

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

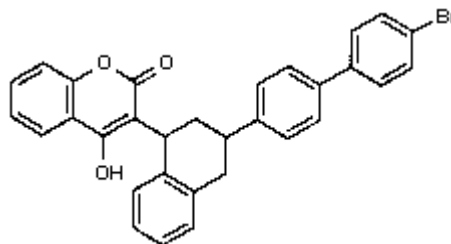
#### 2.1 Brodifacoum

Brodifakum adalah senyawa yang memiliki nama kimiawi 4-hydroxycoumarin dan memiliki rumus kimiawi  $C_{31}H_{23}BrO_3$  yang memiliki efek kerja seperti pendahulunya, yaitu dicumarol dan warfarin. Akan tetapi, karena potensinya yang sangat tinggi dan durasi efek yang lebih lama (eliminasi 20-130 hari) dia digolongkan menjadi "generasi kedua" atau "superwarfarin" antikoagulan.<sup>1</sup>

Brodifakum adalah salah satu rodentisida yang paling banyak digunakan diseluruh dunia. Brodifakum sudah mulai digunakan di New Zealand sejak tahun 1990.<sup>1</sup>

Brodifakum memiliki berat molekul 523,4. Brodifakum berwarna sedikit putih hingga coklat kekuningan dan tidak berbau dan pada umumnya berbentuk bubuk dengan titik lebur 228-232°C.<sup>5</sup>

Brodifakum adalah senyawa sintetis yang ditemukan beberapa dekade yang lalu. Brodifakum adalah senyawa derivat dari koumarin yang dapat menyebabkan sindrom pendarahan. Brodifakum adalah antikoagulan yang sangat baik untuk tikus dan mencit, termasuk tikus dan mencit yang telah resisten terhadap warfarin dan koagulan yang lain.<sup>6</sup>



Gambar 1. Brodifakum

### 2.1.1 Coumarin

Coumarin atau 1,2-benzopyrone merupakan suatu kelas yang penting dan besar yang dibentuk oleh oxygen heterocycles dan sering ditemukan pada tanaman. Banyak coumarin yang teroksidasi pada posisi C-7, yang membuatnya menjadi 7-hydroxycoumarin, atau lebih sering dikenal dengan nama umbelliferone, yang sering dianggap sebagai prekursor biogenetik dari coumarin yang lebih kompleks. Investigasi mengenai senyawa coumarin telah menunjukkan spektrum yang luas dari ekstrak tumbuhan obat yang digunakan sejak dahulu. Sampai sekarang setidaknya sudah terdapat sekitar 1300 senyawa yang berhasil diidentifikasi.<sup>7</sup> Penelitian struktur kimiawi dari senyawa coumarin menunjukkan bahwa dalam beberapa coumarin substitusi senyawa dapat terjadi di banyak tempat. Terdapat banyak kemungkinan permutasi yang ditawarkan dengan menggunakan substitusi dan konjugasi.<sup>8</sup>

Karena efek farmakologi yang bermacam-macam, coumarin telah menarik peningkatan minat penelitian dalam beberapa tahun terakhir. Akan tetapi penjelasan tentang hubungan struktur dan aktivitas coumarin tetaplah belum jelas.<sup>8</sup>

Coumarin memiliki tingkat toksisitas sedang (moderate) pada hepar dan ginjal, yaitu LD<sub>50</sub> 275mg/kg, tingkat toksisitas yang rendah dibandingkan dengan senyawa yang memiliki hubungan dengan coumarin lainnya. Meskipun coumarin sedikit berbahaya bagi manusia, coumarin bersifat hepatotoksik pada tikus namun tidak pada mencit. Hewan jenis rodentia pada umumnya memetabolisme coumarin menjadi 3,4-coumarin epoxide, senyawa yang beracun dan tidak stabil yang pada metabolisme lebih lanjut dapat menyebabkan kanker hepar pada tikus dan tumor traktus respiratorius pada mencit.<sup>9</sup> Manusia pada umumnya memetabolisasi coumarin menjadi 7-hydroxycoumarin, senyawa dengan tingkat toksisitas yang lebih

rendah. The German Federal Institute for Risk Assessment telah mengeluarkan jumlah konsumsi harian yang boleh dikonsumsi, yaitu 0,1 mg/kgBB, namun untuk konsumsi yang agak tinggi dalam waktu singkat tidaklah terlalu berbahaya.<sup>10</sup> Occupational Safety and Health Administration dari Amerika Serikat tidak mengklasifikasikan coumarin sebagai zat karsinogen terhadap manusia.<sup>11</sup>

Meskipun sebenarnya coumarin tidak memiliki efek antikoagulan, coumarin dapat berubah menjadi natural antikoagulan dicoumarol oleh spesies beberapa fungi. Ini terjadi karena produksi dari 4-hydroxycoumarin, yang kemudian karena pada kehadiran formaldehid berubah menjadi antikoagulan yang sebenarnya yaitu dicoumarol. Dicoumarol pernah bertanggung jawab terhadap kasus perdarahan yang dikenal dengan nama "*Sweet clover disease*".<sup>12</sup>

Berikut adalah beberapa contoh senyawa derivat dari coumarin :

- Brodifakum<sup>13</sup>
- Bromadiolon<sup>14</sup>
- Coumafury<sup>15</sup>
- Difenacoum<sup>16</sup>
- Warfarin<sup>17</sup>

### **2.1.2 Cara Kerja Brodifakum**

Brodifakum, seperti racun antikoagulan lainnya, bekerja dengan mengganggu sintesis normal faktor pembekuan vitamin K-dependent pada hepar hewan vertebrata. Pada sel hepar vitamin K 1-2,3 epoxide yang secara biologis tidak aktif direduksi oleh enzim mikrosomal menjadi bentuk aktif vitamin K, yang sangat penting pada sintesis prothrombin dan faktor pembekuan lainnya. Brodifakum menjadi antagonis enzim vitamin K1-epoxide reductase pada hepar dan menyebabkan penurunan secara bertahap dari bentuk aktif vitamin K, dan pada akhirnya faktor pembekuan vitamin K-

dependent, yang menyebabkan peningkatan waktu untuk pembekuan darah sampai pada titik dimana tidak terjadi pembekuan darah sama sekali.<sup>18</sup>

Selain itu, Brodifakum (sama seperti antikoagulan yang lain dalam dosis toksik) meningkatkan permeabilitas pembuluh darah, sehingga plasma darah dan darah mulai keluar dari pembuluh darah kecil. Hewan yang keracunan akan mengalami perdarahan internal yang semakin lama semakin parah dan dapat mengakibatkan syok, kehilangan kesadaran dan pada akhirnya kematian.<sup>18</sup>

Periode laten brodifakum mulai dari waktu pemberian hingga ditemukannya tanda-tanda klinis yang bermacam-macam. Pada tikus umumnya kematian terjadi dalam waktu 1 minggu setelah pemberian brodifakum. Kematian dapat juga terjadi secara tiba-tiba tergantung dimana perdarahan tersebut terjadi, terutama apabila perdarahan terjadi pada bagian otak maupun pada bagian jantung.<sup>18</sup>

### **2.1.3 Toksikokinetik**

Brodifakum diserap dengan sangat baik melalui traktus gastrointestinal dengan tingkat maksimal konsentrasi pada plasma darah terjadi dalam waktu 12 jam setelah pemberian. Pada manusia, tingkat brodifakum pada serum dapat dideteksi hingga 7 bulan setelah pemberian. Lima hari setelah pemberian, konsentrasi brodifakum pada plasma darah adalah sebesar 1309 ng/ml yang selanjutnya mulai menurun sampai hari ke 209 yang dimana pada hari itu brodifakum mulai tidak dapat dideteksi. Brodifakum pada umumnya ditemukan sebagai komponen yang tidak berubah.<sup>19</sup>

Metabolisme dan eliminasi dari trans-isomer lebih cepat dibandingkan dengan cis-isomer. Eliminasi bersifat bifasik dengan fase pertama yang cepat selama tiga hari dan fase lambat selama 120 hingga 130 hari. Rute utama eliminasi setelah pemberian dengan cara oral adalah melalui feses. Urin adalah rute minor eliminasi.<sup>20</sup>

#### **2.1.4 Toksikodinamik**

Mekanisme aksi dari semua antikoagulan rodentisida biasanya sangat mirip dengan warfarin, yaitu inhibisi spesifik dari vitamin K1 epoxide reductase. Pada koagulasi model cascade, beberapa faktor pembekuan harus mengikat ion kalsium untuk aktif. Kemampuan pengikatan  $Ca^{2+}$  dari faktor pembekuan tersebut membutuhkan karboksilasi dari residu glutamil mereka. Langkah karboksilasi tersebut menggunakan vitamin K1 hydroquinon sebagai kofaktor. Reaksi karboksilase mengubah vitamin K1 hydroquinon menjadi bentuk epoxidiknya. Pada siklus fisiologis normal, epoxide tersebut di reduksi menjadi bentuk asli vitamin K1 oleh vitamin K1 epoxide reductase. Rodentisida superwarfarin menghasilkan efek mereka dengan menginterferensi vitamin K1 epoxide reductase dan dengan cara tidak langsung menggagalkan sintesis dari pro-koagulan faktor II, VII, IX dan X.<sup>21</sup>

#### **2.1.5 Toksisitas**

Brodifakum sangatlah beracun untuk mamalia dan burung. Beberapa mamalia dan burung non-target telah terkontaminasi oleh brodifakum, baik secara langsung yaitu mengkonsumsi umpan, maupun secara tidak langsung melalui peracunan sekunder. Data tentang toksisitas brodifakum diperoleh pada hewan laboratorium dengan menggunakan rute pemberian yang berbeda. Vitamin K1 epoxide reductase adalah enzim polymorphic, yang menjelaskan perbedaan pada tingkat sensitivitas terhadap racun model warfarin.<sup>22</sup>

#### **2.1.6 Kinetik dan Metabolisme Pada Hewan Laboratorium dan Manusia**

Brodifakum diserap melalui traktus gastrointestinal, kulit dan traktus respiratorius. Rute eliminasi mayor pada beberapa spesies adalah melalui feses setelah pemberian secara oral. Hepar adalah tempat utama brodifakum terakumulasi dan penyimpanan. Brodifakum sebagian besar

ditemukan sebagai komponen yang tidak berubah. Setelah pemberian secara oral.<sup>13</sup>

### **2.1.7 Efek klinis brodifakum**

Tanda klinis biasanya tertunda hingga 24-36 jam setelah tertelan hingga faktor pembekuan yang telah terbentuk habis. Semenjak belum terbentuk protein anti-koagulan memiliki waktu paruh yang lebih pendek daripada faktor pro-koagulan II, VII, IX dan X. Sangatlah mungkin untuk mengamati fase cepat setelah paparan dengan peningkatan mikrothrombin dan mungkin nekrosis jaringan.<sup>22</sup>

Tanda klinis dan gejala dari keracunan akut karena brodifakum pada manusia memiliki tingkatan mulai dari yang ringan yaitu perdarahan pada beberapa kasus yang kurang akut hingga koagulopati akut. Perdarahan ringan sering disamakan dengan pendarahan hidung atau gusi, hemoptysis, ekimosis, feses berdarah atau melena, hematuria, nyeri abdominal, atau hematoma ventral. Perdarahan akut dapat mengakibatkan syok dan kematian. Perdarahan internal dan eksternal adalah manifestasi klinis yang paling sering dari keracunan brodifakum akut, yang kemudian diikuti dengan takikardi, hipotensi dan kegagalan beberapa organ karena kehilangan darah yang mengakibatkan turunnya perfusi dan oksigenasi. Onset dari tanda dan gejala klinis dari keracunan mungkin tidak muncul sampai beberapa hari setelah paparan.<sup>23</sup>

Pelaporan kasus paparan pada manusia yang paling banyak adalah pada anak kecil dengan umur dibawah 6 tahun karena kecelakaan atau konsumsi secara tidak sengaja. Konsumsi secara sengaja dengan tujuan bunuh diri dengan jumlah brodifakum yang tinggi dapat memberikan resiko yang sangat besar karena tingkat toksisitasnya dan pasien tersebut harus segera dibawa ke fasilitas kesehatan terdekat untuk penanganan lebih lanjut.<sup>24</sup>

#### **2.1.7.1 Sistem Saraf Pusat**

Efek brodifakum pada sistem saraf pusat disebabkan oleh efek sekunder brodifakum yaitu perdarahan intraserebral dan dapat menyebabkan stroke sampai kematian.<sup>13</sup>

#### **2.1.7.2 Hepar**

Terjadi koagulopati dalam hepar serta terjadi penghambatan siklus vitamin K yang terjadi dalam hepar yang menghambat siklus vitamin K yaitu pada enzim vitamin K epoxide.<sup>13</sup>

#### **2.1.7.3 Gastro Intestinal**

Terjadi hematemesis dan melena. Dan dapat terjadi perdarahan intra abdominal yang dapat menyebabkan nyeri abdominal serta nyeri punggung.<sup>13</sup>

#### **2.1.7.4 Ginjal**

Hematuria biasanya adalah salah satu tanda klinis yang paling mungkin. Dan terkadang hanya dapat ditemukan dengan pemeriksaan laboratorium. Serta pendarahan traktus urinarius juga dapat terjadi.<sup>13</sup>

#### **2.1.8 Penangan keracunan brodifakum**

Kejadian yang paling banyak terjadi karena keracunan brodifakum adalah perdarahan internal dan luka yang sukar menutup. sehingga penanganan utama adalah meminimalisir terjadinya perdarahan tersebut. Pemberian oral Phytonadione dan FFP terbukti sudah cukup baik dalam menangani beberapa kasus keracunan brodifakum. Untuk pasien dengan perdarahan yang hebat biasanya diberikan secara intravena dengan tetap memonitor kemungkinan syok anafilaktik.<sup>24</sup>

## **2.1.9 Pertolongan pertama paparan brodifakum**

### **2.1.9.1 Terhirup**

Bila aman memasuki area, segera pindahkan dari area pemaparan. Bila perlu, gunakan kantong masker berkatup atau pernafasan penyelamatan. Segera bawa ke rumah sakit atau fasilitas kesehatan terdekat.<sup>25</sup>

### **2.1.9.2 Kontak dengan kulit**

Segera tanggalkan pakaian, perhiasan, dan sepatu yang terkontaminasi. Cuci dengan sabun atau detergen ringan dan air dalam jumlah yang banyak sampai dipastikan tidak ada bahan kimia yang tertinggal (selama 15-20 menit). Bila perlu segera bawa ke rumah sakit atau fasilitas kesehatan terdekat.<sup>25</sup>

### **2.1.9.3 Kontak dengan mata**

Segera cuci mata dengan air yang banyak atau dengan larutan garam normal (NaCl 0,9%), selama 15-20 menit, atau sekurangnya satu liter untuk setiap mata dan dengan sesekali membuka kelopak mata atas dan bawah sampai dipastikan tidak ada lagi bahan kimia yang tertinggal. Segera bawa ke rumah sakit atau fasilitas kesehatan terdekat.<sup>25</sup>

### **2.1.9.4 Tertelan**

Segera hubungi sentra informasi keracunan atau dokter setempat. Jangan sekali-kali merangsang muntah atau memberi mium bagi pasien yang tidak sadar/pingsan. Bila terjadi muntah, jaga agar kepala lebih rendah daripada panggul untuk mencegah terjadinya aspirasi. Bila korban pingsan, miringkan kepala menghadap ke samping. Segera bawa ke rumah sakit atau fasilitas kesehatan terdekat.<sup>25</sup>



### 2.1.10 LD<sub>50</sub> Brodifakum Untuk Beberapa Hewan<sup>13</sup>

**Tabel 2. Daftar LD<sub>50</sub> untuk beberapa hewan**

No	Hewan	LD <sub>50</sub>
1	Tikus (oral)	0.27 mg/kg <sup>16</sup>
2	Mencit (oral)	0.40 mg/kg <sup>16</sup>
3	Kelinci (oral)	0.30 mg/kg <sup>16</sup>
4	Tupai (oral)	0.13 mg/kg <sup>16</sup>
5	Kucing (oral)	0.25 mg/kg - 2.5 mg/kg <sup>17</sup>
6	Anjing (oral)	0.25 mg/kg - 3.6 mg/kg <sup>17</sup>

### 2.1.11 Metabolisme Brodifakum pada Hewan

Brodifakum masuk ke dalam metabolisme tubuh melalui traktus gastrointestinal. Namun brodifakum dapat juga diaplikasikan secara topikal serta inhalasi.<sup>26</sup>

Setelah diabsorpsi, konsentrasi brodifakum yang tinggi mulai terkumpul pada hepar secara cepat dan biasanya tetap konstan sampai beberapa waktu tertentu. Eradikasi brodifakum pada serum darah juga terhitung cukup lama yaitu sekitar 156 jam pada tikus. Pada pemeriksaan brodifakum terkumpul pada hepar, ginjal ataupun pankreas dan tetap stabil sampai beberapa waktu dan membutuhkan waktu yang lama untuk di ekskresi.<sup>26</sup>

## 2.2 Hepar

Hepar merupakan organ viscera abdominis yang terbesar menempati bagian superior cavum abdominis. Berperan pada berbagai fungsi metabolisme, nutrisi dan sistem imunologik. Tersusun atas sel-sel epithelial (hepatosit) dikelilingi darah yang berasal dari vena porta dan arteria hepatica.

Hepatosit juga berhubungan dengan kanalikuli kecil yang membentuk sistema biliaris. Hepar juga berperan dalam mengeluarkan zat toksik atau berpotensi toksik dari darah. Mengatur kadar darah dan lipid, menyimpan vitamin tertentu, besi dan mikronutrien tertentu, memecah dan memodifikasi asam amino. Karena sebagian besar reaksi tersebut diatas bersifat eksotermik, maka produksi energi panas tubuh pada waktu istirahat dihasilkan hepar. Di dalam hepar terdapat makrofag phagocytic yang berfungsi mengeluarkan partikel tertentu dalam dari darah. Pada waktu fetal hepar merupakan tempat hematopoetik.<sup>27</sup>

Hepar menempati kuadran kanan atas abdomen, di regio hypocondrium dextra, epigastrium dan sering sampai hypocondrium sinistra sampai sejauh linea laterales sinistra. Berat hepar dewasa sekitar 2 persen berat badan, berwarna coklat kemerahan pada keadaan segar. Capsula hepatis berperan dalam mempertahankan bentuk dan integritasnya, bila robek integritas penjahitannya jadi minimal (rapuh). Hal ini dikombinasikan dengan vaskularisasinya maka cedera hepar cenderung lethal.<sup>27</sup>

Kedudukan hepar dipertahankan oleh beberapa faktor yaitu tonus otot-otot anterolateral abdomen, ligamentum yang menggantung capsula hepatis dengan diafragma dan dinding anterior abdomen sehingga mencegah rotasi hepar pada tangkai vaskulernya di porta hepatis. Hepar juga terfixasi pada vena cava inferior oleh vena hepatica dan vena caudata, hal ini tampak pada transplatasi orthopic hepar dimana hepar tetap kuadran kanan atas walaupun tanpa struktur ligamen, namun rentan rotasi dan torsi.<sup>27</sup>

Hepar terdiri atas facies diaphragmatica, facies visceralis (inferior) dan margo inferior. Facies diaphragmatica terdiri dari pars superior, pars anterior, pars dextra dan pars posterior yang batas diantara mereka tidak jelas, serta area nuda. Margo anterior antara pars dextra dengan facies visceralis (inferior) tumpul, tetapi antar pars anterior dan facies visceralis tajam. Tepat

di sebelah kanan linea mediana pada margo inferior terdapat takik incisura ligamenti teretis.<sup>27</sup>

### **2.3 High Performance liquid Chromatography**

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) telah ditemukan pada akhir 1960 dan pada awal 1970. Pada masa kini HPLC banyak diaplikasikan untuk pemisahan dan pemurnian pada berbagai macam area termasuk farmasi, bioteknologi, lingkungan, polymer dan industri makanan.<sup>28</sup>

HPLC memiliki sejarah yang panjang sehingga dapat menjadi metode pilihan dalam berbagai macam komponen. Keuntungan utama HPLC dibandingkan dengan Gas Chromatography (GC) adalah analisisnya tidak perlu volatile, sehingga makromolekul sangat cocok untuk analisa HPLC. HPLC dimulai dengan menginjeksi sejumlah kecil cairan sampel kedalam aliran cairan (disebut dengan fase mobile) yang melewati kolom yang dipenuhi oleh partikel pada fase stasioner. Pemisahan campuran menjadi masing-masing komponen didasarkan derajat perbedaan retensi dari tiap-tiap komponen pada kolom. Lama waktu yang dihabiskan oleh sebuah komponen dalam sebuah kolom ditentukan oleh sekat diantara fase cairan mobile dan fase stasioner. Pada HPLC sekat ini terpengaruh oleh interaksi relatif dari cairan pada fase stasioner dan cairan pada fase mobile. Maka, tidak seperti GC, perubahan komposisi pada fase mobile dapat memberikan dampak yang sangat besar terhadap pemisahan. Karena setiap komponen memiliki tingkat mobilitas yang berbeda-beda, komponen keluar dari kolom pada waktu yang berbeda pula. Waktu retensi adalah waktu diantara injeksi dan deteksi. Terdapat banyak detektor yang dapat digunakan pada Liquid Chromatography (LC). Alat ini adalah alat yang membaca keberadaan tiap komponen dengan menggunakan perbedaan antar fase mobile cairan dan merubahnya menjadi sinyal elektrik. Untuk identifikasi secara kualitatif

pemeriksaan dilakukan dengan cara mencocokkan waktu retensi antara komponen yang sudah diketahui dengan waktu retensi yang terdapat pada campuran yang tidak diketahui.<sup>28</sup>

HPLC sebenarnya adalah sebuah alat yang sederhana. Komponen HPLC terdiri dari tempat penyimpanan fase mobile yang sebenarnya hanyalah tabung cairan biasa, sistem pengiriman larutan yang terdiri dari pompa untuk menghasilkan fase mobile yang tepat, dapat diulangi, dan jumlah yang konstan, sebuah sample inlet, kolom, detektor dan alat elektronik dan sebuah alat yang menghubungkan semuanya yaitu komputer. Pompa yang digunakan untuk mengantarkan larutan pada fase mobile pada rasio yang sama biasanya beroperasi pada tekanan antara 500-5000 p.s.i. Tekanan yang tinggi tersebut diperlukan karena fase stasioner dari setiap kolom terdiri dari partikel yang terkumpul dengan sangat padat. Membutuhkan tekanan yang tinggi untuk mendorong fase mobile untuk melewati fase stasioner pada tingkat aliran yang diinginkan.<sup>28</sup>