

BAB II

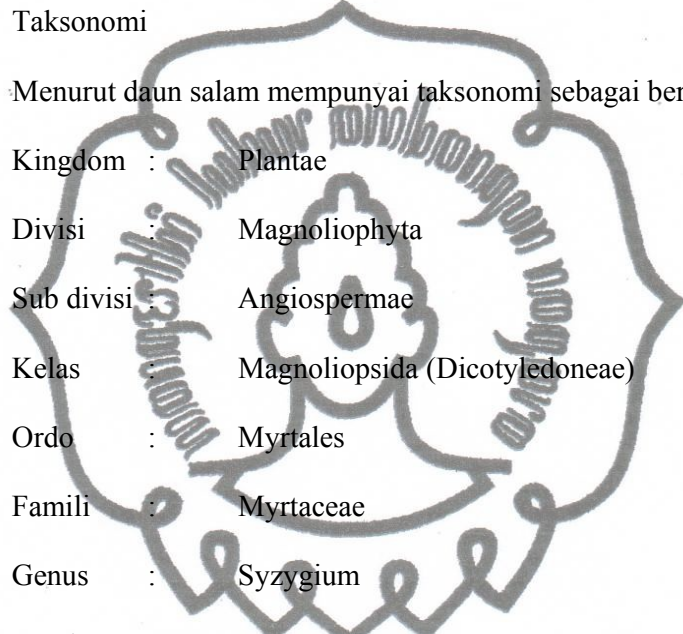
LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Salam (*Syzygium polyanthum*)

Taksonomi

Menurut daun salam mempunyai taksonomi sebagai berikut:



Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Magnoliopsida (Dicotyledoneae)
Ordo : Myrtales
Famili : Myrtaceae
Genus : Syzygium
Spesies : *Syzygium polyanthum*
Authority : (Wight) Walp.
Sinonim : *Eugenia polyantha* Wight, *Eugenia lucidula* miq
Tjitrosoepomo (2002)

2. Kandungan zat

Kandungan kimia di antaranya berupa atsiri (0.05%), flavonoid, asam sitrat dan eugenol (Dalimartha, 2005). Selain itu, daun salam juga mengandung selenium, vitamin A, vitamin C, dan vitamin E yang berfungsi sebagai antioksidan (Nugraha, 2011).

commit to user

a. Parasetamol

Parasetamol atau asetaminofen (*N-acetyl-p-aminophenol/APAP*) merupakan metabolit fenasetin dengan efek antipiretik yang telah digunakan sejak tahun 1893. Efek antipiretik parasetamol ditimbulkan oleh gugus aminobenzen (Wilmana dan Gunawan, 2008).

1) Farmakodinamik

Parasetamol menghambat siklooksigenase sehingga konversi asam arakhidonat menjadi prostaglandin terganggu (Wilmana dan Gunawan, 2008) Efek analgesik parasetamol serupa dengan salisilat yaitu menghilangkan atau mengurangi nyeri ringan sampai sedang. Mekanisme analgesik belum sepenuhnya diketahui. Parasetamol menghambat siklookigenase pusat lebih baik daripada di perifer, sehingga efek analgesiknya rendah, tetapi efek antipiretiknya lebih kuat (McEvoy, 2007).

Parasetamol berperan sebagai antipiretik dengan bekerja pada pusat pengatur suhu di hypothalamus sehingga menyebabkan vasodilatasi perifer sehingga meningkatkan aliran darah ke kulit, berkeringat dan kehilangan panas. Kerja parasetamol ini berkaitan dengan penghambatan sintesis prostaglandin di hypothalamus (Thomson, 2007). Acetaminophen menurunkan suhu tubuh pada pasien dengan demam tetapi jarang menurunkan suhu tubuh sampai di bawah normal (McEvoy, 2007)

Efek anti-inflamasi parasetamol sangat lemah, oleh karena itu parasetamol tidak digunakan sebagai antireumatik. Efek iritasi, erosi dan perdarahan lambung tidak terlihat pada parasetamol, demikian juga gangguan pernapasan dan keseimbangan asam basa (Wilmana dan Gunawan, 2008).

2) Farmakokinetik

Pada manusia parasetamol secara cepat diabsorpsi dari traktus gastrointestinal dengan konsentrasi puncak di plasma terjadi 10 sampai 60 menit setelah pemberian per oral. Volume distribusi parasetamol 0,8-1 l/Kg. Dalam plasma, 25% parasetamol terikat protein plasma. Pada dosis terapeutik waktu paruh eliminasi parasetamol bervariasi dari 1 sampai 3 jam, tetapi dapat lebih dari 12 jam pada *overdosis*. Obat ini dimetabolisme oleh enzim mikrosome hepar dan diekskresikan di urin, sebagian besar dalam bentuk konjugat glukoronid dan sulfat, sedangkan kurang dari 5 % diekskresikan tetap dalam bentuk parasetamol. Tiga jalur metabolisme parasetamol yang diketahui adalah sebagai berikut: glukoronidasi, sulfasi dan N-hidroksilasi yang kemudian dikonjugasi *Glutation Sulfahydryl* (GSH) (Olson, 2007; Wilmana dan Gunawan, 2008).

3) Indikasi

Di Indonesia penggunaan parasetamol biasa diberikan sebagai analgetik pada sakit kepala dan sakit gigi, selain itu bisa digunakan sebagai antipiretik. Parasetamol sebaiknya tidak diberikan terlalu lama karena kemungkinan menimbulkan nefropati analgesik. Karena hampir tidak mengiritasi lambung, parasetamol sering dikombinasi dengan AINS untuk efek analgesik (Wilmana dan Gunawan, 2008)

4) Efek samping

Penggunaan yang berlebihan dapat menyebabkan toksisitas akut. Akibat dari toksisitas akut adalah nekrosis hepar. Hepatotoksitas dapat terjadi pada pemberian dosis tunggal 10-15 gram (200 - 250 mg/kg BB) parasetamol. Masa paruh parasetamol lebih dari 4 jam merupakan petunjuk akan terjadinya nekrosis hepar dan masa paruh lebih dari 12 jam meramalkan akan terjadinya koma hepatik. Keracunan akut ini biasanya diobati secara simptomatik dan suportif yaitu dengan memperbaiki cadangan *glutathione* hepar. N-asetilsistein cukup efektif bila diberikan per oral 24 jam setelah minum dosis toksik parasetamol (Wilmana dan Gunawan, 2008).

b. Struktur Mikroskopis Hepar

Secara makroskopis, hepar terbagi atas beberapa lobus dan tiap lobus hepar terbagi menjadi struktur yang dinamakan lobulus, yang merupakan unit mikroskopis dan fungsional organ (Paulsen, 2002).

1) Lobulus Hepar

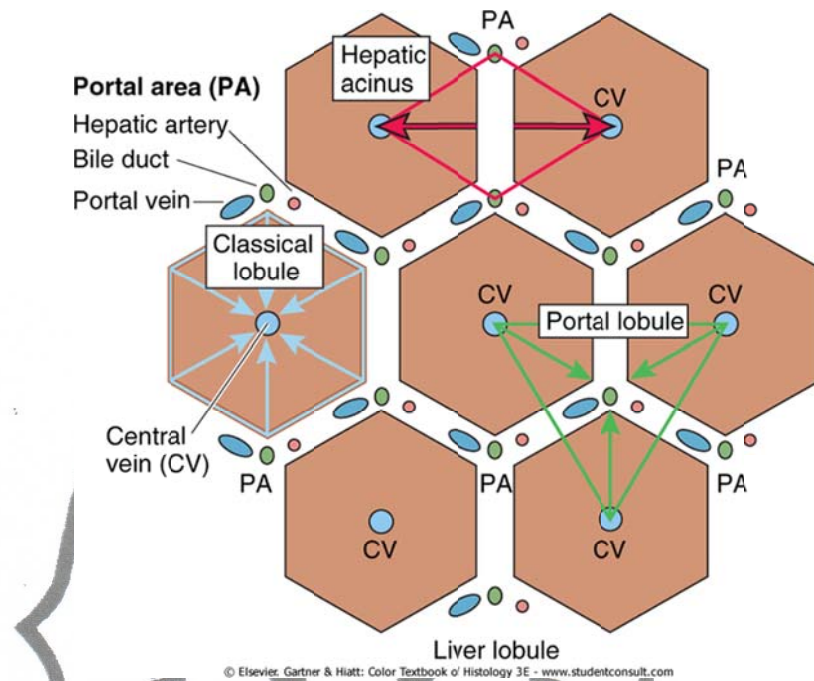
Terdapat tiga konsep yang menggambarkan lobulus hepar sebagai unit fungsional, yaitu lobulus klasik, lobulus portal dan asinus hepar (Gartner dan Hiatt, 2007). Lobulus hepar klasik pertama kali didefinisikan karena pada mikroskop tampak sel-sel epitel yang saling berhubungan sedemikian rupa dan dipisahkan oleh sinusoid sehingga membentuk suatu kompleks labirin dan struktur seperti busa. Pada konsep ini, darah mengalir dari perifer menuju ke tengah dari lobulus menuju ke vena central (Gartner dan Hiatt, 2007 ; Junqueira dan Carneiro, 2005).

Lobulus porta didefinisikan sebagai suatu daerah segitiga dimana celah porta sebagai pusatnya dan bagian tepinya merupakan garis lurus imajiner yang menghubungkan tiga vena centralis yang terdekat dengan celah porta. Konsep ini sesuai dengan fungsi eksokrin hepar yang mengalirkan sekret ke bagian tengah dari asinus (Gartner dan Hiatt, 2007).

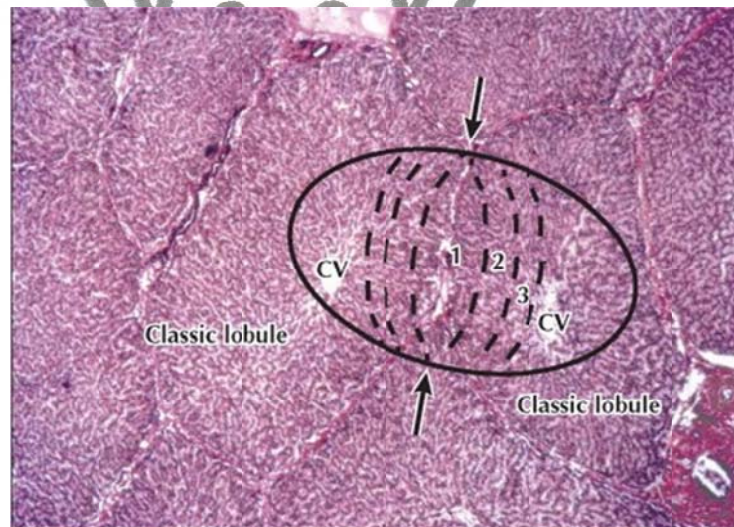
Konsep ketiga adalah asinus hepar. Konsep ini dibuat berdasarkan atas aliran darah arteri dan vena penyalur yang berasal dari vena porta. Asinus hepar digambarkan sebagai daerah belah

ketupat beraksis ganda, yaitu aksis panjang dan aksis pendek. Aksis panjang asinus hepar berupa garis imajiner antara dua vena sentralis. Axis pendek merupakan jarak antara dua triad portal yang terbentang sepanjang perbatasan antara dua lobulus klasik. Berdasarkan letaknya terhadap arteri dan vena penyalur, asinus hepar dibagi menjadi tiga zona, yaitu :

- a) Zona I : zona aktif, zona ini letaknya paling dekat dengan pembuluh darah sehingga disebut juga zona periportal, dimana darah dari arteriol dan vena porta masuk ke hepar. Zona ini sama dengan bagian perifer dari lobulus klasik (Gartner dan Hiatt, 2007)
- b) Zona II : zona intermedia, memberi respon kedua pada aliran darah yang masuk. Terletak di antara zona 1 dan zona 3 (Gartner dan Hiatt, 2007)
- c) Zona III : Zona ini terletak dekat vena sentralis. Sedikit oksigenisasi, sehingga zona ini yang pertama terlihat nekrosis bila terjadi iskemia dan juga di zona ini tempat obat dimetabolisme paling banyak (Ovalle, 2008). Zona ini sama dengan bagian tengah pada konsep lobulus klasik



Gambar 2.1 Diagram Skematik Lobulus Hepar (Gartner dan Hiatt, 2007)



Gambar 2.2 Mikroskopis Asinus Hepar dan Pembagian Zona (Ovalle, 2008)

2) Parenkim hepar

Parenkim hepar terdiri atas sel-sel hepar (hepatosit). Hepatosit tersusun berderet secara radier, bermula dari tepian lobulus menuju ke vena ventralis sebagai pusatnya. Hepatosit berbentuk poligonal dengan 6 atau lebih permukaan, berukuran sekitar 20-35 μm , dengan membran sel yang jelas. Lempeng-lempeng hepatosit bertumpukan membentuk lapisan sel yang tebalnya satu lapis menurut cara yang sama seperti dinding tembok. Lempeng-lempeng tersebut beranastomosis dengan bebas, membentuk suatu kompleks labirin dan struktur yang menyerupai busa. Di antara lempeng-lempeng tersebut terdapat sinusoid (Leeson et al., 1996). Permukaan tiap hepatosit dengan dinding sinusoid dihubungkan melalui celah *Disse*, dengan sel hepatosit lainnya (Ovalle, 2008).

3) Sinusoid Hepar

Celah antara lempeng-lempeng hepatosit disebut sinusoid hepar. Sinusoid sendiri merupakan pembuluh yang melebar tidak teratur dan hanya terdiri atas satu lapis sel-sel endotel yang tidak kontinyu. Sel endotel diskontinyu yang melapisi kapiler sinusoid memungkinkan pengaliran molekul dari lumen sinusoid ke hepatosit dan sebaliknya. Celah subendotel yang disebut celah *Disse* memisahkan sel-sel endotel dari hepatosit, celah ini memungkinkan plasma mengalir di antara permukaan hepatosit dan sinusoid hepar, sehingga pertukaran

zat terlarut antara darah dan parenkim dapat terjadi dengan cepat, selain itu pada fetus celah ini dapat berperan sebagai tempat hematopoiesis (Gartner dan Hiatt, 2007; Ovalle, 2008).

Sinusoid ini dikelilingi oleh selubung serabut retikuler untuk mempertahankan bentuknya. Selain itu, sinusoid juga mengandung makrofag yang dikenal sebagai sel Kupffer pada permukaan luminal dari sel-sel endotelnya. Fungsi dari sel Kupffer ini adalah untuk memetabolisme eritrosit tua, mencerna hemoglobin, menyekresi protein yang berkaitan dengan proses imunologi. Hepar tersusun dari sekitar 15% sel Kupffer (Mescher, 2010).

c. Organella sel hepar

1) Membran sel

Setiap sel dibatasi oleh suatu membran semipermeabel yang disebut membran sel; di dalamnya terdapat getah sel atau protoplasma. Membran sel terdiri atas dua lapisan fosfolipid dan molekul protein.

2) Mitokondria

Mitokondria berbentuk butiran atau benang dengan diameter 0,5 μm dan panjang 0,5 – 1,0 μm . Membrannya terdiri atas dua lapis, lapisan membran luar dan lapisan membran dalam. Membran luar bersifat utuh dan rata, sedangkan lapisan membran dalam berbentuk lipatan-lipatan

yang disebut dengan *cristae*, sedangkan membran luar bersifat utuh dan rata. Ruang antar membran yang terletak di antara membran luar dan membran dalam merupakan tempat berlangsungnya reaksi-reaksi yang penting bagi sel, seperti siklus Krebs, reaksi oksidasi asam amino, dan reaksi β -oksidasi asam lemak. Di dalam matriks mitokondria juga terdapat materi genetik, yang dikenal dengan DNA mitokondria (mtDNA), ribosom, ATP, ADP, fosfat inorganik serta ion-ion seperti magnesium, kalsium dan kalium.

3) Retikulum Endoplasma

Retikulum endoplasma merupakan gelembung bermembran yang terdapat dalam sitoplasma. Ribosom melekat pada permukaan luar retikulum endoplasma kasar, sedangkan yang tidak dilekati oleh ribosom disebut retikulum endoplasma halus.

4) Lisosom

Lisosom adalah organel sel berupa kantong berukuran 0,2 - 0,8 mikron yang berisi enzim hidrolitik. Lisosom menangkap dan melarutkan debris dan komponen sel yang sudah tua. Selain itu, organella ini juga menangkap bakteri, organella, dan benda asing lainnya.

5) Nukleus

Nukleus merupakan badan bermembran berbentuk bulat atau lonjong dengan diameter berukuran 4-10 mikron. Di dalam nukleus terdapat jalinan kromatin, satu atau lebih nukleolus, dan sejumlah vesikel intranuklir. Jalinan kromatin tersebar merata dalam nukleoplasma, terdiri atas benang-benang memanjang atau kromosom. Dengan adanya asam DNA, inti menarik zat warna basa sehingga dengan hematoksin terpulsa biru tua atau ungu.

d. Radikal Bebas dan Stres Oksidatif

Radikal bebas merupakan molekul atau atom yang tidak stabil karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan (Gitawati, 1995). Radikal bebas yang terbentuk dalam tubuh akan menghasilkan radikal bebas baru melalui reaksi berantai yang akhirnya jumlahnya terus bertambah. Berbagai contoh radikal bebas dari *Reactive Oxygen Species* (ROS) adalah radikal superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (*OH), dan non radikal lainnya yang dapat merangsang oksidasi atau terbentuknya senyawa, molekul atau atom yang bersifat radikal di antaranya hipoklorit ($HOCl$), ozon (O_3), dan hidrogen peroksida (H_2O_2), peroksinitrit ($ONOO^-$) sedangkan radikal dari *Reactive Nitrogen Species* (RNS) di antaranya adalah radikal nitrogen oksida (NO^*), nitrogen dioksida (NO_2^*), dan radikal nitrogen oksida lainnya, karena elektron radikal bebas tidak

berpasangan maka mempunyai kecenderungan menarik elektron dari molekul lain dan dapat menyebabkan kerusakan atau kematian sel (Birben et al., 2011)

Stres oksidatif adalah keadaan di mana jumlah radikal bebas dalam tubuh melebihi status antioksidan total dalam tubuh untuk menetralsirnya. Efek stres oksidatif yang ringan dapat dengan mudah diatasi oleh sel. Stres oksidatif yang lebih berat dapat menyebabkan kematian sel. Hal ini dikarenakan stres oksidatif dapat menyebabkan terjadinya pembentukan lipid peroksidasi pada membran sel yang terdiri dari fosfolipid lapisan ganda. Produk lipid peroksidase ini dapat dideteksi dengan menghitung kadar MDA dalam serum. (Birben et al., 2011).

e. Antioksidan

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralsir radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas (Gitawati, 1995). Antioksidan dapat digolongkan menjadi antioksidan enzimatis dan antioksidan non-enzimatis. Antioksidan enzimatis ialah enzim-enzim seperti Super Oksida Dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase. Sedangkan antioksidan non enzimatis ialah vitamin A, vitamin C, vitamin E, dan flavonoid (Birben et al., 2011).

Tabel 2.1 Reaksi Antioksidan Enzimatik (Birben et al., 2011)

Enzim Antioksidan	Akronim	Reaksi Enzimatik
Superoksida Dismutase	SOD	$O_2^- + 2H^+ \rightarrow 2H_2O_2$
Katalase	CAT	$2H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2H_2O$
Glutathione Peroksidase	GPX	a) $2GSH + ROOH \rightarrow GSSG + ROH + H_2O$ b) $2GSH + 2H_2O_2 \rightarrow GSSG + 2H_2O$

f. Mekanisme Kerusakan Sel Hepar Akibat Parasetamol Dosis Toksik

Metabolisme parasetamol dilakukan di hepar, 90% melalui proses konjugasi -dua pertiganya melalui glukoronidasi (oleh enzim *UDP-glucuronosyltransferase*) dan sepertiga melalui sulfasi (oleh enzim *sulfotransferase*)-membentuk konjugat glukoronat dan sulfat yang kemudian diekskresikan dalam urin dan empedu. Hanya dua persen fraksi parasetamol diekskresikan dalam bentuk asalnya melalui urin, sedangkan 5-9 % sisanya dimetabolisme melalui sistem sitokrom P450, terutama CYP2E1, membentuk metabolit reaktif *N-acetyl-p-Benzoquinone imine* (NAPQI). Pada dosis terapi parasetamol, pembentukan NAPQI akan dengan cepat dikonjugasi dengan *Glutathione* (GSH) di dalam hepatosit

dan diekskresikan dalam urin sebagai asam merkapturat (DiPiro et al., 2008 ; James et al., 2003).

Pada dosis toksik parasetamol, kerusakan hepar terjadi akibat radikal bebas. Dosis toksik parasetamol menyebabkan jalur metabolisme sulfat dan glukoronat menjadi jenuh. Proses metabolisme parasetamol bergeser ke arah jalur CYP. Padahal melalui jalur ini akan terbentuk NAPQI kemudian diikuti oleh pengosongan (depleksi) GSH hepatic yang cepat (Lee, 1996). Total *glutathione* (GSH) menurun hingga 90%, akibatnya terjadi reaksi toksik; metabolit parasetamol berikatan kovalen dengan protein, terutama *cystein*. Ikatan kovalen antara metabolit parasetamol dan protein menyebabkan sel kehilangan fungsi dan aktivitasnya bahkan dapat mengakibatkan kematian sel atau lisis (James et al., 2003).

NAPQI mengandung radikal bebas oksigen (O_2^-) yang merupakan oksidan bagi sel (Larson, 2007). Senyawa ini disebut oksidan karena dapat mengoksidasi hampir semua substrat biologik seperti asam lemak tak jenuh, DNA, dan protein dan mencetuskan reaksi berantai sehingga terbentuk oksidan baru (Marks et al., 2000). Pada hepatosit, meningkatnya jumlah oksidan dan menurunnya total antioksidan status mengakibatkan terjadinya stres oksidatif. Keadaan ini dapat merusak membran mitokondria hepatosit karena perubahan potensial membran sehingga akhirnya hepatosit mengalami nekrosis. Selain itu stres oksidatif dapat

memicu terjadinya peroksidasi lipid yang dapat merusak membran sel (McGill, 2012).

g. Mikroskopis Kerusakan Sel Hepar Setelah Pemberian Parasetamol

Bukti morfologis dan biomolekuler menunjukkan kematian sel hepar yang diinduksi parasetamol berupa nekrosis (Jaeschke, 2013). Nekrosis adalah perubahan morfologi sel sebagai akibat tindakan degradasi progresif oleh enzim-enzim pada sel yang terjejas letal (Kumar et al, 2007). Perubahan inti sel adalah petunjuk ter jelas pada kematian sel. Pada sel yang mengalami nekrosis tampak salah satu dari tiga perubahan inti sel, yaitu *pyknosis*, *karyorrhexis*, dan *karyolisis*. *Pyknosis* ditandai dengan sel yang telah mati terdapat inti yang menyusut, batas tidak teratur dan bertambah basofil. *Karyorrhexis* ditandai dengan fragmentasi inti, sedangkan *karyolisis* ditandai dengan kromatin basofil yang menjadi pucat. Pada akhirnya inti pada sel yang nekrosis akan sama sekali menghilang dan sitoplasma berubah menjadi massa asidofil suram bergranula (Kumar et al, 2007). Nekrosis hepatoseluler terjadi di zona 3, karena pada daerah ini konsentrasi CYP2E1 paling banyak ditemukan, dan tempat produksi NAPQI secara maksimal (Larson, 2007).

h. Mekanisme Perlindungan Daun Salam terhadap Hepar Setelah Pemberian Parasetamol Dosis Toksik

Kandungan yang terdapat dalam daun salam yang berperan untuk mencegah kerusakan hepar akibat pemberian parasetamol dosis toksik adalah antioksidan.

Daun salam mempunyai kandungan flavonoid (Setiawan, 2010). Flavonoid adalah salah satu antioksidan non enzimatis yang dimiliki oleh tumbuhan, terutama terakumulasi pada daun dan tanaman (Helmut, 2010). Flavonoid bersifat antioksidan sebagai penangkap radikal bebas (*radical scavenger*) dengan cara transfer elektron atau atom hidrogen yang dimilikinya kepada ROS. Hasil reaksi antara flavonoid-dengan ROS ialah radikal flavonoid yang bersifat stabil (Guzy, 2004). Sehingga diet kaya flavonoid secara rasional mungkin bermanfaat sebagai hepatoprotektor (Helmut, 2010).

Salah satu flavonoid yang terkandung dalam daun salam ialah *quercetin* dan *gallic acid* (Har dan Ismail, 2012; Nugraha, 2012), kedua zat ini juga bersifat antioksidan yang dapat melindungi hepar dari parasetamol (Rasool et al., 2010; Yousef et al, 2010). Penelitian yang dilakukan Singh dkk (2011) membuktikan *quercetin* memiliki kemampuan sebagai hepatoprotektor mencit yang diinduksi parasetamol. Pada penelitian tersebut, mencit yang diberi perlakuan tidak mengalami stres oksidatif seperti pada mencit kontrol, ditandai dengan kadar GSH dan

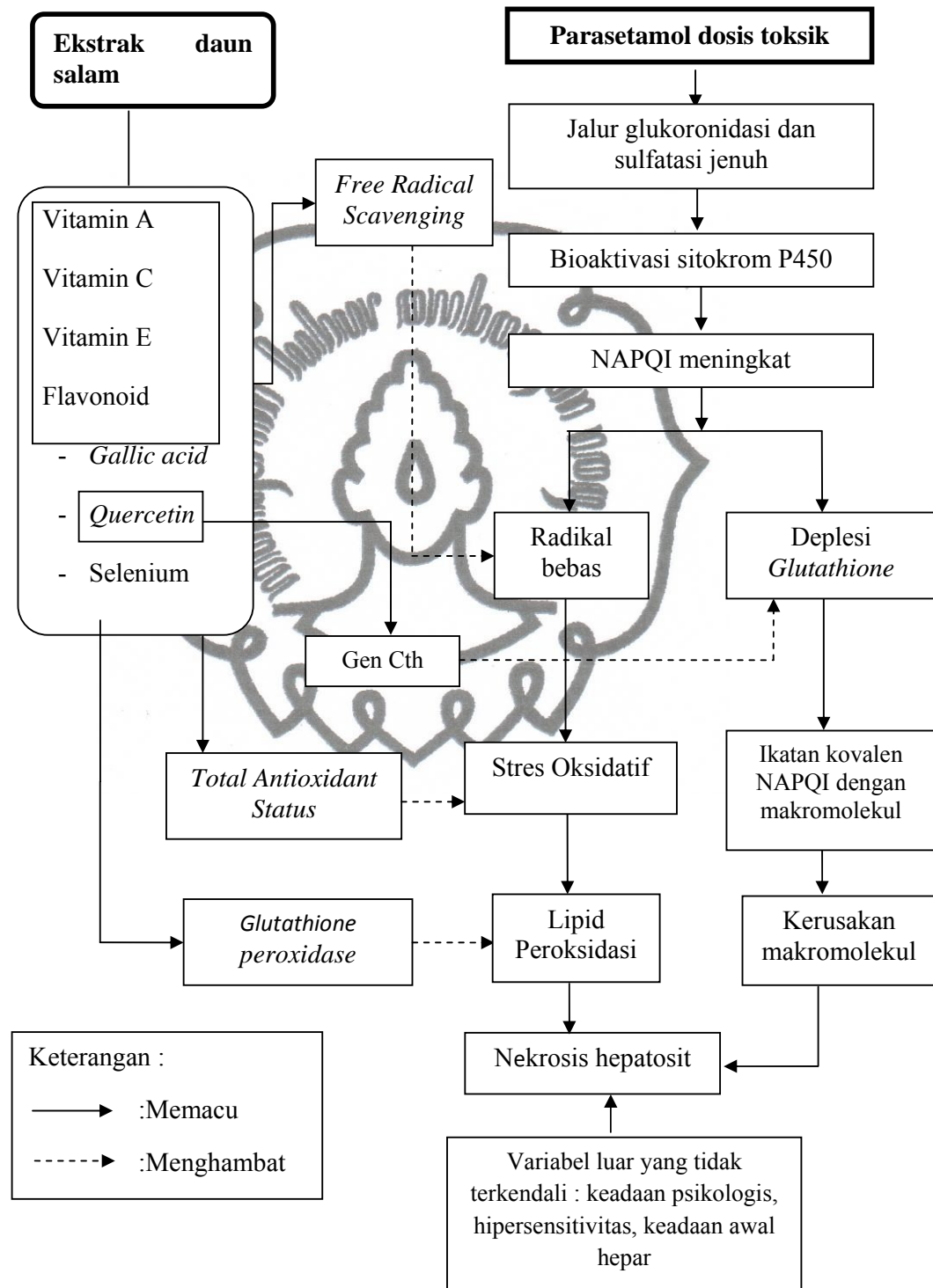
antioksidan enzimatis yang lebih tinggi secara bermakna dibandingkan mencit kontrol. Pemberian zat ini selama dua minggu pada tikus dapat meningkatkan kadar vitamin A dan E secara bermakna, hal ini mungkin karena efek antioksidannya dalam mengikat radikal bebas sehingga tikus yang diberi suplementasi *quercetin* memiliki kadar vitamin A dan E lebih banyak daripada kontrol (Zao, 2011). Selain itu, suplementasi *quercetin* meningkatkan transkripsi gen Cth, gen ini mengkode enzim yang dapat meningkatkan produksi *cysteine*, bahan dasar dari *glutathione* (GSH) (Zao, 2011). *Gallic acid* telah terbukti dapat mengurangi secara bermakna kadar AST dan ALT mencit yang diinduksi parasetamol dan mengurangi penurunan *glutathione* akibat NAPQI (Rasool, 2010).

Vitamin C pada daun salam berperan sebagai antioksidan dan meningkatkan sistem imunitas tubuh terhadap senyawa oksigen reaktif dalam plasma dan sel. Vitamin C menjadi donor elektron dengan cara memindahkan satu elektron ke senyawa logam Cu sehingga dapat menstabilkan senyawa oksigen reaktif (Winarsi, 2007).

Vitamin A dan E berperan menghambat peroksidasi lipid oleh radikal bebas yang dibentuk dari persenyawaan NAPQI melalui mekanisme penangkapan radikal bebas (Almatsjer, 2004).

Selenium (Se) berperan dalam aktivasi *Glutathione Peroxidase* (GSH-Px) yang penting dalam pencegahan kerusakan sel hepar akibat adanya stres oksidatif (Singh et al., 2011).

B. Kerangka Pemikiran



commit to user

Gambar 2.3 Skema Kerangka Pemikiran

C. Hipotesis

1. Pemberian ekstrak daun Salam dapat mengurangi kerusakan gambaran histologi sel hepar mencit yang diinduksi parasetamol.
2. Pemberian dosis ekstrak daun Salam yang berbeda dapat memberikan efek yang berbeda terhadap kerusakan struktur histologis sel hepar mencit yang diinduksi parasetamol.

