

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

Susunan Pengelola Jurnal Ilmiah Patologi Klinik Indonesia
(*Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*)
Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia Masa Bakti 2013–2016
(surat keputusan pengurus pusat PDSPATKLIN Nomor 008/PP-PATKLIN/III/2014)

Pelindung:

Ketua Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Ketua:

Puspa Wardhani

Wakil Ketua:

Maimun Zulhaidah Arthamin

Sekretaris:

Dian Wahyu Utami

Bendahara:

Bastiana Bermawi

Anggota:

Osman D. Sianipar

Penelaah Ahli:

Riadi Wirawan, AAG. Sudewa, Rustadi Sosrosuhardjo, Rahayuningsih Dharma, Mansyur Arif

Penelaah Pelaksana:

Prihatini, July Kumalawati, Ida Parwati, Tahono, FM. Judajana, Krisnowati, Nurhayana Sennang Andi Nanggung, Aryati, Purwanto AP, Jusak Nugraha, Sidarti Soehita, Maimun Zulhaidah Arthamin, Endang Retnowati, Noormartany, Edi Widjajanto, Budi Mulyono, Adi Koesoema Aman, Uleng Bahrun, Ninik Sukartini, Kusworini Handono, JB. Soeparyatmo, M. Yolanda Probahoosodo, Rismawati Yaswir

Berlangganan:

3 kali terbit per tahun

Anggota dan anggota muda PDSPATKLIN mulai Tahun 2011 gratis setelah melunasi iuran

Bukan Anggota PDSPATKLIN: Rp 175.000,-/tahun

Uang dikirim ke alamat:

Bastiana Bermawi dr, SpPK

Bank Mandiri KCP SBY PDAM No AC: 142-00-1079020-1

Alamat Redaksi:

d/a Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Jl. Mayjend. Prof. Dr Moestopo 6–8 Surabaya.

Telp/Fax. (031) 5042113, 085-733220600 E-mail: majalah.ijcp@yahoo.com

Akreditasi No. 66/DIKTI/KEP/2011

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
 MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

DAFTAR ISI

PENELITIAN

Perbedaan Kolagen IV di Kerusakan Hati dan Infeksi Hepatitis C di Pasien Talasemia dengan Kelebihan Zat Besi (<i>Diferrence of Collagen IV in Liver Damage and Hepatitis C Infection in Iron Overload Thalassemia Patients</i>) Nuri Dyah Indrasari, Ina Susianti Timan, Pustika Amalia	1-8
Pemeriksaan Tingkat sdLDL Serum Sebagai Petanda Diagnostik Stenosis Koroner (<i>Serum sdLDL Level as A Diagnostic Marker of Coronary Stenosis</i>) Indranila K. Samsuria, Laily Adninta	9-15
Hubungan <i>Glycated</i> Albumin dengan Angka Banding Kolesterol LDL/HDL di Diabetes Melitus Tipe 2 (<i>Association of Glycated Albumin with LDL/HDL Cholesterol Ratio in Type 2 Diabetics</i>) Tiwik Eriskawati, Tahono, M.I. Diah. P	16-21
Deteksi <i>Clostridium Difficile</i> Toksigenik Menggunakan Uji Cepat Toksin dan <i>Real Time Polymerase Chain Reaction</i> (<i>Toxigenic Clostridium Difficile Detection Using Toxin Rapid Test and Real Time Polymerase Chain Reaction</i>) Ika Yasma Yanti, Dalima Ari Wahono Astrawinata	22-26
Kloning dan Overekspresi Protein P24-Gag HIV (<i>Cloning and Overexpression P24-Gag of HIV</i>) Efrida, Andani Eka Putra	27-33
Analisis Kadar Serum Feritin di Karsinoma Payudara (<i>Analysis of Feritin Levels in Carcinoma Mammae</i>) Sriwati Atjo, Uleng Bahrun, Hardjoeno	34-37
<i>Turnaround Time</i> Uji Cocok Serasi di Pelayanan Bank Darah (<i>Turnaround Time Cross Match in the Blood Bank</i>) Glent Nurtanio, Rachmawati Muhiddin, Mansyur Arif	38-41
Fc γ II (CD32) Monosit di Infeksi Dengue Primer dan Sekunder { <i>FcγRII (CD32) Monocytes in Primary and Secondary Dengue Infection</i> } Umi S. Intansari, Usi Sukorini, Shanti Ika Sari	42-47
Kesahihan Pemeriksaan <i>Complex Specific Cocktail Antigen</i> Tb (Esat-6, Cfp-10, Mpt-64) Metode Cepat <i>Immuno-chromatography</i> pada Cairan Serebrospinal Pasien Meningitis Tuberkulosis { <i>Validity of Rapid Immuno-chromatography Complex Specific Cocktail Antigen Tb (Esat-6, Cfp-10, Mpt-64) Using Cerebrospinal Fluid of Tuberculous Meningitis Patient</i> } Livia Noviani, Ida Parwati, Ganiem AR, Turbawati DK	48-54

Kenasaban Kadar 8-Hydroxy-2-Deoxyguanosine (8-OHdG) Serum dengan Derajat Defisit Neurologis pada Strok Iskemik { <i>Correlation of Serum 8-Hydroxy-2-Deoxyguanosine (8-OHdG) with Neurological Deficits in Ischemic Stroke</i> }	
Liza, Ida Parwati, Andi Basuki Prima Birawa, Sylvia Rachmayati	55–59
LDL Teroksidasi dan Kepadatan Mineral Tulang (<i>Oxidized LDL Cholesterol and Bone Mineral Density</i>)	
Sheila Febriana, Yurdiansyah, Siti Rafiah, Ruland DN Pakasi, Uleng Bahrun	60–64
Perbedaan Kadar <i>Prolylcarboxypeptidase</i> di Pasien Sindrom Koroner Akut dengan Pasien Angina Stabil (<i>The Difference of Prolylcarboxypeptidase Level in Acute Coronary Syndrom and Stable Angina Patient</i>)	
Maenaka Smaratunga, Rita C, Indrati AR, Martha JW	65–71
Analisis Feritin dan AST to Platelet Ratio Index sebagai Petanda Derajat Fibrosis Penyakit Hati Kronis (<i>Analysis Ferritin and AST to Platelet Ratio Index As A Marker Degree of Fibrosis Chronic Liver Disease</i>)	
Yulianti Yasin, Uleng Bahrun, Ibrahim Abdul Samad	72–76
Neopterin dan Peroksida Serum Sebagai Petanda Makrofag Teraktivasi pada Tuberkulosis Paru Aktif dan Individu Berkebahayaan Tinggi (<i>Serum Neopterin and Peroxide As Marker of Activated Macrophages on Active Pulmonary Tuberculosis and Individuals at High Risk</i>)	
I Nyoman Wandu, Ni Made Linawati, I Made Bagiada, IWP Sutirta Yasa, AAN. Subawa	77–81
Indeks Aterogenik Plasma di Penyakit Diabetes Melitus Tipe 2 (<i>Atherogenic Index of Plasma in Type 2 Diabetes Mellitus</i>)	
Amarensi M Betaubun, Nurahmi, Uleng Bahrun, Ruland Pakasi	82–86
Nitrit Oksida dan Volume Edema Otak pada Strok Perdarahan dalam Otak dengan Polimorfisme G894T (<i>Nitrit Oxide and Cerebral Edema Volume in Intracerebral Hemorrhagic Strok with G894T Polymorphism</i>)	
Iskandar Zakaria, Arif Faisal, Sri Sutarni, Ahmad Hamim Sadewa, Imran	87–91
TELAAH PUSTAKA	
Fungsi dan Pemeriksaan Limfosit T $\gamma\delta$ (<i>Functions and Examination of $\gamma\delta T$ lymphocytes</i>)	
Yulia Nadar Indrasari, Jusak Nugraha	92–98
LAPORAN KASUS	
Mieloma Multipel Nonsecretory (<i>Nonsecretory Multiple Myeloma</i>)	
Maimun Zulhaidah Arthamin, Nyi R. Wahidah, Boy A. Sihite	99–103
INFORMASI LABORATORIUM MEDIK TERBARU.....	104

Ucapan terimakasih kepada penyunting Vol 22 No. 1 November 2015

Purwanto AP, AAG. Sudewa, Rismawati Yaswir, July Kumalawati, Sidarti Soehita, Ninik Sukartini,
Maimun Z. Arthamin, Rustadi Sosrosuhardjo, Tahono, Prihatini, Jusak Nugraha, Aryati,
Kusworini Handono, Endang Retnowati, Edy Widjajanto, FM. Judajana

PERBEDAAN KOLAGEN IV DI KERUSAKAN HATI DAN INFEKSI HEPATITIS C PASIEN TALASEMIA DENGAN KELEBIHAN ZAT BESI

(Difference of Collagen IV in Liver Damage and Hepatitis C Infection in Iron Overload Thalassemia Patients)

Nuri Dyah Indrasari¹, Ina Susianti Timan¹, Pustika Amalia²

ABSTRACT

Thalassemia patients who receive repeated blood transfusions are at risk of iron overload and hepatitis C infection. Iron overload can cause iron deposit in many organs, including the liver. Iron deposits in the liver and hepatitis C infection can cause chronic inflammation of the liver and induce hepatic stellate cells to produce Extra Cellular Matrix (ECM) causing liver fibrosis. Laboratory diagnosis of liver fibrosis is based on direct and indirect markers. Collagen IV is a direct marker reflecting ECM degradation in liver fibrosis. Alanine Transaminase (ALT), Aspartate Transaminase (AST) and AST/ALT ratio are indirect markers reflecting liver cell damage due to liver fibrosis. The aim of this study was to investigate the difference of Collagen IV in liver damage and hepatitis C infection in thalassemia patients with iron overload. Collagen IV was measured using ELISA, while ALT and AST were measured by enzymatic colorimetric assay. Fifty eight thalassemia patients with iron overload, 29 with hepatitis C and 29 without hepatitis C were studied. This study showed no significant difference in Collagen IV level, ALT, AST activity and AST/ALT ratio between subjects with and without hepatitis C (p 0.131, 0.243, 0.256 and 0.726) and no significant correlation was found between collagen IV level and ALT activity, and between collagen IV and AST/ALT ratio (p 0.160 and 0.509). These findings indicate that Collagen IV showed no correlation with liver damage and hepatitis C infection in thalassemia patients with iron overload.

Key words: Collagen IV, liver damage, hepatitis C infection, thalassemia, iron overload

ABSTRAK

Pasien talasemia dengan transfusi darah berulang memiliki bahaya kelebihan zat besi dan terinfeksi virus Hepatitis C. Kelebihan zat besi akan menimbulkan penimbunan besi di berbagai organ, termasuk di organ hati. Zat besi yang tertimbun di hati dan infeksi hepatitis C menyebabkan inflamasi kronis pada hati dan menginduksi sel stelata hati untuk menghasilkan Matriks Ekstraseluler (MES) yang menyebabkan terjadinya fibrosis hati. Diagnosis laboratorium untuk fibrosis hati berdasarkan pemeriksaan petanda langsung dan tidak langsung. Kolagen IV merupakan petanda langsung fibrosis hati yang menggambarkan degradasi MES di hati. Alanin Transaminase (ALT), Aspartate Transaminase (AST) dan angka banding AST/ALT merupakan petanda tidak langsung yang menggambarkan kerusakan sel hati karena fibrosis hati. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan Kolagen IV di kerusakan hati dan infeksi hepatitis C pada pasien talasemia dengan zat kelebihan besi. Kadar Kolagen IV diperiksa dengan teknik ELISA, sedangkan AST dan ALT diukur dengan teknik enzimatik kolorimetri. Para peneliti mendapatkan 58 pasien talasemia dengan kelebihan zat besi, 29 pasien dengan hepatitis C dan 29 orang tanpa infeksi hepatitis C. Pada penelitian ini tidak ditemukan perbedaan bermakna kadar Kolagen IV, ALT, AST dan angka banding AST/ALT pada subjek dengan dan tanpa hepatitis C, dengan nilai p berturut-turut 0,131, 0,243, 0,256 dan 0,726 serta tidak didapatkan hubungan bermakna antara kadar Kolagen IV dan ALT dan angka banding AST/ALT, dengan nilai p berturut-turut 0,160 dan 0,509. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa tidak didapatkan hubungan antara kadar Kolagen IV dengan kerusakan hati dan infeksi hepatitis C pada pasien talasemia dengan zat kelebihan besi.

Kata kunci: Kolagen IV, kerusakan hati, infeksi hepatitis C, talasemia, kelebihan besi

PENDAHULUAN

Talasemia merupakan penyakit kelainan genetik yang diturunkan dan ditandai dengan gangguan pembuatan rantai globin akibat pembentukan satu atau lebih dari padanya berkurang atau hilang.^{1,2} Data

di Unit Rawat Jalan Ilmu Kesehatan Anak Rumah Sakit Umum Pusat Nasional dr. Cipto Mangunkusumo (RSCM) hingga akhir tahun 2012, jumlah pasien talasemia mayor mencapai angka 1.607 orang dengan penambahan pengidap baru sekitar antara 70–80

¹ Departemen Patologi Klinik, FKUI, RSCM, Jakarta. E-mail: Nuridyahkusmardi@yahoo.com

² Departemen Ilmu Kesehatan Anak, FKUI, RSCM, Jakarta

orang per tahun.³ Di Indonesia, talasemia merupakan salah satu penyebab anemia anak (31%).⁴

Eritropoiesis yang sia-sia di talasemia mengakibatkan terjadinya anemia. Respons tubuh terhadap anemia berupa peningkatan eritropoiesis hingga 10-30x dari normal. Peningkatan eritropoiesis akan menaikkan penyerapan zat besi melalui usus.^{1,2} Pengobatan transfusi darah juga akan meningkatkan kadar zat besi dalam tubuh. Peningkatan jumlah zat besi dalam tubuh, sehingga melebihi kemampuan transferin (protein pengikat zat besi) akan menimbulkan zat besi bebas yang bersifat toksik bagi tubuh.^{1,2} Zat besi bebas ini akan mengendap dan merusak berbagai organ tubuh seperti: jantung, hati, pankreas dan lain-lain. Zat besi bebas melalui reaksi *Fenton* akan menghasilkan radikal bebas berupa oksigen yang reaktif dan menyebabkan terjadi kerusakan di berbagai organ tubuh.^{1,2}

Di samping kelebihan zat besi, transfusi darah berulang di pasien talasemia juga menimbulkan masalah berupa infeksi penyakit yang ditularkan lewat darah, seperti: HIV, hepatitis B dan C.¹ Hepatitis C merupakan salah satu penyakit yang ditularkan lewat transfusi darah. Angka kejadian infeksi hepatitis C pasien talasemia di Indonesia cukup tinggi. Pada tahun 2001, angka anti-HCV positif di pasien talasemia sebesar 84,4% (54/ 64).⁵ Data Pusat talasemia Departemen Ilmu Kesehatan Anak RSCM tahun 2012 mendapatkan angka anti-HCV positif sebesar 15% (111/716).⁶ Sedangkan di Pakistan pada tahun 2004, mendapatkan angka seropositif anti HCV sebesar 42%.⁷ Hepatitis C merupakan penyakit dengan tingkat angka kesakitan dan kematian cukup tinggi, karena paling sering berkembang menjadi hepatitis kronis, fibrosis dan sirosis.⁸

Inflamasi kronis yang ditimbulkan oleh kelebihan zat besi dan infeksi hepatitis C di pasien talasemia memicu fibrosis hati.⁹ Pada fibrosis hati terjadi penimbunan jaringan interstisial atau jaringan parut matriks ekstraseluler sebagai respons terhadap inflamasi hati. Fibrosis hati yang terjadi dikaitkan dengan dua (2) hal yaitu: respons inflamasi terhadap sel stelata hati dan penimbunan matriks ekstraseluler.⁹⁻¹⁴ Dalam kondisi normal terjadi keseimbangan antara fibrogenesis dan degradasi jaringan fibrosis. Namun dalam kondisi inflamasi yang menetap, fibrogenesis menjadi lebih menonjol, sehingga terjadi penimbunan jaringan fibrotik. Jaringan fibrotik hati yang terbentuk terus menerus menimbulkan kerusakan gaya bentuk hati, gangguan vaskularisasinya, gangguan fungsi, pembentukan nodul, hingga menjadi sirosis.⁸

Saat ini, diagnosis pasti untuk penyakit fibrosis hati ditetapkan dengan pemeriksaan biopsi menggunakan jarum.^{15,16} Namun pemeriksaan biopsi menggunakan jarum memiliki kekurangan, antara lain bersifat:

menyakitkan dan jaringan yang diambil seringkali tidak mewakili.¹⁵ Di pasien talasemia, tatalangkah biopsi juga seringkali sulit dilakukan karena ada gangguan koagulasi yang dapat menimbulkan bahaya perdarahan.¹ Pemeriksaan lain untuk mendeteksi fibrosis yang tidak menyakitkan adalah *fibroscan*. Namun, pemeriksaan *fibroscan* cukup mahal, sehingga biayanya seringkali tidak terjangkau oleh pasien. Pemeriksaan lain untuk mendeteksi fibrosis yang tidak menyakitkan adalah pemeriksaan darah laboratoris untuk menemukan petandanya.¹⁵⁻¹⁷

Peran pemeriksaan laboratoris untuk mendapatkan petanda fibrosis hati dikelompokkan menjadi cara yang langsung dan tidak langsung.^{18,19} Pemeriksaan untuk mendapatkan petanda langsung menggambarkan pembuatannya, degradasi matriks ekstraseluler dan jumlah enzim yang terlibat dalam fibrosis. Pemeriksaan untuk mendapatkan petanda langsung antara lain adalah: asam hialuronik, Kolagen IV dan VI, *amino terminal peptide of pro-collagen III* (PIIINP), laminin, *Tissue Inhibitor Metalloproteinase* (TIMP-1) dan *Matrix Metalloproteinase 2* (MMP-2).^{17,18} Dibandingkan dengan kolagen lainnya, Kolagen IV memiliki kelebihan, karena tidak mengalami degradasi matriks di dalam serum. Dengan demikian kadarnya mendekati gambaran matriks ekstraseluler yang sebenarnya.^{17,18} Pemeriksaan Kolagen IV masih terbatas untuk penelitian, tetapi hasil dari berbagai penelitian menunjukkan kenasaban yang cukup baik terhadap derajat fibrosis.^{17,18} Kolagen IV adalah bagian dari komponen matriks ekstraseluler normal. Kolagen IV memiliki kelebihan dibandingkan yang jenis I dan III karena kadarnya terdapat utuh dalam darah dan tidak mengalami proteolisis, sehingga kadar Kolagen IV mendekati gambaran fibrosis sebenarnya.^{19,20} Pemeriksaan laboratoris untuk mendeteksi Kolagen IV dalam serum dilakukan dengan cara mendeteksi fragmen *carboxyterminal cross-linking domain* (NC1) atau domain aminotermial 7S prokolagen IV (PIVNP). Fragmen Kolagen IV ini merupakan hasil degradasi proteolitik yang dilepaskan ke aliran darah sistemik.^{21,22}

Pemeriksaan petanda tidak langsung fibrosis hati merupakan petanda kerusakan atau gangguan fungsi hati akibat fibrosis hati.¹⁷⁻¹⁸ Pemeriksaan petanda tidak langsung menggambarkan secara tidak langsung adanya fibrosis hati.^{17,18} Pemeriksaan petanda tidak langsung tersebut di antaranya adalah: *Aspartat Transaminase* (AST), *Alanin Transaminase* (ALT) dan angka banding AST/ALT.¹⁷⁻¹⁸

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui gambaran dan hubungan kerusakan serta fibrosis hati di pasien talasemia dengan kelebihan zat besi melalui pemeriksaan laboratoris ALT, AST dan Kolagen IV. Manfaat penelitian ini adalah dengan diketahuinya

hubungan antara kadar Kolagen IV dan gangguan fungsi hati serta hepatitis C di pasien talasemia dengan kelebihan zat besi, maka dapat diupayakan perbaikan penanganannya sebagai penapisan awal fibrosis sebelum diperiksa dengan *fibroscan*.

METODE

Rancangan penelitian ini adalah kajian potong lintang analitik. Penelitian dilakukan di Departemen Ilmu Kesehatan Anak dan Laboratorium Pusat Departemen Patologi Klinik RSCM selama bulan Oktober 2011–Januari 2012. Subjek penelitian adalah pasien talasemia mayor yang menjalani transfusi darah paling sedikit satu (1) tahun atau sudah mengalaminya 12 kali dan mengalami kelebihan zat besi (kadar feritin >1.000 ug/L dan saturasi transferin >55%).²³ Data riwayat: transfusi, kelebihan zat besi, HBsAg dan anti-HCV diperoleh dari rekam pemeriksaan kedokteran. Patokan kesertaan adalah pasien hepatitis C positif (anti HCV positif) dan pengidap hepatitis C negatif (anti HCV negatif) sebagai pembanding. Patokan tidak disertakan adalah mereka yang terinfeksi virus hepatitis B (HBsAg positif).

Bahan penelitian berupa serum sebanyak 6 mL untuk pemeriksaan AST, ALT dan Kolagen IV. Pemeriksaan ALT dan AST menggunakan alat *Cobas 501*. Pemeriksaan ALT dengan perangkat ALTL (*Alanine Aminotransferase acc./IFCC without pyridoxal phosphate activation*) dari *Roche*, nomor katalog: 20764957322.²⁴ Pemeriksaan AST menggunakan perangkat AST (IFCC) dari *Roche*, nomor katalog 20764949322.²⁵ Keduanya menggunakan asas pemeriksaan berupa enzimatis kolorimetrik.^{24,25} Pemeriksaan Kolagen IV menggunakan perangkat reagen *Human Collagen IV jenis IV Alpha 1 (COL-4a1) ELISA Serum*, nomor katalog E90149HU, asas pemeriksaan *Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)*.²⁶

Data diolah menggunakan perangkat lunak SPSS 17.0. Data disajikan dalam bentuk statistik deskriptif, berupa tabel atau grafik. Sebaran data menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov*. Kenasaban antara kadar Kolagen IV dan ALT dicari dengan menghitung nilai kemaknaan (p), koefisien kenasaban (r) dan arahnya. Bila sebaran kedua data normal, maka digunakan uji *Pearson*. Namun, bila sebaran data salah satu atau keduanya tidak normal, maka digunakan Uji *Spearman*. Perhitungan perbandingan kadar Kolagen IV di kelompok hepatitis C positif dan negatif menggunakan Uji Mann Whitney, karena data numerik (Kolagen IV) dibandingkan dengan data nominal (hepatitis C positif dan negatif) dan kedua kelompok yang dibandingkan tidak berpasangan. Penelitian ini

telah lolos kaji kepatutan dari Komisi Etik Kedokteran FKUI dengan nomor surat: 166/PT02.FK/ETIK/2011.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji ketelitian *within run* pemeriksaan ALT menggunakan bahan pembanding normal dan patologis didapatkan *Coefisien Variacy (CV)* masing-masing sebesar 0,7% dan 0,5%. Hasil uji ketepatan menggunakan bahan pembanding normal dan patologis didapatkan penyimpangan (d) berturut-turut sebesar -0,7 - -1,2 dan -1 - 0. Hasil tersebut masih dalam rentang CV dan batas penyimpangan yang diperbolehkan oleh pabrik pembuat alat.²⁵

Hasil uji ketelitian *within run* pemeriksaan AST menggunakan bahan pembanding normal dan patologis didapatkan CV masing-masing sebesar 0,5% dan 0,4%. Hasil uji ketepatan pemeriksaan AST menggunakan bahan pembanding normal dan patologis didapatkan penyimpangan (d) berturut-turut sebesar -0,4 - 0,1 dan -0,5 - 0,5. Hasil tersebut masih dalam rentang CV dan batas penyimpangan yang diperbolehkan oleh pabrik pembuat alat.²⁶

Pada penelitian ini diperoleh 58 subjek kajian yang terdiri dari laki-laki sebanyak 33 orang (57%) dan perempuan 25 orang (43%), dengan rerata usia 22,1 {(Simpang Baku (SB) 7,9) tahun (Tabel 1)}.

Pada penelitian ini didapatkan peningkatan ringan aktivitas ALT sekitar 1,1 kali dari nilai rujukan 40 U/L dengan nilai rerata 43,31 (SD 25,99) U/L. Hasil Uji Mann Whitney aktivitas ALT pada kelompok hepatitis C negatif dan positif tidak didapatkan perbedaan bermakna ($p > 0,05$ yaitu $p = 0,243$). Hasil meneliti ini, sejalan dengan yang didapatkan oleh Li dkk dan Roesli.^{5,27} Li dkk²⁷ pada tahun 2002 meneliti fibrosis di pasien talasemia mayor dengan hemosiderosis akibat mengalami transfusi berulang mendapatkan rerata kadar ALT 38 (SD 43) U/L. Roesli⁵ meneliti gangguan fungsi hati di pasien talasemia mayor mendapatkan aktivitas ALT yang meningkat dengan rentang atas ALT lebih lebar, sehingga 4x nilai batas atas rujukan, sedangkan rentang atas ALT pada penelitian ini didapatkan 3x nilai batas rujukan.

Peningkatan ringan aktivitas ALT dapat disebabkan oleh dua (2) kemungkinan. Kemungkinan pertama, kerusakan hepatosit yang terjadi masih dalam tahap ringan, sehingga enzim ALT di sitoplasma keluar dari hepatosit dan terukur kadarnya di dalam darah. Kemungkinan kedua, kerusakan hepatosit yang terjadi sudah sampai tahap berat, sehingga hanya sedikit sel tersebut yang utuh dan mampu mengeluarkan ALT. Pada penelitian ini, kemungkinan penyebab peningkatan ringan aktivitas ALT belum dapat

Tabel 1. Ciri subjek penelitian

	Jumlah keseluruhan subjek n=58	Hepatitis C negatif n=29	Hepatitis C positif n=29
Umur (tahun)	22,1 (SB 7,9)	25 (SB 6,4)	19 (SB 8,2)
Jenis kelamin	33 (57%) laki-laki 25 (43%) perempuan	20 (69%) laki-laki 9 (31%) perempuan	13 (45%) laki-laki 16 (55%) perempuan

SB: Simpang Baku

dipastikan. Kepastian penyebab peningkatan ringan ALT harus diperkuat dengan *fibroscan* atau biopsi hati.²⁸

Peningkatan aktivitas ALT seringkali tidak sejalan dengan kerusakan hati yang terjadi. Pradat dkk²⁹ dan Puoti³⁰ melaporkan bahwa hal tersebut tidak sejalan. Puoti dkk³⁰ pada tahun 1997, melaporkan pemeriksaan ALT kurang peka dan khas dalam mendeteksi sirosis, karena hampir 50% pasien sirosis memiliki kadar ALT normal. Puoti dkk³⁰ juga melaporkan tidak ada perbedaan bermakna dalam gambaran jaringan histologi hati di subjek hepatitis C dengan aktivitas ALT yang normal maupun meningkat. Pradat dkk²⁹ melaporkan bahwa pemeriksaan ALT memiliki angka kepekaan dan kekhasan tinggi (80% dan 87%) pada ALT >2,25 x nilai batas atas normal. Pradat²⁹ menggunakan bakuan emas biopsi hati, tetapi tidak menyebutkan berapa nilai batas atas normal yang digunakan. Bila hasil ALT penelitian ini dibandingkan dengan ALT >2,25 nilai batas atas rujukan (90 U/L), seperti yang digunakan Pradat dkk²⁹, maka hanya didapatkan 3/58 orang (5%). Ketiga orang tersebut berasal dari kelompok HCV positif 2/58 orang (3%) dan dari yang HCV negatif 1/58 orang (2%). Jumlah subjek yang sangat sedikit memiliki aktivitas ALT >2,25 pada penelitian ini dan mengakibatkan data tidak dapat diolah lebih lanjut. Dengan demikian, belum dapat dipastikan penyebab peningkatan ringan ALT tersebut apakah karena kerusakan hati yang ringan atau berat.

Pada penelitian ini didapatkan peningkatan ringan aktivitas AST (sekitar 1,4 kali nilai rujukan 40 U/L) dengan rerata 52,44 U/L. Hasil Uji Mann Whitney aktivitas AST pada kelompok hepatitis C negatif dan positif tidak didapatkan perbedaan bermakna ($p > 0,05$ yaitu $p = 0,256$). Penyebab peningkatan ringan aktivitas enzim AST pada penelitian ini belum dapat dipastikan. Kepastian penyebab peningkatan ringan AST harus diperkuat dengan *fibroscan* atau biopsi hati. Peningkatan ringan AST dapat disebabkan oleh karena kerusakan hati yang ringan, sehingga enzim AST sebagai zat terbanyak dalam sitoplasma hepatosit keluar dari hepatosit dan masuk ke dalam peredaran. Atau hal tersebut karena kerusakan hati yang berat, sehingga terjadi pelepasan AST dalam mitokondria

hepatosit dan masuk ke dalam peredaran.³¹ Sama halnya dengan ALT, peningkatan aktivitas AST juga seringkali tidak sejalan dengan kerusakan hepatosit yang terjadi.^{9,15} Alvina³² melaporkan aktivitas AST yang tidak sejalan dengan kerusakan hati di pasien dengan perlemakan hati bukan akibat alkohol, terutama pada perlemakan hati derajat berat didapatkan aktivitas AST yang menurun.

Aktivitas ALT dan AST antara subjek HCV negatif dan positif tidak menunjukkan perbedaan bermakna (lihat Gambar 1). Hal ini mungkin dapat disebabkan karena kerusakan hati oleh kelebihan zat besi telah lama terjadi lebih dahulu dibandingkan dengan infeksi hepatitis C yang diperoleh dari transfusi darah. Kemungkinan lain yang menyebabkan perbedaan bermakna antara subjek terinfeksi HCV positif dan negatif tidak ada, adalah kemungkinan pada pemeriksaan anti-HCV didapatkan positif palsu. Hasil positif palsu subjek dengan anti-HCV positif dapat mengakibatkan perbedaan kerusakan hati bila dibandingkan dengan subjek anti-HCV negatif tidak ada. Berdasarkan petunjuk dari *Asian Pacific Association for The Study of the Liver (APASL)*, hasil memeriksa anti-HCV yang positif harus diperkuat dengan pemeriksaan HCV RNA untuk memastikan diagnosis infeksi hepatitis C.³³

Perbedaan diagnosis HCV di subjek yang digunakan pada penelitian ini mungkin juga sebagai salah satu penyebab perbedaan hasil yang didapat dalam telitian Pradat dkk.²⁹ Pradat²⁹ menggunakan subjek yang terdapat anti-HCV positif dan HCV RNA positif untuk memastikan bahwa terteliti benar-benar menderita hepatitis C, sedangkan pada penelitian ini hanya menggunakan mereka yang beranti-HCV positif saja sebagai ketetapan diagnosis hepatitis C.

Rerata angka banding AST/ALT di kelompok HCV negatif dan positif didapatkan peningkatan, yaitu berturut-turut 1,33 (SB 0,46) dan 1,17 (SB 0,31) (lihat Gambar 1) dan tidak didapatkan perbedaan bermakna angka banding AST/ALT antara kedua kelompok tersebut. Peningkatan angka banding AST/ALT ≥ 1 didapatkan di 45/58 orang (78%) yang terdiri dari 23/58 yang diteliti (40%) di kelompok HCV negatif dan 22/58 (38%) yang HCV positif. Peningkatan angka banding AST/ALT ≥ 1 pada penelitian ini memberikan

gambaran aktivitas ALT lebih rendah dibandingkan dengan AST. Penurunan aktivitas ALT mungkin disebabkan oleh fibrosis yang berkembang yang disebabkan oleh kelebihan zat besi yang tertimbun di dalam hati. Giannini dkk³⁴ dan Castera dkk³⁵ melaporkan nilai kekhasan angka banding AST/ALT ≥ 1 untuk mendeteksi keberadaan fibrosis hati yang berat, berturut-turut adalah 96,9% dan 89%. Giannini dkk³⁴ dan Castera dkk³⁵ sama-sama menggunakan biopsi hati sebagai bakuan emas.

Pada penelitian ini didapatkan kadar Kolagen IV dengan median 9,697 (rentang 10–74,075) ng/mL. Uji Mann Whitney angka banding AST/ALT pada kelompok hepatitis C negatif dan positif tidak didapatkan perbedaan bermakna ($p > 0,05$ yaitu $p = 0,726$). Kadar Kolagen IV yang didapat pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan yang didapat Guang-Xu³⁶, Hirayama dkk²¹, Xian Li dkk³⁷, George dkk³⁸ dan Timan dkk⁴ seperti yang tampak di Tabel 2. Bila kadar Kolagen IV dibandingkan di subjek pembandingan pada penelitian yang dilakukan Hirayama dkk²¹, Xian Li dkk³⁷ dan George dkk³⁸, maka didapatkan kadar Kolagen IV tertinggi pada penelitian Xian Li dkk³⁷ sekitar 195 $\mu\text{g/L}$ (satuan $\mu\text{g/L} = \text{ng/mL}$). Timan dkk⁴ mendapatkan kadar Kolagen IV untuk dugaan fibrosis sebesar 7/58 (12%) dengan *cut off* 167 ng/mL. George dkk³⁸, mendapatkan kadar Kolagen IV >115 ng/mL memiliki kepekaan 100% dan kekhasan 69% untuk mendeteksi fibrosis derajat 3 dan sirosis. Bila hasil meneliti ini dibandingkan dengan kadar Kolagen IV dalam pembandingan penelitian yang dilakukan Xian Li dkk³⁷, maka didapatkan 56/58 (97%) subjek

memiliki kadar Kolagen IV >163 ng/mL dan hanya 2/58 (3%) memiliki kadar Kolagen IV <163 ng/mL yaitu 10 ng/mL dan 94 ng/mL. Kadar Kolagen IV yang lebih tinggi pada penelitian ini mungkin disebabkan oleh fibrosis yang terjadi di subjek talasemia akibat kelebihan zat besi yang cukup berat dan karena usia yang bersangkutan relatif muda (8–43 tahun), sehingga respons inflamasi di hati terhadap kelebihan zat besi masih cukup tinggi.

Pada penelitian ini didapatkan 56 subjek dengan rentang kadar Kolagen IV yang cukup lebar yaitu antara 530–74,075 ng/mL dan dua (2) subjek dengan kadar Kolagen IV sebesar 10 ng/mL dan 94 ng/mL. Lebar rentang kadar tinggi Kolagen IV di subjek penelitian ini mungkin dipengaruhi oleh kepatuhan penggunaan zat pengikat besi dan lama transfusi yang tidak tersedia datanya pada penelitian ini. Di pasien talasemia yang disertai kelebihan zat besi memungkinkan juga terjadi fibrosis di berbagai organ, seperti: jantung, pankreas dan ginjal sehingga kadar Kolagen IV yang terukur pada penelitian ini menjadi sangat tinggi dibandingkan dengan penelitian lainnya.

Pada penelitian ini tidak ditemukan perbedaan bermakna kadar Kolagen IV di subjek dengan hepatitis C positif dan negatif, dengan nilai $p > 0,05$ ($p = 0,131$) (Lihat Gambar 1). Perbedaan kadar Kolagen IV di kelompok HCV positif dan negatif pada penelitian ini tidak sejalan dengan yang didapatkan Murawaki dkk³⁹ pada tahun 2001. Murawaki dkk⁴⁰ mendapatkan kadar Kolagen IV yang lebih tinggi dan bermakna di kelompok hepatitis C positif terhadap yang negatif

Tabel 2. Perbandingan kadar Kolagen IV

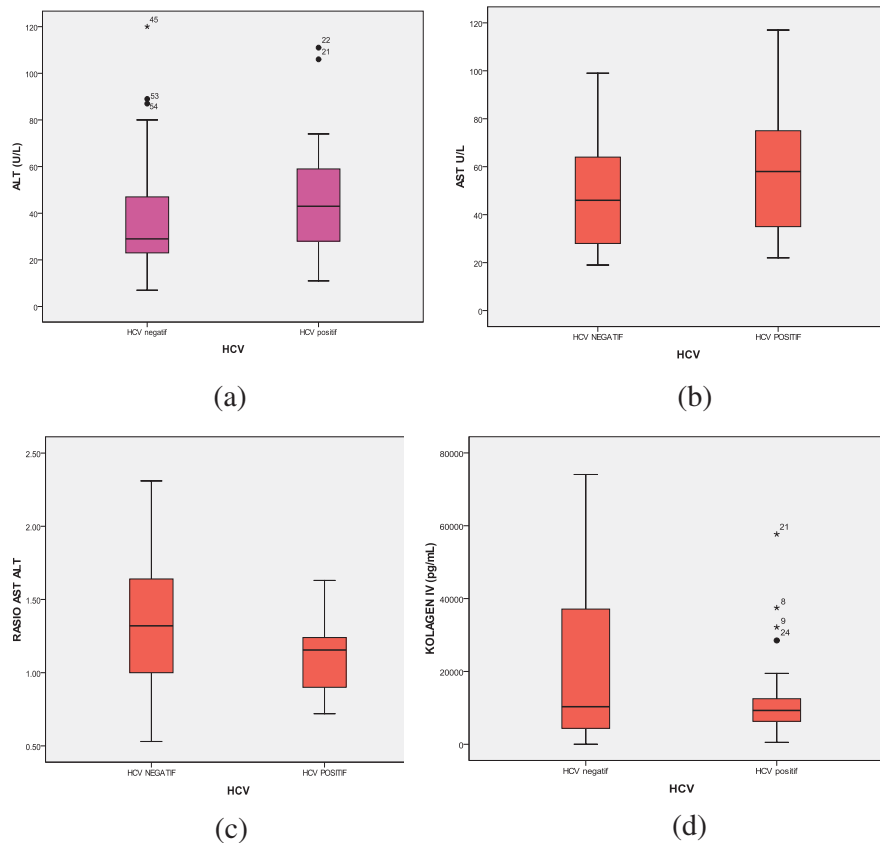
No	Peneliti	Kadar Kolagen IV	Subjek penelitian	Metode
1.	Peneliti naskah ini	Median 9,697 (rentang 10–74,075) ng/mL	Talasemia mayor	<i>Enzyme-linked immunosorbant assay</i> (ELISA)
2.	Guang Xu dkk ³⁶	Hepatitis kronis ringan 52,4 \pm 15,1 ng/mL, sedang 56,2 \pm 16,9 ng/mL, dan berat 60,5 \pm 17,7 ng/mL. Sirosis hati: 69,1 (SD 14,5) ng/mL	Penyakit hati kronis	<i>Radioimmuno assay</i>
3.	Hirayama dkk ²¹	Hepatitis kronis aktif: median 192 (174–266) ng/mL Sirosis hati: median 193 (151–344) ng/mL, pengendali 100 (87–110) ng/mL	Penyakit hati kronis	Enzyme Imunoassay
4.	Xian Li dkk ³⁷	Pasien 149,85 \pm 49,27 $\mu\text{g/L}$, pengendali 129,69 \pm 33,08 $\mu\text{g/L}$	Gejala hepatitis anak	<i>Radioimmuno assay</i>
5.	George dkk ³⁸	Pasien 130 \pm 79 ng/mL pengendali 81 \pm 17 ng/mL	Hemokromatosis hereditas	<i>Enzyme-linked immunosorbant assay</i> (ELISA)
6.	Timan dkk ⁴	Talasemia mayor 118,4 \pm 41,9 ng/mL Talasemia <i>trait</i> 97,5 \pm 31,6 ng/mL, pengendali 109,9 \pm 28,7 ng/mL	Talasemia mayor dan <i>trait</i>	<i>Enzyme-linked immunosorbant assay</i> (ELISA)

dengan nilai *cut off* 130 ng/mL. Perbedaan hasil meneliti ini disebabkan oleh jumlah subjek yang masih kurang untuk kelompok HCV positif dan peserta kajian ini menderita HCV dan talasemia mayor. Di samping itu, subjek talasemia mayor dengan HCV positif pada penelitian ini sudah mengalami fibrosis hati lebih dahulu sebelum terinfeksi HCV. Fibrosis yang dipicu kelebihan zat besi di kedua populasi ini sudah berlangsung lama dan menjadi sangat berat, sehingga dengan tambahan infeksi hepatitis C tidak memperlihatkan peningkatan fibrosis yang bermakna.

Infeksi hepatitis C bertanggung jawab terhadap perkembangan fibrosis hati, sirosisnya dan keganasan karsinoma hepatoseluler.^{40,41} Kelebihan zat besi seringkali ditemukan dalam kasus hepatitis C kronis dan berperan sebagai faktor peramalan perjalanan penyakit yang negatif. Namun bagaimana mekanismenya hingga kini masih belum diketahui dengan jelas. Infeksi hepatitis C diduga berpengaruh dalam hasil protein pengatur zat besi “hepsidin” yang dihasilkan di hati.^{40,41} Hepsidin merupakan protein yang berperan dalam pengaturan zat besi dalam tubuh. Di dalam kondisi zat besi yang berlebih, hepsidin akan menghambat penyerapannya pada

permukaan basolateral enterosit dan menghambat pelepasan zat besi dari tempat penyimpanannya melalui pengimbasan internalisasi dan degradasi *ferroportin*. Bila pembuatan hepsidin menurun karena kerusakan hati oleh infeksi hepatitis C, kadar zat besi dalam darah akan semakin tinggi. Kadar zat besi dalam darah yang tinggi dan melampaui kemampuan daya ikat transferin akan mengakibatkan zat besi bertambah banyak bebas dalam darah dan tertimbun dalam berbagai organ tubuh. Lebih lanjut zat besi bebas dalam berbagai organ tubuh akan memicu inflamasi. Inflamasi jangka panjang di organ hati akan menimbulkan fibrosis hati.^{40,41}

Pada penelitian ini tidak ditemukan hubungan bermakna antara kadar Kolagen IV dan ALT >40 U/L, dengan nilai $p=0,160$ dan angka banding AST/ALT dengan nilai $p=0,509$. Hasil meneliti ini sejalan dengan yang dilaporkan oleh Alvina³², tetapi tidak sejalan dengan yang dilaporkan oleh Guang-Xu dkk.³⁶ Alvina³² meneliti di subjek yang mengalami perlemakan hati dan mendapatkan tidak ada kenasaban antara kadar Kolagen IV dan aktivitas ALT di semua derajat perlemakan hati. Guang Xu dkk³⁶ meneliti pasien dengan fibrosis hati dan mendapatkan hubungan yang



Gambar 1. Hasil sebaran penelitian: aktivitas ALT (a), aktivitas AST(b), angka banding AST/ALT(c) dan kadar Kolagen IV (d) di kelompok hepatitis C negatif dan positif.

bermakna antara kadar Kolagen IV dan aktivitas ALT >40 U/L.

Perbedaan hasil meneliti ini dengan kajian oleh Guang Xu³⁶ dapat disebabkan karena jumlah subjek yang memiliki aktivitas ALT >40 U/L kurang. Pada penelitian ini, jumlah subjek yang memiliki aktivitas ALT >40 U/L, yaitu hanya 28 orang, sedangkan jumlah yang diteliti oleh Guang Xu³⁶ sebanyak 44 orang. Hasil meneliti juga dipengaruhi oleh jenis subjek penelitian. Penelitian ini menggunakan subjek pengidap talasemia yang kelebihan zat besi dengan dan tanpa infeksi HCV. Sedangkan Guang Xu³⁶ menggunakan subjek pasien hepatitis C kronis. Peningkatan aktivitas ALT yang ringan pada penelitian ini mungkin dapat disebabkan oleh kerusakan hati yang terjadi sudah berat, karena seluruh subjek telah mengalami kelebihan zat besi dan ditambah dengan infeksi HCV. Kemungkinan ini harus dibuktikan dengan *fibroscan* atau biopsi hati.

SIMPULAN DAN SARAN

Didasari telitian ini, didapatkan aktivitas ALT dan AST yang meningkat ringan, yaitu 43,31 (SB 26) U/L dan 52,48 (SB 24,44) U/L. Aktivitas ALT dan AST di kelompok hepatitis C negatif cenderung lebih rendah dibandingkan dengan kelompok yang positif dan tidak didapatkan perbedaan bermakna antara aktivitas ALT di kedua kelompok subjek. Angka banding AST/ALT ≥ 1 didapatkan di 45/58 subjek (78%). Angka banding AST/ALT di kelompok hepatitis C negatif cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan yang positif dan tidak didapatkan perbedaan bermakna angka banding AST/ALT di kedua kelompok subjek. Kadar Kolagen IV seluruh subjek didapatkan tinggi, yaitu sebesar 9,697 (rentang 10–74,075) pg/mL. Kadar Kolagen IV di kelompok hepatitis C negatif cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan yang positif dan tidak didapatkan perbedaan bermakna kadar Kolagen IV di kedua kelompok subjek serta tidak didapatkan hubungan bermakna antara Kolagen IV dengan ALT maupun antara Kolagen IV dengan angka banding AST/ALT.

Para peneliti ini berpendapat, bahwa perlu diteliti lebih lanjut pemeriksaan kadar Kolagen IV dengan mempertajam patokan tidak disertakan sehubungan kondisi lain yang dapat mempengaruhi kadar Kolagen IV, seperti lama: transfusi dan penggunaan zat pengikat besi di pasien talasemia, serta membandingkan kadar Kolagen IV dengan pemeriksaan *fibroscan* hati.

DAFTAR PUSTAKA

1. Olivieri NF. The B thalassemias. *N Engl J Med.* 1999; 341 (2): 99-109.
2. Weatherall DJ, Clegg BJ. *The Thalassemia Syndromes.* 4th Ed., Oxford, Blackwell Science Ltd, 2001; 3-62.
3. Ananta Y. Perbandingan efektivitas deferipron pada anak thalassemia dengan atau tanpa infeksi virus hepatitis B/C: uji klinis tanpa randomisasi. Tesis. Jakarta, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2009; 40-55.
4. Timan IS, Aulia D, Atmakusuma D, Sudoyo A, Windiastuti E, Kosasih A. Hematological disorders in the developing countries: Some hematological problems in Indonesia. *International Journal of Hematology.* 2002; 76 (S1): 286-90.
5. Roesli T. Gangguan fungsi hati pada penderita thalassemia beta mayor: Telaah khusus hubungan dengan saturasi transferin dan infeksi virus hepatitis B dan C Tesis. Jakarta, Universitas Indonesia, 2001; 45-50.
6. Anonym. Data Kunjungan Pusat Talasemia Departemen Ilmu Kesehatan Anak RSCM. Jakarta, 2012; 1-2.
7. Younus M, Hassan K, Ikram N, Naseem L, Zaheer HA, Khan MF. Hepatitis C Virus seropositivity in repeatedly transfused thalassemia major patients. *International Journal of Pathology.* 2004; 2 (1): 20-3.
8. Liang TJ, Rehermann B, Seeff LB, Hoofnagle JH. Pathogenesis, natural history, treatment, and prevention of Hepatitis C. *Ann Intern Med.* 2000; 132: 296-305.
9. Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest.* 2005;115 (2): 209–18.
10. Budihusodo U. Tumor hati. In : Sulaiman A, Akbar N, Lesmana LA, Noer S, editors. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Hati.* 1st Ed., Jakarta, Pusat Penerbitan Jayaabadi, 2007; 469-75.
11. Amirudin R. Fibrosis hati. In: Sulaiman A, Akbar N, Lesmana LA, Noer S, editors. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Hati.* 1st Ed., Jakarta, Pusat Penerbitan Jayaabadi, 2007; 329-32.
12. Kusumobroto HO. Sirosis hati. In: Sulaiman A, Akbar N, Lesmana LA, Noer S, editors. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Hati.* 1st Ed., Jakarta, Pusat Penerbitan Jayaabadi, 2007; 335-44.
13. Leclercq IA, Horsmans Y. Cell biology of NASH: fibrosis and cell proliferation. In: Farrel GC, George J, Hall PM, McCullough AJ, editors. *Fatty Liver Disease: NASH and Related Disorders.* 1st Ed., Massachusetts USA, Blackwell Publishing Ltd, 2005; 143-58.
14. Djauzi S. Aspek imunologik penyakit hati. In: Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S, editors. *Buku Ajar Penyakit Dalam.* 4th Ed., Jakarta, Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI, 2006; 417-9.
15. Rockey DC, Friedman SL. Hepatic Fibrosis and Cirrhosis. In: BoyerTD, Manns MP, Sanyal AJ, editors. *Zakim and Boyer's hepatology: a textbook of liver disease.* 6th Ed., Philadelphia, Elsevier Inc, 2012; 87-109.
16. Grigorescu M, Review: Noninvasive biochemical markers of liver fibrosis. *J Gastrointestin Liver Dis.* 2006; 15 (2): 149-59.
17. Marie, Bousse, Kerdilès, Martyré C, Samson M. Cellular and molecular mechanisms underlying bone marrow and liver fibrosis: a review. *European Cytokine Network.* 2008; 19 (2): 69-80.
18. Burroughs AK, Cholongitas E. Non-invasive tests for liver fibrosis: Encouraging or discouraging results?. *Journal of Hepatology.* 2007; 46 (5): 751–5
19. Hudson BG, Tryggvason K, Sundaramoorthy M, Neilson EG. Mechanisms of disease Alport's Syndrome, Goodpasture's Syndrome and Type IV Collagen. *N Engl J Med.* 2003; 348 (25): 2543-56.

20. Hudson BG, Reederl St, Tryggvasonll K. Type IV Collagen: Structure, Gene Organization, and Role in Human Diseases. Molecular Basis of Goodpasture and Alport Syndromes and Diffuse Leiomyomatosis. *Journal of Biological Chemistry*. 1993; 268 (35): 33-6.
21. Hirayama C, Suzuki H, Takada A, Fujisawa K, Tanikawa K, Igarashi S. Serum type IV collagen in various liver disease in comparison with serum 7S collagen laminin and type III procollagen peptide. *J Gastroenterol*. 1996; 31 (2): 242-8.
22. Hayasaka A, Schupun D, Ohnishi K, Okuda K, Hahn EG. Serum concentration of the carboxyterminal cross-linking domain of procollagen type IV (NC1) and the aminoterminal propeptide of procollagen type III (PIIIP) in chronic liver disease. *J Hepatol*. 1990; 10 (1): 17-22.
23. Fleming RE, Ponka P. Mechanisme of disease: Iron overload in human disease. *N Engl J Med*. 2012; 366 (4): 348-59.
24. ALT-L. In Roche, editor. *Manheim*. Indianapolis: Roche Diagnostic, 2011; 1-3.
25. AST-L. In Roche, editor. *Manheim*. Indianapolis: Roche Diagnostic, 2011; 1-3.
26. Manual user Collagen IV ELISA Kit dari USCN Life Science Inc.
27. Li CK, Lam CWK, To KF, Yu SCH, Lee V, Shing MMK, Cheung AYK, Yuen PMP. Liver disease in transfusion dependent thalassemia major. *Arch Dis Chil*. 2002; 86 (5): 344-7.
28. Friedman SL. Fibrosis in Chronic Liver Disease: diagnosis and management. *Journal of Hepatology*. 2005; 42 (S1): 22-36.
29. Pradat P, Alberti A, Poynard T, Esteban JI, Weilan O, Marcellin P et al. Predictive value of ALT levels for histologic findings in chronic hepatitis C: a European Collaborative Study. *Hepatology*. 2002; 36 (4 Pt 1): 973-7.
30. Puoti C, Magrini A, Stati I, Rigato P, Montagnese P, Rossi P, et al. Clinical, histological, and virological features of hepatitis C virus carriers with persistently normal or abnormal alanine trasnaminase level. *Hepatology*. 1997; 26 (6): 1393-8.
31. Dufour DR, Lott JA, Henry JB. Chapter 15: Clinical Enzymology. In: Henry JB, editor. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 20th Ed., Philadelphia, W.B Saunders Company, 2001; 296-311.
32. Alvina. Type IV collagen as marker of fibrosis in nonalcoholic liver disease. *Univ Med*. 2010; 29 (2):114-24.
33. Farrel GC. New hepatitis C guidelines for the Asia-Pacific region: APASL consensus statements on the diagnosis, management and treatment of hepatitis C virus infection. Editorial. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007; 22 (5): 615-33.
34. Giannini E, Risso D, Botta F, Chiarbonello B, Fasoli A, Malfatti F, et al. Validity and clinical utility of the aspartate aminotransferase-alanine aminotransferase ratio in assessing disease severity and prognosis in patient with hepatitis C virus-related chronic liver disease. *Arch Intern Med*. 2003; 163 (2): 218-24.
35. Castera L. Non-invasive assessment of liver fibrosis in chronic hepatitis C. Review article. *Hepatol Int*. 2011; 5 (2): 625-34
36. Guang-Xu G, Luo CY, Wu SM, Wang CL. The relationship between staging of hepatic fibrosis and the levels of serum biochemistry. *Hepatobiliary and Pancreatic Diseases International*. 2002; 1 (2): 246-8.
37. Xian Li Z, Yun He, Ji Wu, Mei Liang D, Lin Zhang B, Yang H, et al. Noninvasive evaluation of hepatic fibrosis in children with infant hepatitis syndrome. *World J Gastroenterol*. 2006; 12 (44): 7155-60.
38. George K, Ramm GA. Elevated serum type IV collagen: a sensitive indicator of the presence of cirrhosis in haemochromatosis. *Journal of Hepatology*. 1999; 31 (1): 47-52.
39. Murawaki Y, Koda M, Okamoto K, Mimura K, Kawasaki H. Diagnostic value of serum type IV collagen test in comparison with platelet count for predicting the fibrotic stage in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol*. 2001; 16 (7): 777-81.
40. Anwar M, Nadeem A, Jamal S, Dilawar M, Ali W, Aziz S, et al. Effect of HCV infection on hepatic fibrosis in patients of thalassaemia major. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2006; 16 (3): 200-3.
41. Sikorska K, Romanowski T, Bielawski KP. Pathogenesis and clinical consequences of iron overload in chronic hepatitis C: Impact of host and viral factors related to iron metabolism. Review. *J BioTechnologia*. 2011; 92 (1): 54-65.