. Bagaimanakah pengaruh pelapisan kitosan pada niosom asam ursolat terhadap peningkatan efektivitas terapi kuratif kerusakan hati pada mencit yang diinduksi N-Nitrosodietilamin ditinjau dari histologi jaringan hati?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Mengevaluasi pengaruh pelapisan kitosan pada niosom asam ursolat terhadap peningkatan efektivitas terapi kuratif kerusakan hati pada mencit yang diinduksi N-Nitrosodietilamin ditinjau dari berat badan, berat relatif organ terhadap berat badan, dan morfologi organ
2. Mengevaluasi pengaruh pelapisan kitosan pada niosom asam ursolat terhadap peningkatan efektivitas terapi kuratif kerusakan hati pada mencit yang diinduksi N-Nitrosodietilamin ditinjau dari kadar SGOT dan SGPT
3. Mengevaluasi pengaruh pelapisan kitosan pada niosom asam ursolat terhadap peningkatan efektivitas terapi kuratif kerusakan hati pada mencit yang diinduksi N-Nitrosodietilamin ditinjau dari histologi jaringan hati

1.4. Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh pelapisan kitosan pada niosom asam ursolat terhadap peningkatan efektivitas terapi kuratif kerusakan hati pada mencit yang diinduksi N-Nitrosodietilamin ditinjau dari berat badan, berat relatif organ terhadap berat badan, morfologi organ, kadar SGOT, kadar SGPT, serta histologi jaringan hati.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kerusakan Hati

Kerusakan hati yang terjadi akibat gangguan hati merupakan penyebab utama kematian setiap tahun (Krishnan, 2019). Kematian akibat kerusakan hati diperkirakan mencapai dua juta kasus kematian per tahun di seluruh dunia. Laporan kasus kematian akibat kerusakan hati paling banyak dikarenakan sirosis dan hepatitis dengan masing-masing satu juta kasus kematian. Secara global, kasus kerusakan hati menjadi penyebab kematian dengan sumbangsih 3,5% total kematian di seluruh dunia (Asrani *et al.*, 2019). Di Indonesia, pada tahun 2018 kematian akibat kerusakan hati terjadi pada 28,78 per 100.000 penduduk dan mencapai 59.774 kasus atau 3,51% dari total kematian yang menjadikan Indonesia menempati urutan 38 dunia kematian akibat kerusakan hati (World Health Organization, 2018). Data statistik kasus kerusakan hati menunjukkan bahwa kerusakan hati akibat gangguan hati sudah menjadi hal yang lazim di dunia dengan faktor penyebab yang beragam (Asrani *et al.*, 2019; Krishnan, 2019).

Kerusakan hati adalah kondisi penurunan fungsi hati secara progresif yang meliputi sintesis faktor pembekuan dan protein, detoksifikasi produk metabolisme, dan sekresi empedu akibat proses berkelanjutan dari inflamasi, destruksi, dan regenerasi parenkim yang berkembang menjadi sirosis dan kanker hati (Sharma dan Nagalli, 2021). Faktor penyebab kerusakan hati sangat beragam mulai dari toksin, konsumsi alkohol yang berlebih dalam jangka waktu yang lama, infeksi, gangguan autoimun, hingga kelainan genetik dan metabolik. Etiologi dari kerusakan hati kronis yang paling umum adalah infeksi kronis virus hepatitis, gangguan hati akibat alkohol (*alcoholic-related liver disease*; ALD), dan gangguan hati berlemak non-alkohol (*nonalcoholic fatty liver disease*; NAFLD), kelainan genetik (Defisiensi antitripsin alpha-1, hemokromatosis herediter, dan *wilson disease*), autoimun (sirosis bilier primer, kolangitis sklerosis primer, dan hepatitis autoimun), dan konsumsi obat-obatan hepatotoksik (Moon, Singal, dan Tapper, 2020; Sharma dan Nagalli, 2021).

Pada kondisi infeksi hepatitis oleh virus menyebabkan iritasi dan inflamasi pada hati. Pada kondisi ALD, konsumsi alkohol dapat menyebabkan kerusakan serius pada hati karena metabolisme alkohol yang dilakukan di hati. Pada kondisi NAFLD, hati mengalami steatohepatitis bersamaan dengan peradangan dan kerusakan serius yang bukan disebabkan oleh alkohol. Pada kasus kelainan genetik defisiensi antitripsin alpha-1 menyebabkan akumulasi polimer pada pembentukan hepatosit yang menyebabkan

kerusakan sel hati kronis, sedangkan pada hemokromatosis hereditas terjadi peningkatan kadar besi dalam tubuh akibat mutasi yang melibatkan gen HFE yang meregulasi penyerapan zat besi dalam usus sehingga terjadi pembentukan radikal bebas hidroksil dan fibrosis organ pada tahap lebih lanjut, dan pada *wilson disease* adanya akumulasi tembaga akibat gangguan resesif autosomal sehingga menyebabkan fibrosis hepatosit. Pada kondisi autoimun sirosis bilier primer terjadi destruksi pada saluran bilier primer intrahepatik dan peradangan pada portal dan jaringan parut. Sedangkan, pada kolangitis sklerosis primer terjadi penyempitan saluran intrahepatik dan ekstrahepatik akibat inflamasi dan pada hepatitis autoimun terjadi inflamasi karena respon antibodi yang berlebihan (Krishnan, 2019; Manne dan Kowdley, 2020; Sharma dan Nagalli, 2021). Kerusakan hati yang disebabkan etiologi yang beragam melibatkan proses yang kompleks dan saling terkait (Higuchi dan Gores, 2005).

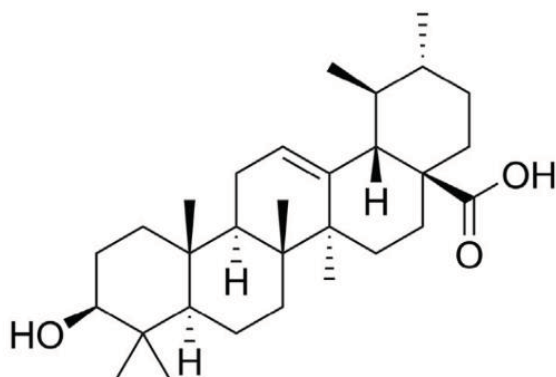
Kematian sel dan peradangan adalah dua kunci utama proses kerusakan hati. Kematian sel parenkim primer (hepatosit) dapat menyebabkan peradangan sekunder pada sel nonparenkim. Sitokin yang diproduksi oleh sel inflamasi meningkatkan kerusakan pada hepatosit serta menyebabkan kolestasis. Selain itu, kematian dan kerusakan yang terjadi pada sel nonparenkim menyebabkan kerusakan hepatosit akibat kolestasis dan gangguan mikrosirkulasi. Apoptosis pada sel parenkim primer menjadi kejadian yang teramati pada proses kerusakan hati. Apoptosis dapat terjadi melalui jalur ekstrinsik (reseptor kematian sel) dan jalur intrinsik (mitokondria). Pada apoptosis yang diperantarai reseptor kematian, hepatosit dan sel fagosit akan menginduksi produksi sitokin inflamasi, kemokin, dan mediator fibrogenik Transforming Growth Factor- β (TGF- β) di hati yang memicu sinyal apoptosis dan menyebabkan peradangan, fibrosis, serta disfungsi organ. Pada apoptosis yang terjadi di mitokondria dipicu oleh stress intraseluler seperti kerusakan DNA, perubahan ion kalsium intraseluler, dan stress endoplasma (Higuchi dan Gores, 2005). Proses kerusakan dan kematian yang terjadi baik pada sel parenkim primer maupun nonparenkim secara terus menerus akan menyebabkan penyakit hati kronis yang umumnya tidak menunjukkan gejala ataupun tanda hingga pada tingkat lebih parah akan terbentuk kondisi sirosis dan kanker hati (Higuchi dan Gores, 2005; Asrani *et al.*, 2019; Krishnan, 2019).

Pengujian laboratorium menjadi penting dalam diagnosis dan pemantauan pada gangguan dan kerusakan hati karena mampu menjadi indikator terjadinya disregulasi fungsi hati, kerusakan hati, dan perubahan serologi hati (McGill, 2016). Uji yang dilakukan adalah penanda plasma, penanda fungsi, serologi virus hepatitis, dan penanda

proliferasi. Namun diantara uji yang dilakukan, uji penanda plasma utamanya *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT) dan *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGPT) adalah uji yang paling sering digunakan (Giannini, Testa, dan Savarino, 2005; McGill, 2016; Han *et al.*, 2020). Pengamatan penampang histopatologi hati menjadi uji yang paling umum digunakan pada penelitian model *in vivo* (hewan coba) (Gutiérrez-Rebolledo *et al.*, 2016; Akshatha *et al.*, 2018; Hasan, Tamanna, dan Haque, 2018). Selain itu, pengumpulan terhadap data klinis pada hewan coba dalam penelitian model *in vivo* seperti berat badan, berat relatif organ, dan morfologi organ menjadi salah satu parameter yang bisa diamati terkait adanya toksisitas (Mukherjee dan Ahmad, 2015; Cahyani, s, dan Hariawan, 2021)

2.2. Asam Ursolat

Asam ursolat (AU) dengan struktur seperti pada **Gambar 2.1** merupakan padatan kristal dengan duri-duri halus seperti rambut. Memiliki nama kimia *3 β -hydroxy-urs-12-en-28-oic-acid*, PubChem CID: 64945, CAS:77-52-1, rumus molekul $C_{30}H_{48}O_3$, berat molekul 456,70032 g/mol, dan titik leleh 284 °C (Navin dan Mi Kim, 2016; Sun *et al.*, 2020). Asam ursolat termasuk dalam golongan triterpenoid pentasiklik arbutin alami yang banyak ditemukan dalam makanan, buah-buahan, bahan obat, dan tanaman seperti apel, zaitun, plum, dan *cranberries* (L. Wang *et al.*, 2021). Struktur kimia AU terdiri dari C-30 yang dibangun dari unit isoprenoid dengan cincin A, B, C, D, dan E baik dalam bentuk aglikon ataupun asam bebas saponin (gambar 2.1) (Lópezhortas *et al.*, 2018; Pironi *et al.*, 2018; Shanmugam *et al.*, 2013). Potensi besar AU sebagai bahan aktif linier dengan efek menguntungkan bagi kesehatan manusia (Lópezhortas *et al.*, 2018). Penelitian AU yang sudah dilakukan, menunjukkan hasil bahwa AU memiliki berbagai aktivitas biologis yang berpengaruh baik terhadap efek farmakologi (Wan *et al.*, 2019)



Gambar 2.1 Struktur asam ursolat (Lópezhortas *et al.*, 2018)

AU memiliki banyak aktivitas biologis penting karena mampu memediasi beberapa proses farmakologi dan memodulasi beragam jalur mekanisme dalam mencegah perkembangan penyakit kronis (Ali *et al.*, 2019; Seo *et al.*, 2018). AU mampu berperan sebagai antiinflamasi, antioksidan, antiobesitas, antidiabetes, kardioprotektif, antihiperlipidemia, neuroprotektif, hepatoprotektif, antiatrofi otot rangka, antiaterosklerosis, antikanker, kemopreventif, antikarsinogenik, antibiotik, antipenuaan, dan immunomodulator (López-hortas *et al.*, 2018; Seo *et al.*, 2018; Ali *et al.*, 2019; Sun *et al.*, 2020; Shaikh, Sawant, dan Dixit, 2021). Mekanisme AU dalam pencegahan perkembangan penyakit kronis meliputi regulasi pada *nuclear factor-kappa B* (NF- κ B) dan sinyal apoptosis pada sel kanker, persinyalan insulin pada jaringan adiposa, ekspresi dari penanda kerusakan jantung, inflamasi dan antioksidan pada otak, persinyalan atrofi dan metabolisme pada otot skeletal, serta persinyalan metabolisme dan antioksidan pada hati (Seo *et al.*, 2018). Kemampuan dan aktivitas AU sebagai hepatoprotektor mampu melindungi hati dari kerusakan yang mengakibatkan penyakit hati kronis seperti penyakit hati berlemak, fibrosis hati, karsinoma, dan kanker hati (Ali *et al.*, 2019; Seo *et al.*, 2018).

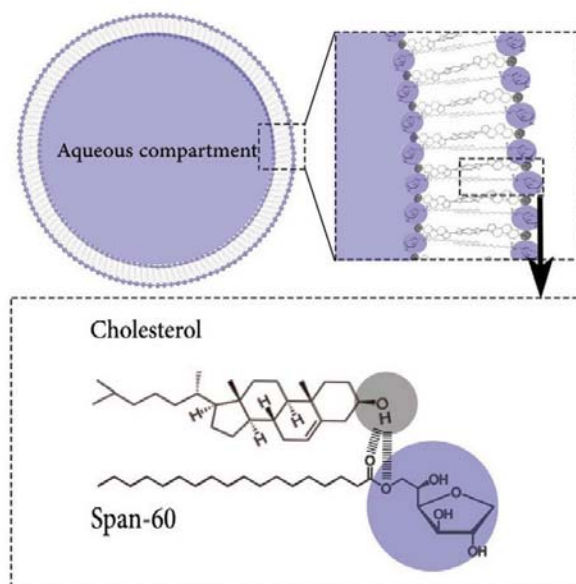
Studi review oleh Sun *et al.*, 2020 yang dilakukan pada penelitian secara *in vivo* terhadap hewan coba, AU menunjukkan mekanisme pencegahan dan perbaikan kerusakan hati sebagai hepatoprotektor melalui jalur persinyalan autofagi *mammalian target of rapamycin* (mTOR) dan *adenosine monophosphate-activated protein kinase* (AMPK); Menurunkan berat liver, dan steatosis pada liver; Meningkatkan oksidasi lipid β dan menghambat stres pada retikulum endoplasma pada hati; Meningkatkan stimulus *nuclear factor-erythroid factor 2-related factor 2* (Nrf2), heme oxygenase-1 (HO-1), *NAD(P)H Quinone Dehydrogenase 1* (NQO1), dan *glutathione S-transferase* (GST) serta menurunkan stimulus *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), *prostaglandin E2* (PGE2), dan *inducible nitric oxide synthase* (iNOS); Menghambat sitokrom P450 2E1 (CYP2E1), menurunkan *interleukin-1 β* (IL-1 β) dan siklooksigenase-2 (COX-2), serta mengaktivasi *c-Jun N-terminal kinase* (JNK), p38 mitogen-activated protein kinases (p38 MAPKs), extracellular signal-regulated kinases (ERK), dan *nuclear factor-kappa B* (NF- κ B); Mengurangi kadar kreatinin dalam plasma dan nitrogen urea dalam darah serta meningkatkan fungsi mitokondria dan status redoks glutathion (GSH); Normalisasi kadar penanda kerusakan hati seperti AST, ALT, ALP, dan total bilirubin serta mengurangi nekrosis dan vakuola. Meskipun AU memiliki banyak manfaat secara

farmakologi dan kemampuan meregulasi pencegahan dan perbaikan hati melalui banyak jalur mekanisme. Namun, AU adalah salah satu bahan aktif dengan kelarutan dalam air dan permeabilitasnya yang buruk (Khwaza, Oyedjeji, dan Aderibigbe, 2020; Sun *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2021).

Berdasarkan klasifikasi *Biopharmaceutical Classification System* (BCS), AU dikategorikan ke dalam senyawa kelas IV karena karakteristik kemampuan kelarutannya dalam air yang rendah dan permeabilitas dalam menembus membran biologis yang buruk (Miatmoko, Mianing, *et al.*, 2021). Selain itu, AU juga memiliki waktu paruh yang singkat (M. Wang *et al.*, 2017). Kelemahan ini, secara langsung membatasi kemampuan bioaktivitas dan bioavailabilitas serta menurunkan efisiensi dan penerapan AU secara klinis (Jin *et al.*, 2016; L. Wang *et al.*, 2021).

2.3. Niosom

Niosom merupakan inovasi sistem penghantaran obat vesikel yang terbuat dari lapisan ganda surfaktan nonionik berukuran nano yang dibuat dengan hidrasi surfaktan nonionik dengan penggabungan kolesterol atau lipid lainnya (Kamal *et al.*, 2018). Niosom berbentuk bulat dengan struktur bilayer yang dibentuk oleh surfaktan nonionik bersifat hidrofilik menghadap luar (fasa air) dan kolesterol bersifat hidrofobik menghadap ke dalam (Bruschi, 2015; Yeo *et al.*, 2018). Akibatnya, niosom memiliki karakteristik kemampuan penjebakan dan membawa obat yang bersifat hidrofilik di bagian dalam dan hidrofobik di bagian lapisan penyusunnya (**Gambar 2.2**) (Mahale *et al.*, 2012).



Gambar 2.2 Struktur niosom oleh kolesterol dan span-60

Berdasarkan ukuran vesikel, niosom digolongkan ke dalam tiga kelompok yaitu *small unilamellar vesicles* (SUV) (0.025 – 0.05 μm), *multilamellar vesicles* (MLV) (>0.05 μm), dan *large unilamellar vesicles* (LUV) (>0.10 μm) (Moghassemi dan Hadjizadeh, 2014). Selain pemanfaatan ukuran nano, penggunaan surfaktan nonionik merupakan pembawa nanopolimer paling baik dengan peran luas dalam usaha penghantaran obat terkontrol, berkelanjutan, dan tertarget. Surfaktan nonionik tidak memiliki muatan pada kepala hidrofiliknya yang membuat proses perakitan bentuk niosom dapat terbentuk sendiri dalam dispersi air (Moghassemi dan Hadjizadeh, 2014). Penggunaan surfaktan nonionik memberikan lingkungan yang tidak bermuatan sehingga menghasilkan sifat biokompatibilitas dan stabilitas yang sangat baik, penyimpanan dan penanganan yang mudah, *biodegradable*, nonimunogenik, meningkatkan kelarutan bahan aktif yang kurang larut air, permeabilitas dan fluiditas melalui membran biologis, serta memiliki toksisitas yang rendah (Mahale *et al.*, 2012; Ag Seleci *et al.*, 2016; Khoee dan Yaghoobian, 2017; Yeo *et al.*, 2018).

Pemanfaatan niosom sebagai sistem penghantaran obat ditinjau dari dua perspektif yaitu jenis bahan aktif yang harus dibawa dan rute pemberian (Khoee dan Yaghoobian, 2017). Dari perspektif bahan aktif yang harus dibawa didasarkan atas karakteristik bahan aktif yang umumnya tergolong ke dalam BCS kelas II, III, dan IV yang memiliki masalah terkait kelarutan, permeabilitas, ataupun keduanya seperti paclitaxel, acyclovir, repaglinide dan enoxacin/gentamicin. Dari perspektif rute pemberian, penghantaran rute oral, transdermal, okular, paru, dan nasal sangat mempengaruhi formula dalam usaha mengurangi efek *first pass metabolism*, meningkatkan bioavailabilitas, dan penghantaran yang langsung menuju target (Khoee dan Yaghoobian, 2017; Osanloo *et al.*, 2018; Yaghoobian *et al.*, 2020). Pada sistem penghantaran obat pada organ hati, pemanfaatan niosom memberikan penghantaran bahan aktif yang terakumulasi di hati setelah beberapa jam pemberian secara parenteral seperti doxorubicin dan silibinin. Bahan aktif terakumulasi pada hati umumnya akibat mekanisme ambilan pasif dan dimetabolisme oleh sel kuppfer, fagositosis yang dimediasi *reticuloendothelial system* (RES), serta ikatan dengan reseptor *retinol-binding protein receptor* (RBPR) dan *platelet-derived growth factor receptor- β* (PDGFR β). Selain itu, ikatan surfaktan nonionik dengan apolipoprotein memberikan penghantaran yang spesifik menuju hepatosit melalui jalur *Low-density lipoprotein receptors* (LDLR) (Böttger *et al.*, 2020).

Sebagai sistem penghantaran obat vesikel, niosom merupakan perkembangan dari liposom (Ag Seleci *et al.*, 2016; Mahale *et al.*, 2012). Meskipun niosom dan liposom memiliki struktur bilayer yang serupa, memiliki model kerja yang sama sebagai pembawa dalam penghantaran obat tertarget dan berkelanjutan, memiliki kemampuan memperpanjang waktu sirkulasi obat, mengubah distribusi obat, stabilitas metabolik, dan menunjukkan karakter dalam interaksinya dengan sel. Namun, komponen pembentuk dan sifat kimia niosom berbeda dengan liposom. Hal tersebut dikarenakan struktur niosom dibentuk oleh lipid/kolesterol dan surfaktan nonionik sedangkan liposom dibentuk oleh fosfolipid. Penggunaan surfaktan nonionik pada niosom sebagai komponen penyusun menyebabkan niosom memiliki stabilitas fisikokimia dibandingkan liposom dengan fosfolipidnya yang secara fisikokimia tidak stabil. Selain itu, liposom memerlukan cara khusus dalam penyimpanan, penanganan, dan proses pemurnian fosfolipid sedangkan niosom tidak memerlukan cara khusus dan relatif lebih murah dibandingkan liposom (Khoee dan Yaghoobian, 2017; Yeo *et al.*, 2018).

Penggunaan sistem penghantaran bahan aktif dengan niosom memberikan keuntungan meningkatkan stabilitas obat, meningkatkan bioavailabilitas obat secara oral, meningkatkan penetrasi dan permeabilitas obat, komponen surfaktan membuat niosom bersifat *biodegradable*, biokompatibel dan nonimunogenik, fleksibel sebagai pembawa obat karena niosom dapat menyerap berbagai macam obat (Usman, Ghuge dan Jain, 2017). Sedangkan kekurangan niosom adalah terjadinya fusi, agregasi atau hidrolisis obat yang membatasi masa simpan dispersi niosom, memerlukan peralatan khusus, tidak stabil secara fisik, dan dapat terjadi kebocoran obat (Usman, Ghuge dan Jain, 2017).

2.3.1. Komponen Penyusun Niosom

A. Surfaktan Nonionik

Surfaktan nonionik adalah komponen utama niosom (Mahale *et al.*, 2012). Surfaktan nonionik tidak memiliki muatan di bagian ujung kepala hidrofilik sehingga dapat membentuk struktur dengan kepala hidrofiliknya berlawanan dengan larutan berair dan ekor hidrofiliknya berlawanan dengan larutan organik. Karena sifatnya yang khas, surfaktan nonionik pada niosom dapat membentuk perakitan struktur vesikel lapis ganda secara mandiri dalam dispersi air (Moghassemi dan Hadjizadeh, 2014). Selain itu, surfaktan nonionik memiliki fungsi peningkat kelarutan, agen pembasah, dan peningkat permeabilitas sehingga menjadi polimer pembawa sediaan nano terbaik dan digunakan sebagai

komponen utama pada formulasi niosom (Mahale *et al.*, 2012; Moghassemi dan Hadjizadeh, 2014).

Surfaktan nonionik lebih stabil, biokompatibel, *biodegradable*, nonimmonogenik, dan tidak toksik dibandingkan surfaktan anionik, amfoter, maupun kationik serta mampu mempertahankan sediaan pada pH fisiologis (Ag Seleci *et al.*, 2016; Mahale *et al.*, 2012; Yeo *et al.*, 2018). Niosom hasil bentukan surfaktan nonionik stabil pada uji *in vitro* maupun *in vivo* (Ag Seleci *et al.*, 2016; Yeo *et al.*, 2018). Surfaktan nonionik yang umum digunakan pada formulasi niosom adalah span (85, 80, 60, 40, dan 20), Tween (80, 60, 40, dan 20), dan Brij (76,72, 58, 52, 35, dan 30) (Usman, Ghuge, dan Jain, 2017). Surfaktan dengan nilai HLB 4 sampai 8 cenderung memiliki kemampuan pembentukan vesikel yang baik (Ag Seleci *et al.*, 2016; Sahin, 2007). Penggunaan span 60 / tween 60 / kolesterol dapat secara signifikan meningkatkan efisiensi enkapsulasi dari obat karena adanya interaksi antara obat dan rantai asil dari span 60 (Barani *et al.*, 2018). Selain itu, Span 60 merupakan surfaktan nonionik yang sering digunakan sebagai penyusun niosom dengan nilai HLB 4,7 (Desnita, Luliana, dan Anggraini, 2017).

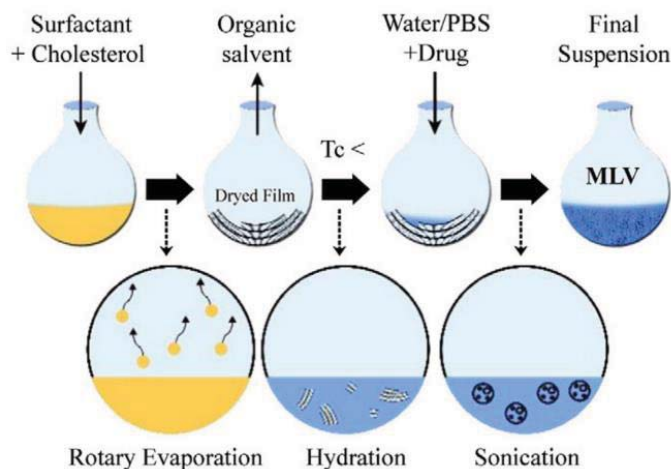
B. Kolesterol

Dalam struktur bilayer niosom, kolesterol membentuk ikatan hidrogen dengan kepala hidrofilik surfaktan (Ag Seleci *et al.*, 2016). Penambahan kolesterol membuat struktur bilayer menjadi rigid (Yeo *et al.*, 2018). Selain itu, kolesterol memberikan dampak yang penting dalam mempengaruhi sifat vesikuler seperti efisiensi jebakan, waktu penyimpanan, pelepasan, stabilitas, kapasitas muatan obat (Moghassemi dan Hadjizadeh, 2014).

2.3.2. Metode Pembuatan Niosom

Metode pembuatan niosom hidrasi lapis tipis merupakan salah satu metode yang diadaptasikan dari metode pembuatan liposom. Metode hidrasi lapis tipis seperti pada **Gambar 2.3** adalah metode yang sederhana yaitu dengan cara mencampurkan mencampurkan surfaktan dan bahan tambahan lain seperti kolesterol yang dilarutkan dalam pelarut organik yang kemudian dicampur dalam dalam labu alas bulat. Campuran akan membentuk film tipis di dinding labu yang secara bersamaan menguapkan pelarut organik menggunakan *rotary vacuum evaporator* (Rotavapor). Larutan seperti air atau Phosphate Buffered Saline (PBS) ditambahkan dan melakukan proses hidrasi di atas

suhu transisi surfaktan (Moghassemi dan Hadjizadeh, 2014; Ge *et al.*, 2019). Hasil proses hidrasi kemudian disonikasi pada suhu 60°C agar terbentuk vesikel yang berukuran kecil dan seragam (Ge *et al.*, 2019).



Gambar 2.3 Proses pembuatan niosom metode hidrasi lapis tipis (Moghassemi *et al.*, 2014)

Metode hidrasi lapis tipis membentuk MLV yang telah digunakan dalam proses pembuatan niosom dengan bahan aktif insulin, doxorubicin, minoxidil, nimesulide, *hydroxycamptothecin*, *beclometasone dipropionat* (Bdp), glukokortikoid, asam salisilat dan asam p-hidroksil benzoat, metotreksat, antioksidan, dll (Moghassemi dan Hadjizadeh, 2014; Khoee dan Yaghoobian, 2017).

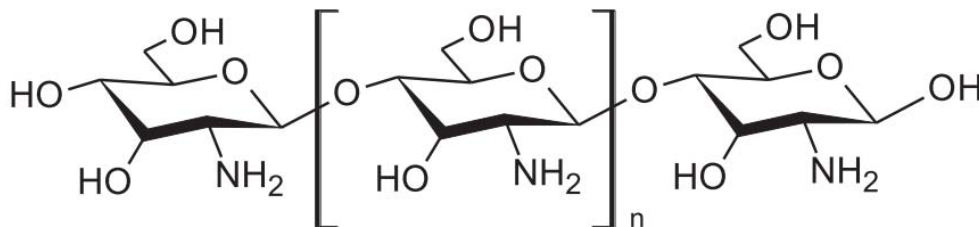
2.3.2. Metode Penjebakan Niosom

Teknik penjebakan pasif mencakup sebagian besar teknik yang digunakan dalam proses pembuatan niosom karena sederhana dan digunakan secara luas dibandingkan teknik penjebakan aktif dan gradien pH transmembrane di mana obat dimasukkan selama proses pembuatan (Sankhyani dan Pawar, 2012; Moghassemi dan Hadjizadeh, 2014). Obat lipofilik dilarutkan dalam pelarut organik dan obat hidrofilik dilarutkan dalam fase air. Obat yang tidak terenkapsulasi dapat dipisahkan dengan cara dialisis, sentrifugasi, kromatografi atau filtrasi gel (Moghassemi dan Hadjizadeh, 2014). Pada metode ini, obat secara pasif terenkapsulasi ke dalam vesikel niosom. Untuk memperkecil ukuran partikel dari niosom yang telah terbentuk, proses sonikasi dapat dilakukan selama proses hidrasi (Durak *et al.*, 2020).

Metode ini merupakan metode yang sederhana, namun persentase obat yang dapat masuk dalam niosom terbatas (Durak *et al.*, 2020). Penelitian sebelumnya melaporkan pembuatan niosom menggunakan metode hidrasi lapis tipis dan passive

loading, menunjukkan efisiensi enkapsulasi yang tinggi tidak dapat tercapai (Dehaghi *et al.*, 2017).

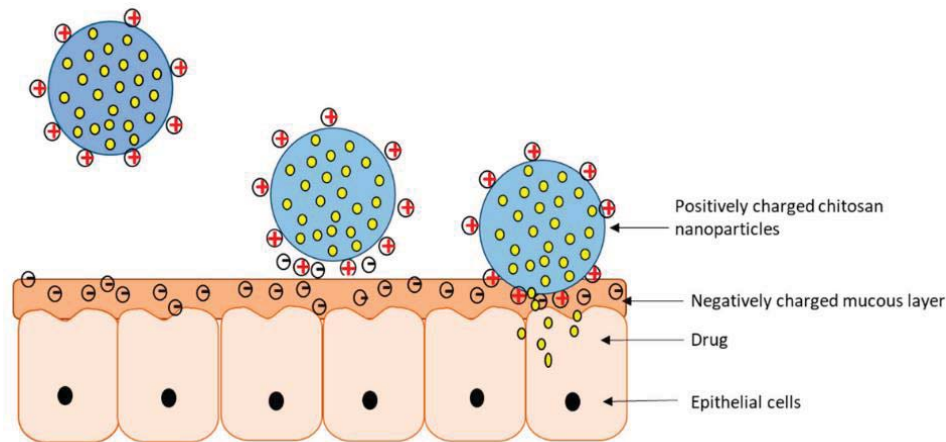
2.4. Kitosan



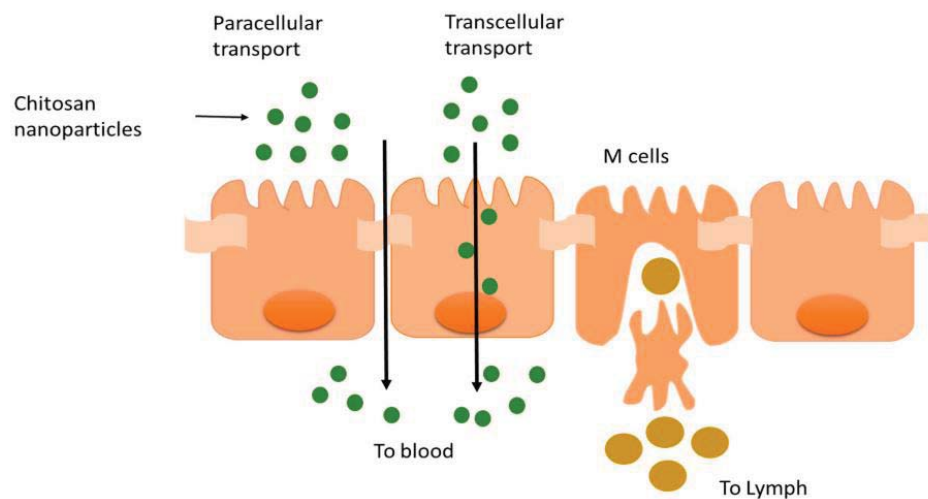
Gambar 2.4 Struktur Kitosan (Shukla *et al.*, 2013)

Secara struktur (**Gambar 2.4**), kitosan adalah polimer rantai lurus yang terdiri dari D-glukosamin dan N-asetil-D-glukosamin yang diperoleh dengan cara deasetilasi parsial kitin untuk keperluan industri hasil ekstraksi dari eksoskeletons binatang seperti udang, lobster, dan kepiting (Alvarenga, 2011; Sánchez-machado *et al.*, 2019; Shukla *et al.*, 2013). Kitosan memiliki karakteristik biokompatibel, non-toksik, alergenitasitas yang rendah, mampu terurai secara hayati, dan dapat meningkatkan bioavailabilitas obat yang memungkinkan untuk digunakan dalam berbagai aplikasi yang luas dalam bidang farmasi khususnya penghantaran obat (Kumar *et al.*, 2004).

Pelapisan kitosan pada permukaan niosom bertujuan untuk memperpanjang waktu sirkulasi, meningkatkan stabilitas obat, mengatur pelepasan obat secara *in vivo*, meningkatkan permeabilitas obat pelepasan obat secara *in vivo* (Khalifa dan Rasool, 2017). Hal ini diperantarai oleh gugus amino dari kitosan memiliki pKa dari 6,2 hingga 7,0. sehingga tidak larut dalam air, pelarut organik dan basa air. Melainkan larut setelah diaduk dalam asam seperti asetat, nitrat, hidroklorat, perklorat dan fosfat (Karim dan Sattwa, 2010; Alvarenga, 2011). Pelepasan yang terkontrol dan peningkatan permeabilitas bahan aktif pada niosom yang dilapisi dengan kitosan merupakan hasil kemampuan *mucoadhesive* kitosan yang sangat kuat pada pH fisiologis yang dapat berinteraksi secara ionik antara muatan positif dari gugus amino kitosan dengan muatan negatif pada permukaan sel sehingga meningkatkan waktu tinggal dalam saluran pencernaan (**Gambar 2.5**). Selain itu, kitosan mampu membuka *tight junction* dari sel epitel dan menghasilkan jalur paracellular melalui barrier epitel, sehingga penetrasi ke dalam peredaran sistemik dapat meningkat (**Gambar 2.6**) (Moghassemi *et al.*, 2015; Mohammed *et al.*, 2017; M. Wang *et al.*, 2017)



Gambar 2.6 Sifat *mucoadhesive* kitosan (Mohammed *et al.*, 2017)



Gambar 2.5 Mekanisme transport kitosan (Mohammed *et al.*, 2017)

Pada penelitian sebelumnya secara *in vivo* pada mencit, pengukuran kadar asam ursolat pada plasma didapatkan kadar tertinggi pada plasma mencit yang diberikan Nio-AU-Cs dengan 10 kali lebih besar dibandingkan mencit yang diberikan suspensi AU dan 7 kali lebih besar pada mencit yang diberikan Nio-AU (Priyambudi, 2021). Pada penelitian lain, penghantaran AU dengan sistem Nio-AU-Cs memberikan hasil hantaran yang terakumulasi pada organ liver dibandingkan organ lain dan lebih baik dibandingkan penghantaran Nio-AU secara kualitatif (Cahyani, 2020).

2.5. Induksi Kerusakan Hati

Nitrosoamin adalah salah satu golongan karsinogen yang mengancam kesehatan manusia. Senyawa yang paling umum adalah nitrosodietilamin, nitrosopirolidon,

nitropiperidin, dan nitrosodietilamin yang umum ditemukan pada makanan, minuman, obat-obatan, dan rokok (Mukherjee dan Ahmad, 2015). N-Nitrosodietilamin (NDEA) adalah senyawa hepatotoksik dan hepatokarsinogenik kuat pada hewan percobaan yang menyebabkan kerusakan hati, fibrosis, hingga kanker pada paparan yang terus menerus (Rajesh, Nair, dan Kumari, 2015; Latief *et al.*, 2016). NDEA menjadi bahan kimia yang paling banyak dipilih dan digunakan untuk menginduksi kerusakan hati pada uji *animal model* dengan menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS) yang menyebabkan stress oksidatif, peradangan, dan berbagai penyakit hati baik akut maupun kronis (Da Costa *et al.*, 2014; Latief *et al.*, 2016b).

NDEA menjadi karsinogen pengalkilasi DNA yang pada proses metabolismenya melalui bioaktivasi pada sel hepatosit oleh CYP450 untuk menjadi senyawa karsinogenik yang utuh (Da Costa *et al.*, 2014). *O6-ethyl deoxy guanosine* dan *O4-ethyl deoxy thymidine* adalah metabolit dari NDEA yang menyebabkan terjadinya peningkatan ROS (Ramakrishnan *et al.*, 2006). ROS dan radikal bebas akan mengambil elektron dari asam lemak tak jenuh pada membran hati yang menyebabkan peroksidasi lipid. Terjadinya peroksidasi lipid menghasilkan produk *malondialdehyde* (MDA), *4-hydroxynonenal*, dan *4-hydroxy-2, 3-alkena*. Produk peroksidasi lipid dalam sel parenkim adalah awal terjadinya jalur sintesis kolagen melalui aktivasi *hepatic stellate cell* (HSC) yang mengakibatkan fibrosis. Selain itu, MDA mampu bereaksi dengan DNA membentuk MDA-DNA additif yang terlibat dalam alterasi DNA dengan induksi transersi G ke T dan transisi A ke G (Latief *et al.*, 2016b). Pada jalur lain, NDEA menstimulasi sel Kupffer untuk mensekresikan berbagai macam sitokin (IL-1,6, dan 8) dan kemokin (seperti MIP-2, IP-102, MIP-1 α , dan MCP-1) yang menyebabkan inflamasi dan kerusakan hati (Mukherjee dan Ahmad, 2015).

Pada penelitian yang dilakukan secara *in vivo* menggunakan *animal model*, pemberian NDEA sekali dalam seminggu melalui intraperitoneal dapat menginduksi kerusakan hati dengan dosis 25 mg/kgBB (Cahyani, 2020). kerusakan sel hati oleh NDEA dipengaruhi oleh dosis dan waktu yang dapat diamati diantaranya dengan peningkatan kadar serum SGOT, SGPT, dan ALP, perubahan reologi sel darah merah, profil polipeptida, penurunan berat badan, dan kerusakan pada pengamatan histopatologi hati (Mukherjee dan Ahmad, 2015).

2.6. Data Klinis

Data klinis merupakan profil gambaran pasien melalui proses observasi yang meliputi data demografi, pemeriksaan fisik, diagnosis, penyakit penyerta, gejala,

pengobatan, prosedur, dan pemeriksaan laboratorium laboratorium (Kemenkes, 2008; Ahalt *et al.*, 2019). Pemeriksaan fisik sebagai salah satu bagian dari data klinis menjadi bagian awal dalam menetapkan diagnosis utamanya dalam kasus kerusakan hati (Feldman, Friedman, dan Brandt, 2016). Gejala klinis paling umum yang teramati pada pemeriksaan fisik pasien kerusakan hati adalah mual, diare, sering kencing, sering merasa haus, tinja berwarna putih, nafsu makan berkurang, dan penurunan berat badan (Washabau *et al.*, 2012). Penurunan berat badan yang diakibatkan oleh kerusakan pada sel parenkim hati utamanya oleh paparan zat toksik dapat menyebabkan terjadinya inflamasi hingga kanker sehingga menurunkan fungsi hati dan defisiensi asupan nutrisi (Mukherjee and Ahmad, 2015; Cahyani, Miatmoko, dan Hariawan, 2021).

Pengamatan fisik pada penelitian *animal model* juga dilakukan pada organ untuk melihat adanya kerusakan dan perbaikan utamanya pada organ hati (Mukherjee and Ahmad, 2015a; Cahyani, Miatmoko, dan Hariawan, 2021). Pengamatan fisik dilakukan pada berat relatif organ terhadap berat badan dan morfologi organ (National Toxicology Program, 2018). Pada studi *animal model* yang dilakukan oleh *National Toxicology Program* Amerika Serikat menunjukkan hasil bahwa adanya perubahan berat organ relatif terhadap berat badan yang signifikan dikarenakan terdapat kerusakan akibat paparan kimia (National Toxicology Program, 2018). Selain itu, perubahan morfologi pada organ seperti perubahan tekstur, warna, bentuk secara menyeluruh, dan munculnya nodul mengindikasikan adanya kerusakan pada tingkat yang parah (Dooley *et al.*, 2018). Namun, pengamatan fisik terhadap perubahan berat badan, berat organ relatif, dan morfologi organ memiliki kekurangan yaitu tidak memberikan gambaran yang spesifik dan akurat terhadap kejadian patologis yang terjadi sehingga tetap diperlukan pengujian laboratorium terhadap adanya perubahan biokimia dan pengamatan histologi jaringan untuk mendapatkan hasil yang lebih komprehensif dan menyeluruh (Washabau *et al.*, 2012; Kwon, Shin, dan Choi, 2018; Mishra, Soren, dan Yadav, 2021)

2.7. SGOT dan SGPT

Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase (SGOT) atau *Aspartate Aminotransferase* (AST) dan *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGPT) atau *Alanine Aminotransferase* (ALT) adalah penanda gangguan hati yang paling umum digunakan baik dalam diagnosis klinis ataupun penelitian yang melibatkan kerusakan hati (Kurniawati, Nurmasitoh, dan Yahya, 2015; McGill, 2016). SGOT dan SGPT merupakan penanda hematologi dari cedera hepatoseluler yang berpartisipasi dalam glukoneogenesis dengan mengkatalisis transfer gugus amino dari asam aspartat atau

alanin ke asam ketoglutarat untuk menghasilkan asam oksaloasetat dan asam piruvat (Agrawal, Dhiman, dan Limdi, 2016). SGOT maupun SGPT memiliki fungsi fisiologis yang beragam seperti homeostasis energi dengan SGOT pada siklus alanin-glukosa dan SGPT pada *malate-aspartate shuttle* (McGill, 2016).

SGPT mengubah piruvat menjadi asam amino alanin menggunakan gugus amino dari glutamat. Alanin masuk ke dalam sirkulasi dan masuk ke dalam hati yang kemudian oleh SGPT diubah kembali menjadi piruvat untuk proses pembentukan glukosa dalam kondisi stress seperti puasa maupun olahraga berat. isoform mitokondria SGPT sangat penting dalam proses glukoneogenesis. Sedangkan SGOT sangat penting dalam proses mempertahankan rasio NAD^+/NADH di dalam sel. dalam *malate-aspartate shuttle* SGOT memiliki peran yang penting yaitu mengoksidasi NADH pada sitosol dan mengurangi NAD^+ pada matriks mitokondria dalam memfasilitasi glikolisis dan transpor elektron (McGill, 2016). SGPT lebih sensitif dan spesifik di hati daripada SGOT. Kadar SGPT yang biasanya melebihi kadar SGOT pada proses akut nonalkoholik terutama pada virus hepatitis, sedangkan kebalikannya terjadi pada penyakit hati alkoholik dan kebanyakan penyakit hati kronis (Barve *et al.*, 2015; Agrawal, Dhiman, dan Limdi, 2016). Secara umum, peningkatan aminotransferase disebabkan oleh kerusakan sel hati. Kerusakan sel hati akibat nekrosis onkotik, membran *blebbing*, peningkatan ekspresi, dan makroenzim mengakibatkan pelepasan protein ke dalam cairan ekstraseluler dan menyebabkan peningkatan kadar dalam serum yang signifikan khususnya SGPT (McGill, 2016).

SGOT ditemukan dalam isoenzim sitosol dan mitokondria hati, otot rangka, otot jantung, ginjal, otak, pankreas, paru-paru, leukosit, dan sel darah merah. SGOT merupakan enzim yang tidak spesifik sebagai penanda kerusakan sel hati karena selain diproduksi di hati, enzim ini juga diproduksi dan dikeluarkan oleh otot dan otot jantung. Berdasarkan hal tersebut, kenaikan nilai enzim SGOT dalam darah tidak dapat mencerminkan adanya kerusakan hanya pada sel hati, melainkan dapat pula menunjukkan adanya kerusakan pada otot rangka ataupun otot jantung. Sedangkan SGPT merupakan enzim sitosol yang ditemukan di hati dengan konsentrasi paling tinggi. SGPT merupakan enzim spesifik sebagai penanda kerusakan hati. Sebagai tes faal hati, dapat dianggap ada kelainan fatal apabila nilai SGOT dan SGPT lebih besar dari 2 – 3 kali batas atas nilai normal (Rahayu, Yantih, dan Supomo, 2018).

2.7. Histopatologi Jaringan Hati

Studi histopatologi hati dilakukan dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin. Hematoksilin dan Eosin (H&E) adalah pewarnaan umum yang digunakan untuk mempelajari perubahan histopatologi pada jaringan dan organ dari hewan dalam studi toksisitas. Hematoxylin adalah pewarna dasar yang memiliki afinitas untuk struktur asam sel (kebanyakan asam nukleat dari inti sel), dan eosin adalah pewarna asam yang mengikat struktur sitoplasma sel. Hasilnya, H&E mewarnai inti dengan warna biru dan sitoplasma dengan warna oranye-merah (Slaoui dan Fiette, 2010).

Pengamatan secara mikroskopik pada sampel hati yang diinduksi kerusakan hati menunjukkan berbagai macam tanda diantaranya steatosis, nekrosis, mikroabses, fibrosis, inflamasi portal limfoid perubahan arsitektur lobular, perubahan lemak, inti membesar dan gelap yang bervariasi, dilatasi sinusoid hati dengan hiperplasia sel Kupffer, dan degenerasi hidropik centrilobular (Akshatha *et al.*, 2018; Gutiérrez-Rebolledo *et al.*, 2016; Muhammad-azam *et al.*, 2019).