

**TESIS**

**HUBUNGAN PROPORSI MIKROBIOTA USUS DENGAN  
DERAJAT FIBROSIS HATI PADA PASIEN  
PENYAKIT PERLEMAKAN HATI NON ALKOHOLIK**

***THE CORRELATION OF GUT MICROBIOTA PROPORTION  
WITH LIVER FIBROSIS DEGREE IN NON ALCOHOLIC  
FATTY LIVER DISEASE PATIENTS***

**NASRUL HADI AKRAM**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.1)  
PROGRAM STUDI ILMU PENYAKIT DALAM  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

**HUBUNGAN PROPORSI MIKROBIOTA USUS DENGAN DERAJAT  
FIBROSIS HATI PADA PASIEN PENYAKIT PERLEMAKAN HATI  
NON ALKOHOLIK**

***THE CORRELATION OF GUT MICROBIOTA PROPORTION WITH LIVER  
FIBROSIS DEGREE IN NON ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE  
PATIENTS***

**TESIS**

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Dokter Spesialis-1 (Sp-1)

**Program Studi Ilmu Penyakit Dalam**

Disusun dan diajukan oleh:

**NASRUL HADI AKRAM**

Kepada:

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.1)  
PROGRAM STUDI ILMU PENYAKIT DALAM  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

## LEMBAR PENGESAHAN TESIS

HUBUNGAN PROPORSI MIKROBIOTA USUS DENGAN DERAJAT FIBROSIS HATI  
PADA PASIEN PENYAKIT PERLEMAKAN HATI NON ALKOHOLIK

THE CORRELATION OF GUT MICROBIOTA PROPORTION WITH LEVER FIBROSIS  
DEGREE IN NON ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE PATIENTS

Disusun dan diajukan oleh :

**NASRUL HADI AKRAM**

Nomor Pokok : C101 216 201

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Ilmu Penyakit Dalam  
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin  
Pada tanggal 25 Mei 2021  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

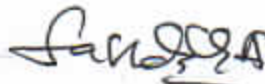
Menyetujui

Pembimbing Utama



Dr. dr. Nu'man AS Daud, Sp.PD, K-GEH  
NIP. 197112142000031004

Pembimbing Pendamping



Dr. dr. Fardah Akil, Sp.PD, K-GEH  
NIP. 197412212006042001

Ketua Program Studi



Dr. dr. M. Harun Iskandar, Sp.P, Sp.PD-KP  
NIP. 197506132008121002

Dekan Fakultas/Sekolah Pascasarjana



Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M. MedEd  
NIP. 196612311995031009

## PERNYATAAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Nasrul Hadi Akram  
Nomor Pokok : C1012 16 201  
Program Studi : Ilmu Penyakit Dalam  
Pendidikan : Dokter Spesialis Fakultas Kedokteran UNHAS

Menyatakan dengan ini bahwa tesis dengan judul “Hubungan Proporsi Mikrobiota Usus dengan Derajat Fibrosis Hati pada Pasien Penyakit Perlemakan Hati Non Alkoholik” adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari tesis karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, Mei 2021

Yang menyatakan



Nasrul Hadi Akram

## KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karuniaNya yang dilimpahkan, sehingga saya dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan karya akhir ini, untuk melengkapi persyaratan penyelesaian pendidikan keahlian pada Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.

Pada kesempatan ini saya ingin menghaturkan penghargaan dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. **Prof. Dr. Dwia A. Tina Pulubuhu, MA**, Rektor Universitas Hasanuddin atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti Pendidikan Dokter Spesialis di Universitas Hasanuddin Makassar.
2. **Prof. dr. Budu, Sp.M(K), M.MED.ED**, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis di bidang Ilmu Penyakit Dalam.
3. **dr. Ulang Bahrn, Sp. PK (K),Ph.D**, Koordinator PPDS Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin bersama staf, yang senantiasa memantau kelancaran program pendidikan Spesialis Bidang Ilmu Penyakit Dalam.
4. **Dr.dr.Andi Makbul Aman Sp.PD, K-EMD** Ketua Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, atas kesediaan beliau untuk menerima, mendidik, membimbing dan memberi

nasihat yang sangat berharga kepada saya dalam mengikuti Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Penyakit Dalam.

5. **Dr.dr. Harun Iskandar, Sp.PD K-P, Sp.P (K) dan Dr. dr. Hasyim Kasim, Sp.PD, K- GH** selaku Ketua dan Mantan Ketua Program Studi Sp-I Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang senantiasa memberikan motivasi, membimbing, dan mengawasi kelancaran proses pendidikan selama saya mengikuti program pendidikan Dokter Spesialis Penyakit Dalam.
6. **Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD, K- GH, Sp.GK**, selaku Sekretaris Program Studi Sp-I Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang senantiasa memberikan motivasi, membimbing, dan mengawasi kelancaran proses pendidikan selama saya mengikuti program pendidikan Dokter Spesialis Penyakit Dalam.
7. **Dr. dr. Nu'man AS Daud, Sp.PD, K-GEH**, selaku pembimbing karya akhir, atas kesediaannya membimbing sejak perencanaan hingga selesainya karya akhir ini, senantiasa memberikan perhatian dalam membaca, mengoreksi, berdiskusi, memberikan saran dalam perbaikan dan penyempurnaan karya akhir ini.
8. **Dr. dr. Faridin HP, Sp.PD, K-R**, selaku pembimbing akademik yang senantiasa memberikan motivasi, membimbing, dan mengawasi kelancaran proses pendidikan selama saya mengikuti program Pendidikan Dokter Spesialis Penyakit Dalam.

9. Seluruh Guru Besar, Konsultan dan Staf pengajar di Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin sebagai pengajar yang sangat berjasa dan bagaikan orang tua yang sangat saya hormati dan banggakan. Tanpa bimbingan mereka, mustahil bagi saya mendapat ilmu dan menimba pengalaman di Departemen Ilmu Penyakit Dalam.
10. **Dr. dr. Arifin Seweng, MPH** selaku Konsultan Statistik atas kesediaannya membimbing dan mengoreksi sejak awal hingga hasil penelitian ini.
11. Para Penguji: **Dr. dr. Nu'man AS Daud, Sp.PD, K-GEH, Dr. dr. Fardah Akil, Sp.PD, K-GEH, Dr. dr. A. Fachruddin Benyamin, Sp.PD, K-HOM, Prof. Dr. dr. Syakib Bakri, Sp.PD, K-GH, Dr. dr. Nur Ahmad Tabri, Sp.PD, K-P, Sp.P (K) , Dr. dr. Arifin Seweng, MPH.**
12. Para Direktur dan Staf Rumah Sakit di mana saya telah bekerja dan belajar, RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo, RS. UNHAS, RS. Akademis Jaury, RS. Islam Faisal, RS. Stella Maris, RS. Ibnu Sina, RSUD Bengkayang atas segala bantuan fasilitas dan kerjasamanya selama ini.
13. Para pegawai Departemen Ilmu Penyakit Dalam FK-UNHAS: **Pak Udin, Bu Fira, Bu Tri, Bu Maya, Bu Yuyu, dan Pak Aca**, paramedis, dan pekerja pada masing- masing rumah sakit atas segala bantuan dan kerjasamanya selama ini.

14. Kepada teman-teman angkatan Januari 2017 **dr. Wisnu, dr. Jerry, dr. Malik, dr. Suardy, dr. Dwi, dr Iswina, dr. Ayu, dr. Soraya, dr. Fithrani, dr. Sarnings** atas jalinan persaudaraan, bantuan, dan dukungan kalian dalam memberikan semangat selama menempuh pendidikan di Departemen Ilmu Penyakit Dalam FK-UNHAS
15. Kepada seluruh teman sejawat para peserta PPDS Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin atas bantuan, jalinan persaudaraan dan kerjasamanya selama ini.

Pada saat yang berbahagia ini, saya tidak lupa menyampaikan rasa hormat dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada kedua orang tua yang sangat saya sayang dan cinta Ibunda Halifah dan Ayahanda dr. Aditia Akram, M. Kes, adik- adik serta seluruh keluarga besar yang dengan tulus dan penuh kasih sayang senantiasa memberikan dukungan, bantuan, dan mendoakan saya selama menjalani pendidikan ini.

Akhir kata semoga karya akhir ini dapat bermanfaat dan kiranya Allah SWT selalu melimpahkan rahmat, petunjuk dan hidayah-Nya kepada kita semua. Aamiin.

Makassar, Mei 2021

Nasrul Hadi Akram



## DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	iii
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR SINGKATAN .....	xix
DAFTAR TABEL.....	xx
DAFTAR GAMBAR .....	xxi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
I.1    Latar Belakang.....	6
I.2    Rumusan Masalah .....	8
I.3    Tujuan Penelitian.....	8
I.3.1    Tujuan umum:.....	8
I.3.2    Tujuan khusus:.....	8
I.4    Manfaat Penelitian.....	9
I.4.1    Manfaat Akademik .....	4
I.4.2    Manfaat Klinis .....	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
II.1    Penyakit Perlemakan Hati Non Alkoholik (PPHNA/ NAFLD) .....	10
II.2    Mikrobiota Saluran Cerna .....	13
II.2.1    Mikrobiota Usus.....	10
II.2.2    Komposisi Mikrobiota Normal Usus .....	15
II.3    Hubungan Disbiosis Mikrobiota Usus dengan Inisiasi dan Progresi NAFLD.....	17
II.4    Metode Profilisasi Mikrobiom Usus .....	18
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS PENELITIAN .....	20
III.1    Kerangka Teori.....	20
III.2    Kerangka Konsep .....	21
III.3    Hipotesis.....	21

BAB IV METODE PENELITIAN .....	22
IV.1 Desain Penelitian .....	22
IV.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....	22
IV.3 Populasi Penelitian .....	22
IV.4 Sampel Penelitian .....	22
IV.5 Jumlah Sampel Penelitian.....	23
IV.6 Metode Pengambilan Sampel.....	23
IV.7 Teknik Pengambilan Sampel.....	24
IV.8 Izin Penelitian dan Kelayakan Etik .....	24
IV.9 Definisi Operasional dan Kriteria Objektif .....	20
IV.10 Analisis Data .....	25
IV.11 Alur penelitian.....	31
BAB V HASIL PENELITIAN.....	32
V.1 Karakteristik Subjek Penelitian .....	32
V.2 Hubungan Proporsi Mikrobiota Usus Tingkat Filum dengan Derajat Fibrosis Hati .....	34
V.3 Hubungan Proporsi Mikrobiota Usus Tingkat Genus dengan Derajat Fibrosis Hati .....	30
BAB VI PEMBAHASAN.....	38
VI.1 Karakteristik Subjek Penelitian .....	38
VI.2 Hubungan Proporsi Mikrobiota Usus Tingkat Filum dengan Derajat Fibrosis Hati .....	39
VI.3 Hubungan Proporsi Mikrobiota Usus Tingkat Genus dengan Derajat Fibrosis Hati .....	40
BAB VII PENUTUP .....	43
VII.1 Ringkasan .....	43
VII.2 Kesimpulan.....	43
VII.3 Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

## DAFTAR SINGKATAN

NAFLD	: <i>Non Alcoholic Fatty Liver Disease</i>
NAFL	: <i>Non Alcoholic Fatty Liver</i>
NASH	: <i>Non Alcoholic Steatohepatitis</i>
CRP	: <i>C Reactive Protein</i>
IL	: Interleukin
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
TE	: <i>Transient Elastography</i>
HGC	: <i>High Gene Count</i>
LGC	: <i>Low Gene Count</i>
LPS	: Lipopolisakarida
TLR	: <i>Toll Like Receptor</i>
IBD	: <i>Inflammatory Bowel Disease</i>
IMT	: Indeks Massa Tubuh
AASLD	: <i>American Association for the Study of Liver Disease</i>
rRNA	: ribosomal <i>Ribonucleic Acid</i>

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Klasifikasi Indeks Massa Tubuh.....	21
Tabel 2. Kadar Lipid Serum.....	23
Tabel 3. Karakteristik Subjek Penelitian.....	26
Tabel 4. Perbandingan Persentase Mikrobiota Usus Tingkat Filum Berdasarkan Derajat Fibrosis Hati.....	27
Tabel 5. Perbandingan Persentase Mikrobiota Usus Tingkat Genus Berdasarkan Derajat Fibrosis Hati.....	29

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Filum dan spesies mikrobiota usus.....	10
--	----

## ABSTRAK

**Nasrul Hadi Akram: Hubungan Proporsi Mikrobiota Usus dengan Derajat Fibrosis Hati pada Pasien Penyakit Perlemakan Hati Non Alkoholik.**

**(disupervisi oleh Nu'man AS Daud)**

**Latar Belakang:** Disbiosis mikrobiota usus merupakan salah satu faktor yang berperan dalam inisiasi dan progresi fibrosis hati pada Penyakit Perlemakan Hati Non Alkoholik (PPHNA). Namun, masih sedikit studi terkait fenomena ini. Studi ini bertujuan untuk menilai hubungan proporsi mikrobiota usus dengan derajat fibrosis hati pada pasien PPHNA.

**Metode:** Penelitian ini merupakan studi *cross sectional* dengan metode *consecutive sampling*. Kami mengumpulkan 21 sampel feses dari subjek PPHNA (13 subjek fibrosis non signifikan dan 8 subjek fibrosis signifikan) rawat jalan di RS.Dr. Wahidin Sudirohusodo pada Juni- Oktober 2018. Pemeriksaan sampel feses menggunakan teknik sekuens RNA ribosom 16S untuk analisa mikrobiom. Pengukuran derajat fibrosis hati menggunakan *NAFLD Fibrosis Score* (NFS). Analisis statistik yang digunakan adalah uji Mann-Whitney (signifikan  $p < 0,05$ ).

**Hasil:** Rerata usia subjek  $46.24 \pm 13.27$  tahun dengan 71,4% laki- laki. Terdapat 6 filum dan 11 genus yang berhasil diidentifikasi dari sampel feses subjek PPHNA. Proporsi filum Firmicutes lebih banyak ditemukan pada kelompok fibrosis nonsignifikan (41.69 vs 36.61%) sedangkan proporsi filum Proteobacteria lebih banyak ditemukan pada kelompok fibrosis signifikan (6.79 vs 5.63%), meskipun hasil tersebut tidak signifikan secara statistik ( $p > 0.05$ ). Terdapat hubungan signifikan antara proporsi mikrobiota usus tingkat genus dengan derajat fibrosis hati. Proporsi genus Bifidobacteria secara signifikan lebih tinggi pada kelompok fibrosis nonsignifikan dibandingkan fibrosis signifikan (0.68 vs 0.24%) ( $p = 0.022$ ).

**Kesimpulan:** Terdapat perbedaan proporsi mikrobiota usus pasien PPHNA berdasarkan derajat fibrosis hati. Proporsi genus Bifidobacteria secara signifikan lebih tinggi pada kelompok fibrosis nonsignifikan, yang berperan dalam menghambat progresi fibrosis hati pada PPHNA.

**Kata Kunci:** mikrobiota usus, fibrosis hati, penyakit perlemakan hati non alkoholik

#### ABSTRACT

**Nasrul Hadi Akram: Correlation of Gut Microbiota Proportion with Liver Fibrosis Degree in Non Alcoholic Fatty Liver Disease Patients.**

**(supervised by Nu'man AS Daud)**

**Background:** Dysbiosis of gut microbiota become a factor that contribute to the initiation and progression of liver fibrosis in non alcoholic fatty liver disease (1). However, there is still lack of studies regarding this phenomenon. This study aimed to determine the correlation of gut microbiota proportion with liver fibrosis degree in NAFLD patients.

**Methods:** This was a cross sectional study with consecutive sampling method. We collected 21 stool sample from NAFLD subjects (13 subjects of non significant fibrosis and 8 subjects of significant fibrosis) who came to the outpatient clinic in Wahidin Sudirohusodo Hospital from June-October 2018. The stool sample examination was performed using 16S ribosomal RNA sequencing to analyze microbiome. The assesment of liver fibrosis degree using NAFLD Fibrosis Score (NFS). The statistical analyses used was Mann-Whitney U test (significance  $p < 0,05$ ).

**Results:** The mean age of the subject was  $46.24 \pm 13.27$  years old and 71.4% male. There are 6 phyla and 11 genera that were successfully identified from stool samples of NAFLD patients. The proportion of Firmicutes phylum was higher in non significant fibrosis (41.69 vs 36.61%) whereas the proportion of Proteobacteria phylum was higher in significant fibrosis group (6.79 vs 5.63%), although these results were not statistically significant ( $p > 0.05$ ). There was a significant relationship between gut microbiota proportion at the genus level and liver fibrosis degree. The proportion of Bifidobacteria genus was significantly higher in non significant fibrosis than significant fibrosis group (0,68 vs 0,24%, respectively) ( $p = 0.022$ ).

**Conclusions:** There is a difference in the proportion of gut microbiota in NAFLD patients based on liver fibrosis degree. The proportion of Bifidobacteria genus was significantly higher in non significant fibrosis group, which may play a role in inhibition liver fibrosis progression in NAFLD.

**Keywords:** gut microbiota, liver fibrosis, non alcoholic fatty liver disease.



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **I.1 Latar Belakang**

Penyakit Perlemakan Hati Non-Alkoholik (PPHNA/ NAFLD) merupakan suatu kondisi dimana terdapat akumulasi lemak yang berlebihan pada hati yang menjadi penyebab utama penyakit hati kronik di seluruh dunia. Prevalensi NAFLD di Eropa mencapai 20-30% sedangkan di Asia sebesar 15-30% dan di Indonesia sebanyak 30,6%. Prevalensi NAFLD meningkat terutama pada individu yang memiliki sindrom metabolik seperti obesitas, diabetes tipe 2, hiperlipidemia, dan hipertensi. Bahkan saat ini didapatkan NAFLD terjadi pada pasien dengan indeks massa tubuh yang normal dimana prevalensinya mulai meningkat di India.<sup>(2, 3)</sup>

Spektrum NAFLD memiliki rentang dari *simple steatosis, non alcoholic steatohepatitis* (NASH), fibrosis, sirosis, hingga karsinoma hepatoseluler. Sebanyak 25% pasien NAFLD dapat berkembang menjadi NASH dan mengalami progresi menjadi sirosis yang merupakan predisposisi terjadinya komplikasi berupa hipertensi porta dan meningkatkan resiko terjadinya karsinoma hepatoseluler.<sup>(4, 5)</sup>

Patogenesis NAFLD bersifat multifaktorial yang dikenal dengan hipotesa *multiple hit* dimana faktor- faktor yang terlibat seperti predisposisi genetik, resistensi insulin, inflamasi, adipokin, faktor nutrisi, dan mikrobiota saluran cerna

berkontribusi secara bersama- sama menginduksi terjadinya NAFLD dan berperan dalam terjadinya fibrosis lanjut pada NASH.<sup>(6)</sup>

Mikrobiota adalah komunitas mikroorganisme yang hidup di tempat tertentu pada tubuh manusia seperti pada usus. Mikrobiota memiliki berbagai fungsi penting dalam kesehatan seperti imunomodulasi, proteksi terhadap patogen, menjaga struktur dan fungsi saluran pencernaan, serta metabolisme nutrien. Disbiosis mikrobiota usus diketahui berperan dalam timbulnya berbagai penyakit metabolik seperti NAFLD, diabetes, resistensi insulin, dan obesitas.<sup>(7, 8)</sup>

Hubungan antara disbiosis mikrobiota usus dengan patogenesis NAFLD terjadi melalui peningkatan produksi dan absorpsi asam lemak rantai pendek yang menghasilkan steatosis, perubahan permeabilitas usus, translokasi mikrobiota usus, dan pelepasan endotoksin lipopolisakarida (LPS) yang mengaktifkan faktor inflamasi dan fibrosis hati.<sup>(3, 7)</sup>

Beberapa studi telah menilai adanya perbedaan pola mikrobiota usus pada pasien NAFLD dengan kontrol sehat. Studi oleh Zhu dkk<sup>(9)</sup> menunjukkan peningkatan proporsi filum *Bacteroidetes* dan *Proteobacteria* pada pasien NASH. Penelitian yang dilakukan oleh Boursier dkk<sup>(10)</sup> mendapatkan *Bacteriodes* berkaitan dengan NASH dan *Ruminococcus* berhubungan dengan fibrosis berat. Studi ini didukung oleh penelitian Mouzaki dkk<sup>(11)</sup> yang menyatakan bahwa mikrobiota usus memengaruhi derajat fibrosis hati. Berdasarkan data yang ada, modulasi mikrobiota usus melalui intervensi diet dan probiotik memiliki peran dalam mencegah terjadinya progresi pada NAFLD.

Berdasarkan latar belakang tersebut, kami ingin mengetahui hubungan proporsi mikrobiota usus dengan derajat fibrosis hati pada pasien NAFLD.

## **I.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian di atas, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana hubungan proporsi mikrobiota usus dengan derajat fibrosis hati pada pasien NAFLD?

## **I.3 Tujuan Penelitian**

### **I.3.1 Tujuan umum:**

Mengetahui hubungan proporsi mikrobiota usus dengan derajat fibrosis hati pada pasien NAFLD.

### **I.3.2 Tujuan khusus:**

1. Menilai karakteristik pasien NAFLD.
2. Membandingkan proporsi mikrobiota usus pasien NAFLD berdasarkan derajat fibrosis hati.
3. Menganalisis hubungan proporsi mikrobiota usus dengan derajat fibrosis hati pada pasien NAFLD.

## **I.4 Manfaat Penelitian**

### **I.4.1 Manfaat Akademik**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai distribusi proporsi mikrobiota usus dan derajat fibrosis hati pada pasien NAFLD agar dapat dijadikan acuan untuk penelitian lebih lanjut.

### **I.4.2 Manfaat Klinis**

Dengan mengetahui hubungan proporsi mikrobiota usus dengan derajat fibrosis hati pada NAFLD diharapkan biomarker mikrobiom usus dapat digunakan sebagai tes alternatif dalam membantu memprediksi derajat fibrosis hati dan modulasi mikrobiom usus sebagai pencegahan dan terapi progresi fibrosis hati pada pasien NAFLD.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1 Penyakit Perlemakan Hati Non Alkoholik (PPHNA/ NAFLD)**

Definisi NAFLD memiliki beberapa syarat yaitu terdapatnya steatosis hepatic yang dibuktikan baik dari pencitraan maupun pemeriksaan histologi, dan tidak adanya penyebab sekunder akumulasi lemak pada hati seperti konsumsi alkohol yang bermakna, penggunaan obat-obatan yang bersifat steatogenik maupun kelainan herediter. Secara histologi, NAFLD dikelompokkan menjadi *non alcoholic fatty liver* dan *non alcoholic steatohepatitis* (NASH). NAFL didefinisikan sebagai adanya steatosis hepatic lebih dari 5% tanpa adanya kerusakan hepatoseluler (*balloning* hepatosit) atau disebut juga sebagai *simple steatosis*. NASH didefinisikan sebagai adanya steatohepatik lebih dari 5% disertai kerusakan hepatoseluler dengan atau tanpa fibrosis. NAFLD memiliki hubungan erat dengan kondisi medis lain seperti sindroma metabolik, obesitas, penyakit kardiovaskular serta diabetes.<sup>(12)</sup>

Patogenesis NAFLD saat ini menggunakan hipotesis *multiple hit* dimana berbagai faktor berperan secara bersama-sama pada individu dengan predisposisi genetik untuk menginduksi terjadinya NAFLD. Pola diet, faktor genetik, dan lingkungan berperan dalam terjadinya resistensi insulin, obesitas dan proliferasi adiposit, serta perubahan mikrobiota usus.<sup>(13)</sup>

Resistensi insulin menjadi salah satu faktor kunci terjadinya NAFL/NASH dengan menyebabkan terjadinya peningkatan lipogenesis dan terhambatnya lipolisis jaringan adiposa sehingga terjadi peningkatan kadar asam lemak bebas di hati. Resistensi insulin juga menyebabkan terjadinya disfungsi jaringan adiposa sehingga mengganggu proses produksi dan sekresi adipokin dan sitokin inflamasi.<sup>(6)</sup>

Proses inflamasi juga berperan menimbulkan jejas di hati. Saat ini data eksperimental menunjukkan interaksi sistem imun dengan hepatosit berperan dalam mempertahankan respon inflamasi di hati. Marker inflamasi seperti *C reactive protein* (CRP) dan interleukin (IL) dihubungkan dengan diagnosis dan prognosis NAFLD.<sup>(14)</sup>

Studi yang dilakukan oleh Jiang dkk<sup>(15)</sup> menemukan penurunan kadar limfosit T CD4+ dan CD8+ serta adanya peningkatan kadar TNF alfa, IL 6, dan IFN gamma pada biopsi mukosa usus pasien NAFLD. Bukti lain menunjukkan disbiosis mikrobiota usus, khususnya bakteri proinflamasi dihubungkan dengan peningkatan sitokin proinflamasi yang berperan dalam progresi NASH dan fibrosis hati.

Berdasarkan interaksi antara resistensi insulin, adipokin, dan inflamasi jaringan adiposa diketahui bahwa jaringan adiposa dan mikrobiota usus bersama sama menyebabkan inflamasi di hati dengan kata lain inflamasi seluler dan resistensi insulin terjadi secara bersamaan. Hiperinsulinemia akan meningkatkan asam lemak bebas di hati. Setelah

terjadi steatosis hati, hati menjadi lebih rentan terhadap jejas. Berbagai faktor jejas dan patogen termasuk stres oksidatif, disregulasi adipokin, dan aktivasi sel stellata hati menyebabkan jejas pada hepatosit sehingga terjadi progresi dari steatosis hati menjadi NASH dan fibrosis. Selain itu, terganggunya mikrobiota usus menyebabkan peningkatan produksi asam lemak dan permeabilitas usus sehingga meningkatkan absorpsi asam lemak dan pelepasan sitokin proinflamasi.<sup>(6, 16)</sup>

Studi yang dilakukan oleh Da Silva dkk<sup>(17)</sup> menyimpulkan bahwa disbiosis mikrobiota usus dihubungkan dengan progresi NAFLD dan menjadi faktor risiko independen dari indeks massa tubuh (IMT) dan resistensi insulin. Temuan ini menunjukkan adanya peran dari mikrobiota usus yang spesifik terhadap progresi NAFLD.

Pada individu dengan predisposisi faktor genetik, semua faktor tersebut memengaruhi kandungan lemak hepatosit dan menyebabkan terjadinya inflamasi kronik di hati melalui berbagai jalur kerusakan hepatoseluler yang dapat berprogresi menyebabkan nekrosis hepatoseluler dan deposit jaringan fibrosa.<sup>(6)</sup>

Obesitas juga berperan dalam progresi fibrosis pasien NAFLD. Peningkatan asupan daging, lemak jenuh, dan kolesterol juga dikaitkan dengan NAFLD. Pemberian diet asam lemak tidak jenuh memberi efek benefit dalam regresi perlemakan hati.<sup>(16)</sup>

Biopsi hati merupakan standar baku untuk menegakkan diagnosa NAFLD dan menentukan derajat fibrosis. Namun, tindakan biopsi memiliki kekurangan yaitu bersifat invasif dan memerlukan biaya yang besar sehingga membatasi penggunaannya pada pasien yang kita curigai dengan NAFLD. Oleh karena itu, saat ini dikembangkan prosedur diagnostik dan *staging* yang non invasif.<sup>(13)</sup>

Metode pencitraan merupakan teknik non invasif untuk mendiagnosis steatosis yang paling sering digunakan. Ultrasonografi abdomen memiliki beberapa keuntungan seperti aman, biaya murah, dan mampu memvisualisasi organ abdomen secara keseluruhan. Kita juga dapat menggunakan *transient elastography* (TE) untuk mengidentifikasi fibrosis lanjut dan adanya sirosis pada pasien NAFLD.<sup>(12, 13)</sup>

Selain itu, saat ini juga dikembangkan metode untuk mendeteksi adanya fibrosis lanjut pada NAFLD dengan menggunakan biomarker serum seperti NAFLD fibrosis score (NFS), indeks FIB-4, dan APRI. NFS dan indeks FIB-4 yang paling akurat dengan nilai prediksi negatif yang tinggi (>90%) sehingga dapat menyingkirkan adanya fibrosis lanjut dan dapat digunakan sebagai alat lini pertama untuk mengidentifikasi pasien tanpa fibrosis lanjut.<sup>(18)</sup>

## **II.2 Mikrobiota Saluran Cerna**

Mikrobiota merupakan komunitas mikroorganisme termasuk bakteri, archae, eukaryote, dan virus yang hidup pada tempat tertentu pada tubuh manusia



seperti pada kulit, saluran pernapasan, saluran pencernaan, dan genitalia manusia. Dari sekian banyak mikrobiota yang ada, bakteri adalah mikroorganisme yang paling dominan (lebih dari 90%) dimana sebagian besar dari bakteri ini menempati saluran pencernaan.<sup>(8)</sup>

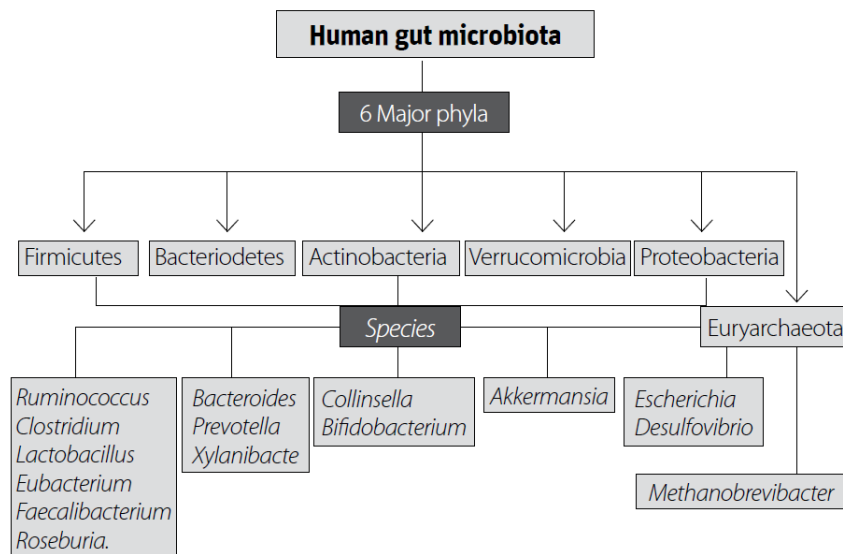
Mikrobiota saluran pencernaan memiliki berbagai fungsi penting dalam kesehatan seperti imunomodulasi, proteksi terhadap patogen, menjaga struktur dan fungsi saluran pencernaan, metabolisme nutrien, serta berperan diluar sistem pencernaan. Disbiosis pada saluran pencernaan diketahui berperan dalam timbulnya berbagai macam penyakit baik di dalam ataupun di luar sistem pencernaan.<sup>(7)</sup>

Di dalam saluran pencernaan terjadi peningkatan jumlah mikrobiota dari proksimal ke distal saluran pencernaan. Distribusi mikroba ini sebagian kecil menempel di jaringan dan mukosa, tetapi terbanyak terdapat di dalam lumen. *Proteobacteria* dan *Akkermansia muciniphila* menempel dan hidup didalam lapisan mukosa saluran pencernaan yang dekat dengan jaringan. Kolonisasi mikrobiota pada manusia berawal sejak proses kelahiran dan mengalami perubahan yang berkelanjutan di sepanjang kehidupan.<sup>(19, 20)</sup>

Di dalam saluran cerna, mikrobiota terdiri dari  $10^{13-14}$  mikroorganisme dengan komposisi yang berbeda secara spesifik antar individu. Selama kehidupan individu tersebut, banyak faktor yang berperan dalam komposisi mikrobiota saluran pencernaan antara lain diet, usia, obat-obatan, penyakit penyerta, stres, dan gaya hidup.<sup>(21-23)</sup>

## II.2.1 Mikrobiota Usus

Mikrobiota usus terdiri atas 100 trilyun bakteri dengan 2000 spesies yang berbeda dan muatan mikrobiom sebanyak 150 kali lipat dari genom manusia. Profilisasi mikrobiota usus dengan teknik sekuens ribosom menemukan bahwa filum *Firmicutes* dan *Bacteroidetes* merupakan yang dominan. *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, dan *Verrucomicrobia* adalah filum lain yang sering ditemukan dan kelompok yang jarang didapatkan yaitu *Cyanobacteria*, *Fusobacteria*, dan *Lentisphaerae*.<sup>(24)</sup>



Gambar 1. Filum dan spesies mikrobiota usus<sup>(24)</sup>

## II.2.2 Komposisi Mikrobiota Normal Usus

Mikrobiota normal saluran pencernaan adalah mikrobiota yang terdapat pada saluran pencernaan individu yang sehat. Mikrobiom usus yang sehat didefinisikan dengan kehadiran kelas mikroba yang mampu

meningkatkan metabolisme, ketahanan terhadap infeksi dan peradangan, ketahanan terhadap kanker atau autoimunitas, dan sinyal endokrin. Secara umum microbiota usus pada individu yang sehat didominasi oleh filum *Firmicutes* dan *Bacteroidetes*, diikuti dengan *Actinobacteria* dan *Verrucomicrobia*.<sup>(25, 26)</sup>

Berdasarkan komposisi spesiesnya, microbiota usus pada individu yang sehat dibagi menjadi tiga enterotipe dasar. Enterotipe 1 mengandung proporsi genera *Bacteroides* yang tinggi, enterotipe 2 mengandung proporsi *Prevotella* yang tinggi, dan enterotipe 3 yang mengandung proporsi *Ruminococcus* yang tinggi. Bakteri yang termasuk ke dalam Enterotipe 1 memiliki potensi sakarolitik, yang dibuktikan oleh adanya gen yang mengkode enzim seperti protease, hexoaminidase, dan galaktosidase. Enterotipe 2 berperan terutama sebagai pemecah glikoprotein musin yang melapisi mukosa usus. Enterotipe 3 juga berhubungan dengan degradasi musin, di samping transportasi gula membran. Masing-masing enterotipe juga memiliki fungsi metabolisme yang spesifik misalnya biotin, riboflavin, pantotenat, dan sintesis askorbat lebih banyak terlihat pada enterotipe 1, sementara sintesis tiamin dan folat lebih dominan pada enterotipe 2.<sup>(25, 26)</sup>

Berdasarkan jumlah total gen bakteri, mikrobiom usus dapat dibagi ke dalam dua kelompok, yaitu jumlah gen tinggi (*High Gene Count/HGC*) dan jumlah gen rendah (*Low Gene Count/LGC*), dimana mikrobiom HGC berhubungan dengan kesehatan saluran pencernaan. Karakteristik dari mikrobiom HGC adalah ekosistem yang metanogenik/asetogenik,

peningkatan proporsi bakteri penghasil butirir, peningkatan rasio *Akkermansia* : *Ruminococcus torque/gnavus*, peningkatan produksi hidrogen, penurunan potensi pembentukan hidrogen sulfida, dan penurunan jumlah *Campylobacter/Shigella*.<sup>(25)</sup>

### **II.3 Hubungan Disbiosis Mikrobiota Usus dengan Inisiasi dan Progresi**

#### **NAFLD**

Saat ini diketahui bahwa mikrobiota usus berperan dalam inisiasi dan progresi NAFLD menjadi fibrosis hati melalui *gut liver axis*. Hati menjadi organ yang banyak terpapar dan berinteraksi dengan mikrobiota usus beserta seluruh komponennya karena menerima suplai darah terbesar dari pembuluh splanikus. Pada kondisi normal, hanya sedikit mikrobiota usus atau produknya yang masuk ke dalam hati karena mayoritas akan dieliminasi oleh sel Kupfer. Namun apabila terdapat kerusakan mukosa usus, terjadi penambahan jumlah mikroba yang memasuki hati dan mengaktifasi sel Kupfer dan sel stelata hati. Salah satu endotoksin bakteri yang patogenik adalah lipopolisakarida. LPS akan dikenal oleh *Toll like receptor* (TLR) yang selanjutnya akan mengaktifasi kaskade inflamasi dan memberi efek akumulasi lemak di hati dan berperan dalam progresi NASH. Diversitas mikrobiota tertentu meningkatkan permeabilitas usus dan menyebabkan terjadinya lipopolisakaridemia. Pasien NAFLD menunjukkan peningkatan permeabilitas usus dan *bacterial overgrowth* dibandingkan kontrol sehat.<sup>(6)</sup>

Mikrobiota usus memengaruhi keseimbangan energi *host* melalui proses fermentasi pati dan polisakarida menjadi asam lemak rantai pendek terutama asetat, propionat, dan butirat sehingga dapat terserap di epitel usus. Disbiosis mikrobiota usus meningkatkan aktivitas lipase lipoprotein dan akumulasi trigliserida. Mikrobiota usus juga menghasilkan enzim yang mengubah kolin menjadi komponen toksik yang menginduksi inflamasi dan jejas pada hati. Mekanisme lain yang berperan yaitu terganggunya metabolisme asam empedu dan fungsi sel enteroendokrin sehingga memengaruhi metabolisme lipid di hati dan lipid postprandial.<sup>(7)</sup>

Disbiosis mikrobiota usus penghasil etanol endogen berkontribusi terhadap progresi NASH karena memiliki efek hepatotoksin. Defisiensi atau disfungsi inflamasi menunjukkan adanya disbiosis mikrobiota dan memperberat steatosis hati melalui influks TLR4 dan TLR9 agonis ke dalam sirkulasi portal serta menyebabkan peningkatan sekresi TNF alfa sehingga terjadi NASH.<sup>(3)</sup>

Disbiosis mikrobiota usus juga berperan dalam timbulnya obesitas dan resistensi insulin melalui modulasi TLR5. TLR5 mendeteksi flagelin bakteri dan menginduksi jalur inflamasi sehingga terjadi obesitas dan resistensi insulin. Peningkatan kadar LPS juga dapat meningkatkan berat jaringan adiposa dan hati yang dihubungkan dengan obesitas.<sup>(27)</sup>

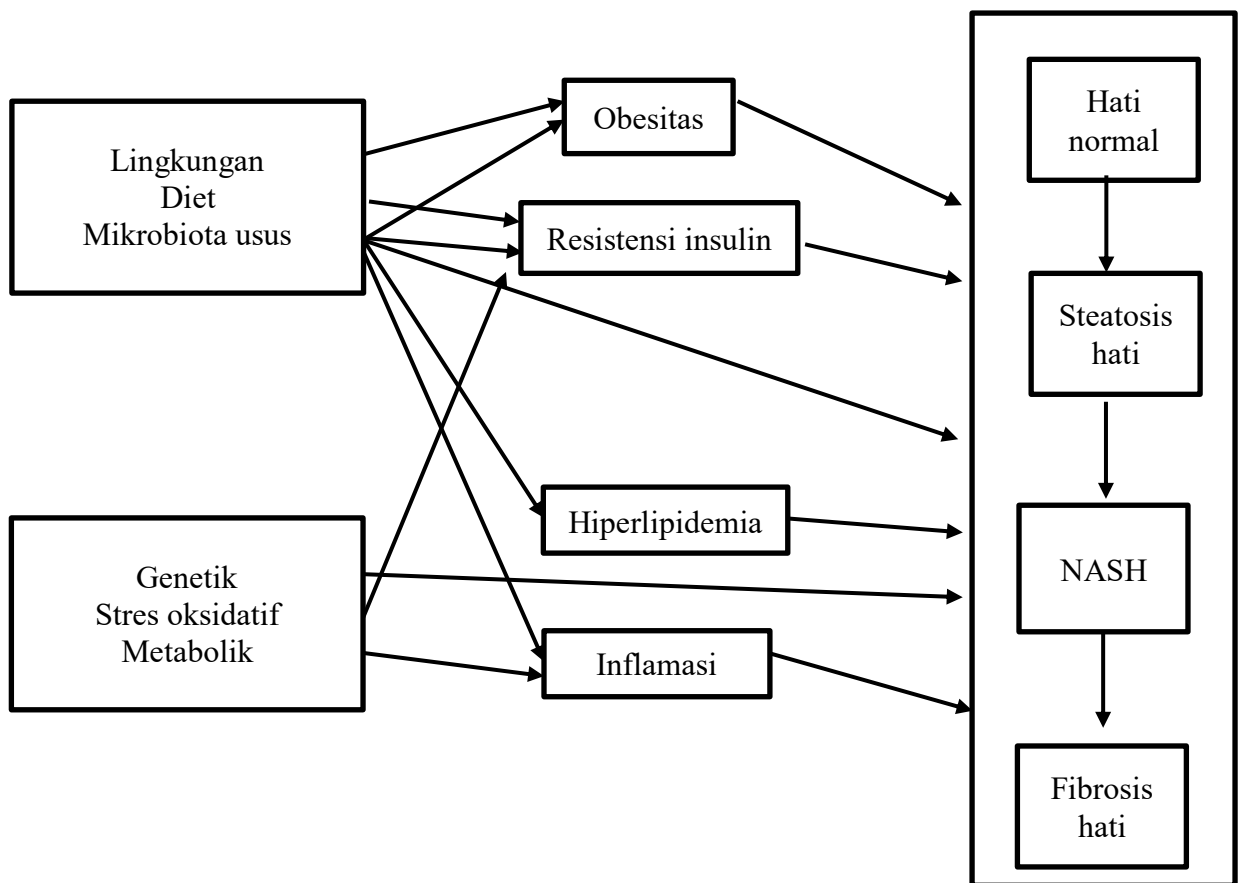
#### **II.4 Metode Profilisasi Mikrobiom Usus**

Saat ini metode yang digunakan untuk profilisasi dan analisis mikrobiom berdasarkan biomarker. Metode ini menggunakan sekuens gen 16S ribosom RNA

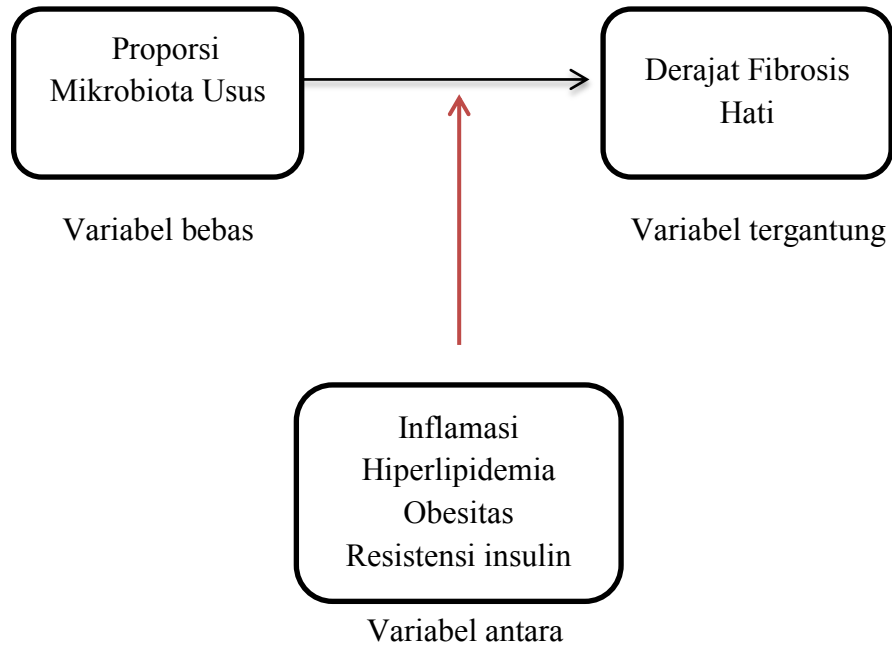
(rRNA) yang dapat ditemukan pada bakteri. Daerah 16S pada gen bakteri berukuran kecil dan memiliki tingkat konservasi yang tinggi serta memiliki 9 area hipervariabel sehingga dapat membedakan berbagai spesies bakteri. Area yang sering digunakan dalam mengidentifikasi bakteri adalah V3, V4, V6, dan V8. Pemeriksaan ini memberikan cetak biru komposisi mikrobiota yang relatif akurat.<sup>(26, 28)</sup>

**BAB III**  
**KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN**  
**HIPOTESIS PENELITIAN**

**III.1 Kerangka Teori**



### III.2 Kerangka Konsep



### III.3 Hipotesis

Terdapat hubungan antara proporsi mikrobiota usus dengan derajat fibrosis hati pada pasien NAFLD.