

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pengaruh dietilnitrosamin terhadap hepar

Nitrosamin adalah nama dari sekumpulan senyawa yang memiliki struktur kimia $N-N=O=N-N=O$. Nitrosamin terbentuk dari reaksi antara nitrat/nitrit dengan amina tertentu. Nitrosamin juga dapat terbentuk di dalam tubuh apabila makanan yang dikonsumsi mengandung prekursor dari nitrosamin. Mekanisme yang terjadi yaitu suasana lambung yang asam akan menyebabkan nitrit/nitrat yang berada di dalam nitrosamin bereaksi dengan amina sehingga terbentuklah nitrosamin. Salah satu senyawa yang termasuk dalam golongan nitrosamin adalah dietilnitrosamin (DEN).

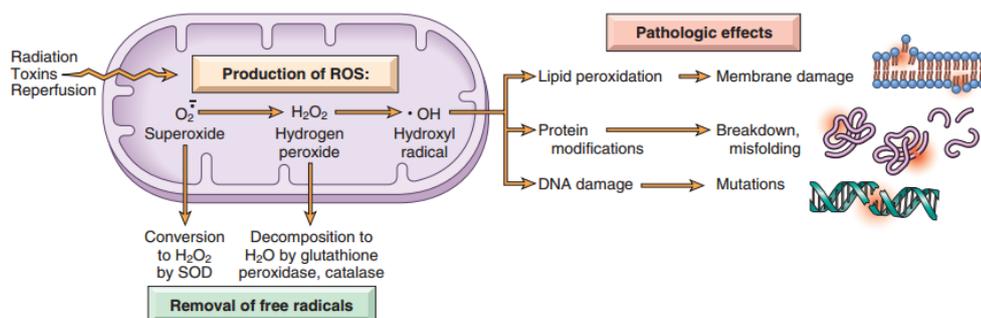
Paparan awal DEN tidak bersifat karsinogen. DEN memerlukan bioaktivasi, dimana salah satu mekanismenya yaitu biotransformasi enzimatik dengan sebuah ion karbonium. Langkah awal yang terjadi yaitu hidroksilasi dari sebuah karbon alfa, dimana kelompok hidroksialkil akan dieliminasi sebagai aldehid, dan pada akhirnya akan terbentuk nitrosamin primer yang bersifat tidak stabil. Molekul nitrosamin primer reaktif ini akan mengalami tautomerisasi dengan sebagian besar molekul-molekul selular dan apabila terjadi alkilasi pada tingkat DNA maka akan menyebabkan mutasi-mutasi gen dan kanker.³

Metabolisme zat-zat xenobiotik, seperti DEN, akan menyebabkan timbulnya *Reactive Oxygen Species* (ROS). DEN dimetabolisme oleh CYP450 di hepar dan dalam keadaan normal hepar menghasilkan ROS yang termasuk dalam

kelompok radikal bebas. ROS diproduksi saat terjadi respirasi seluler, tetapi ROS akan dieliminasi oleh sistem imun tubuh.

Radikal bebas memiliki beberapa mekanisme yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan sel. Mekanisme yang pertama yaitu dengan menyebabkan peroksidasi lipid di membran dan organel-organel sel. Reaksi antara lipid dan radikal bebas ini akan menghasilkan peroksida yang merusak sel membran secara ekstensif. Mekanisme lainnya yaitu radikal bebas akan merusak rantai DNA, yang dapat menyebabkan keganasan.

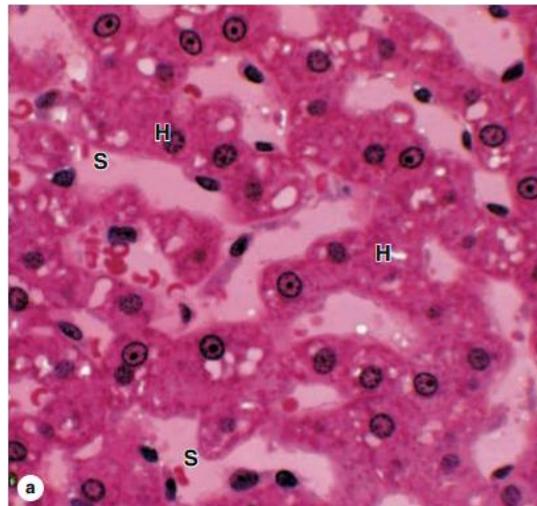
Tubuh mempunyai beberapa mekanisme untuk menyingkirkan radikal bebas, salah satunya dengan antioksidan endogen. Antioksidan bekerja dengan cara menghambat pembentukan radikal bebas dan juga menginaktivasi radikal bebas. Namun apabila jumlah radikal bebas berlebihan maka akan terjadi stres oksidatif, yang berperan dalam kerusakan sel.¹³



Gambar 1 Pembentukan, eliminasi, dan peran ROS dalam kerusakan sel.^{13,18}

2.2 Gambaran histologi hepar

Hepar merupakan organ terbesar dalam tubuh manusia. Letak hepar sendiri berada di kuadran kanan atas rongga abdomen, tepatnya di bawah diafragma. Hepar tersusun atas 4 lobus dan dilapisi kapsula jaringan ikat tipis (kolagen & elastis) yang disebut kapsula Glisson, serta ditutupi peritoneum visceral. Berat dari hepar adalah 1,5 kg. Kapsula menebal pada daerah hilum (porta hepatis), dimana terdapat vena porta hepatis dan arteri hepatica yang mendarahi hepar dan juga merupakan muara dari vena hepatica, saluran limfe, dan duktus biliaris komunis. Komponen struktur utama dari hepar adalah sel hepar atau hepatosit.¹⁴



Gambar 2 Hepatosit (H) dan sinusoid (S) (HE 400x)¹⁴

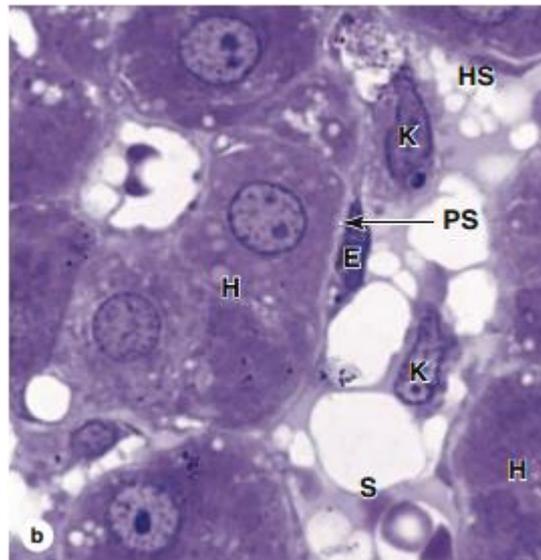
Fungsi utama hepar selain memproses makanan yang diserap usus sebelum masuk ke darah, hepar juga menghasilkan empedu yang berperan untuk proses emulsifikasi, hidrolisis, dan penyerapan lemak di duodenum. Selain fungsi eksokrin, fungsi lainnya yaitu:

- 1) Memiliki fungsi endokrin dan sintesis plasma-protein, seperti albumin, fibrinogen, apolipoprotein, dan sebagainya.
- 2) Melakukan proses xenobiotik, detoksifikasi obat-obatan.
- 3) Deaminasi asam amino, yang akan menghasilkan produk akhir yaitu urea dan akan diekskresikan melalui urin.
- 4) Menyimpan cadangan energi (dalam bentuk glikogen), vitamin A, dan zat besi.
- 5) Memiliki sel Kupffer yang akan memfagosit eritrosit yang sudah rusak.

Hepatosit berbentuk polihedral, berinti bulat ditengah, dengan enam permukaan. Hepatosit dibagi menjadi beberapa struktur fungsional, dimana masing-masing struktur memiliki fungsi masing-masing. Yang pertama yaitu lobulus klasik hepar, yang tersusun dari lempengan sel parenkim hepar dengan pusatnya yaitu vena sentralis, dan dipisahkan oleh suatu celah yang disebut sinusoid. Struktur ini merupakan unit struktural terkecil dari hepar.¹⁴

Sinusoid adalah celah diantara sel parenkim yang tersusun radier. Dinding sinusoid dilapisi oleh endotel yang tidak kontinyu. Terdapat celah yang memisahkan antara hepatosit dan sel-sel endotel. Celah ini disebut *Spasium Disse*, berisi mikrovili dari hepatosit. Pada endotel dari sinusoid terdapat beberapa sel seperti sel makrofag stellata dan sel Kupffer. Sel Kupffer berfungsi untuk memfagosit eritrosit, Terdapat juga sel stellata (Sel Ito) yang berfungsi sebagai tempat penyimpanan vitamin A.

Daerah ini dipisahkan dengan parenkim hepar melalui lempengan pembatas, yang terdiri dari hepatosit yang termodifikasi. Terdapat ruang sempit yang disebut *space of Möll* yang memisahkan antara lempeng pembatas dari jaringan ikat daerah porta.



Gambar 3 Sel Kupffer (K), endotel sinusoid (S), hepatosit (H), Spasium Disse (PS) (PT,400x)¹⁴

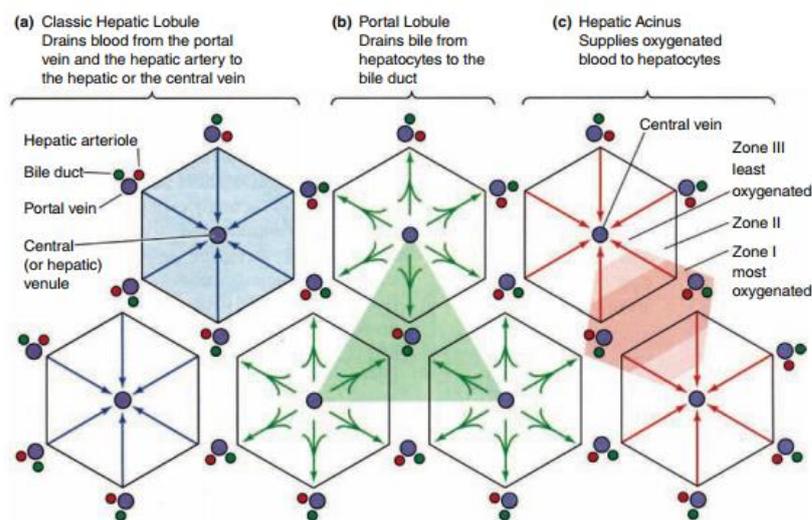
Struktur yang kedua adalah lobulus porta yang dibatasi oleh tiga vena sentralis dengan ductus biliaris interlobuler sebagai pusatnya. Pada lobulus ini terdapat cabang-cabang vena porta, arteri hepatica, duktus biliaris, serta pembuluh limfe. Lobulus ini merupakan unit fungsional utama hepar.¹⁴

Unit fungsional hepar lainnya adalah asinus hati, yaitu suatu daerah berbetuk berlian/oval yang dibatasi oleh dua area porta dan dua vena sentralis yang berdekatan. Berdasarkan suplai darah, daerah ini dibagi menjadi zona I, zona II, dan zona III. Zona III berada di sekitar vena sentralis, dimana terdapat suplai

nutrisi dan oksigen yang paling sedikit, karena pada zona ini terjadi proses glikolisis, pembentukan lipid, dan biotransformasi obat-obatan. Apabila terjadi gangguan, maka hepatosit di zona III yang akan mengalami penimbunan lemak dan nekrosis iskemik pertama kali.¹⁴

Zona I merupakan zona yang paling dekat dengan arteriol hepatica dan menerima suplai nutrisi dan oksigen yang melimpah, sehingga dapat menjalankan fungsi yang memerlukan metabolisme oksidatif, contohnya seperti sintesis protein. Letak yang dekat dengan arteriol hepatica juga menyebabkan zona I lebih mudah terkena toksin yang masuk melalui darah daripada zona III.¹⁵

Sementara itu, zona II terletak diantara zona I dan II serta memiliki fungsi diantara zona-zona tersebut.



Gambar 4 Struktur-struktur yang terdapat di hepar¹⁴

2.3. Kerusakan pada hepar

Terdapat beberapa jenis kerusakan yang dapat terjadi di hepar, diantaranya:

- 1) Degenerasi albuminosa, atau bisa disebut parenkimatososa/*cloudy swelling* merupakan degenerasi yang derajatnya paling ringan dan bersifat reversibel. Degenerasi hanya terjadi di retikulum endoplasma dan mitokondria, yang menyebabkan sel meretensi air sehingga sel mengalami pembengkakan.
- 2) Degenerasi hidropik, derajatnya lebih berat dari degenerasi albuminosa. Degenerasi ini bersifat reversibel. Tampak vakuola-vakuola yang berisi air di dalam sitoplasma yang tidak terdapat glikogen atau lemak di dalamnya. Hepatosit mengalami pembengkakan sekurang-kurangnya 2 kali, sehingga dapat disebut *ballooning degeneration*.
- 3) Nekrosis hepar, dapat disebabkan oleh berbagai hal salah satunya adalah bahan kimia. Nekrosis sel hepar dapat terjadi pada satu daerah kecil yang terpisah, dan dapat juga terjadi nekrosis yang melibatkan daerah yang luas. Nekrosis yang terjadi dapat berupa:

- Terjadi kemunduran sel yang ditandai dengan sitoplasma eosinofilik, bergranula, dan inti yang piknotik.
- Terjadi kematian sel hepar pada daerah yang berbeda-beda di dalam hepar dan tidak dalam satu lobus, disebut nekrosis fokal. Dapat ditemukan adanya retikulin yang kolaps, dan pada akhirnya menyebabkan autolisis.

- Nekrosis zonal, dibagi menjadi 3 yaitu nekrosis sentrilobuler, nekrosis midzonal, dan nekrosis perifer.
- Nekrosis masif akuta, pada fase awal ditemukan nekrosis tanpa reaksi sel radang. Ada fase selanjutnya, dapat ditemukan infiltrasi dari leukosit polimorfonuklear, sinusoid yang sembab, dan ditemukan histiosit yang menfagosit sel mati.
- Nekrosis masif subakuta, dimana terjadi penggantian sel-sel yang sakit akan diganti dengan sel-sel yang normal, terbentuk struktur lobus yang tidak teratur, dan terdapat jaringan fibrosa yang tidak teratur dalam hepar.¹⁶
- Fibrosis, dapat terjadi karena adanya kerusakan terus menerus seperti infeksi dan reaksi imunologik, sehingga terjadi deposisi kolagen dan matriks ekstraseluler yang berlebihan pada jaringan.¹³

Fibrosis adalah salah satu respon tubuh terhadap beberapa stimuli, seperti alkohol, infeksi virus, obat-obatan dan toksin, kolestasis, dan penyakit metabolisme. Fibrosis dapat terjadi akibat meningkatnya sintesis dan deposisi kolagen yang disertai dengan *remodelling* yang tidak seimbang. Fibrosis hepar dapat berlanjut menjadi sirosis hepar, suatu kondisi yang ditandai dengan rusaknya arsitektur normal dari hepar yang apabila dibiarkan dapat berkembang menjadi keganasan.

Etiologi dari fibrosis hepar bermacam-macam, beberapa diantaranya yaitu paparan kronik dari zat toksik seperti CCl₄ dan nitrosamin. Sel yang terkait dengan proses fibrogenesis diantaranya adalah *Quiescent Hepatic Stellate Cell*

(qHSC). Sel ini mempunyai karakteristik profibrogenesis. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi aktivasi dari HSC ini, diantaranya adalah kerusakan pada hepatosit dan sel Kupffer. Perubahan sel-sel epitel hepar seperti hepatosit menjadi mesenkim, sebuah proses yang disebut dengan *epithelial-to-mesenchymal transition*. Proses ini diduga memiliki peran dalam proses fibrogenesis. Mediator yang dilepaskan oleh sel seperti peroksidase lipid, serta ROS, merupakan salah satu pemicu dari aktivasi HSC.²

2.4 Aktivitas antioksidan pada daun sukun (*Artocarpus altilis*)

Antioksidan adalah zat yang dapat mencegah oksidasi dari zat lain yang mengandung oksidan. Fungsi dari antioksidan adalah untuk mencegah kerusakan seluler yang diakibatkan oleh aktivitas dari radikal bebas.

Radikal bebas adalah molekul yang memiliki satu elektron tidak berpasangan di orbitnya, sehingga bersifat sangat reaktif. Radikal bebas dapat mendonorkan satu elektron atau bahkan dapat menarik satu elektron dari zat lainnya, sehingga radikal bebas dapat bersifat sebagai oksidator atau reduktor. Karena sifatnya yang sangat reaktif, radikal bebas mempunyai waktu paruh yang sedikit, walaupun ada beberapa jenis yang memiliki waktu paruh yang lebih panjang.¹⁷

Terdapat beberapa mekanisme untuk menginaktivasi radikal bebas dan meminimalisir kerusakan sel di dalam tubuh manusia. Contoh mekanismenya misalnya, di dalam sel banyak ditemukan *superoxide dismutase* (SOD) yang dapat mempercepat proses peluruhan radikal bebas. Beberapa mekanisme lainnya yaitu *glutathione peroxidase* (GSH) yang fungsi utamanya untuk melindungi sel dari kerusakan oksidatif, dan enzim katalase yang ditemukan di dalam peroksisom.

Enzim katalase berfungsi untuk merubah $2\text{H}_2\text{O}_2$ menjadi $2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$. Terdapat pula antioksidan endogen seperti vitamin A, E dan β -karoten, yang berfungsi untuk menghambat pembentukan radikal bebas, dan apabila radikal bebas sudah terbentuk maka antioksidan endogen ini akan menangkapnya.^{13,18}

Sukun (*Artocarpus altilis*) merupakan tanaman asli Indonesia dan tersebar dari Asia Tenggara hingga ke Afrika. Sejak dahulu, buah sukun banyak dimanfaatkan masyarakat Indonesia sebagai salah satu bahan pangan. Buah sukun banyak mengandung serat dan karbohidrat. Selain itu dapat pula ditemukan protein, vitamin, kalsium, magnesium, dan tembaga. Di masyarakat, daun sukun dimanfaatkan sebagai obat tradisional dan dipercaya dapat mengobati hipertensi, diabetes, hiperkolesterolemia, dan gangguan pada hepar.¹¹

Penelitian-penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak daun sukun mempunyai efek aktivitas anti inflamasi, efek antikanker, antiplatelet, dan antisklerotik.^{10,11} Pada penelitian toksikologi dinyatakan bahwa ekstrak daun sukun tidak memiliki sifat toksik setelah diberikan pada tikus wistar dengan dosis 200 mg/kgBB.¹⁹ Selain itu, pada daun sukun juga ditemukan antioksidan komponen fenolik, flavonoid, dan tanin terkondensasi.

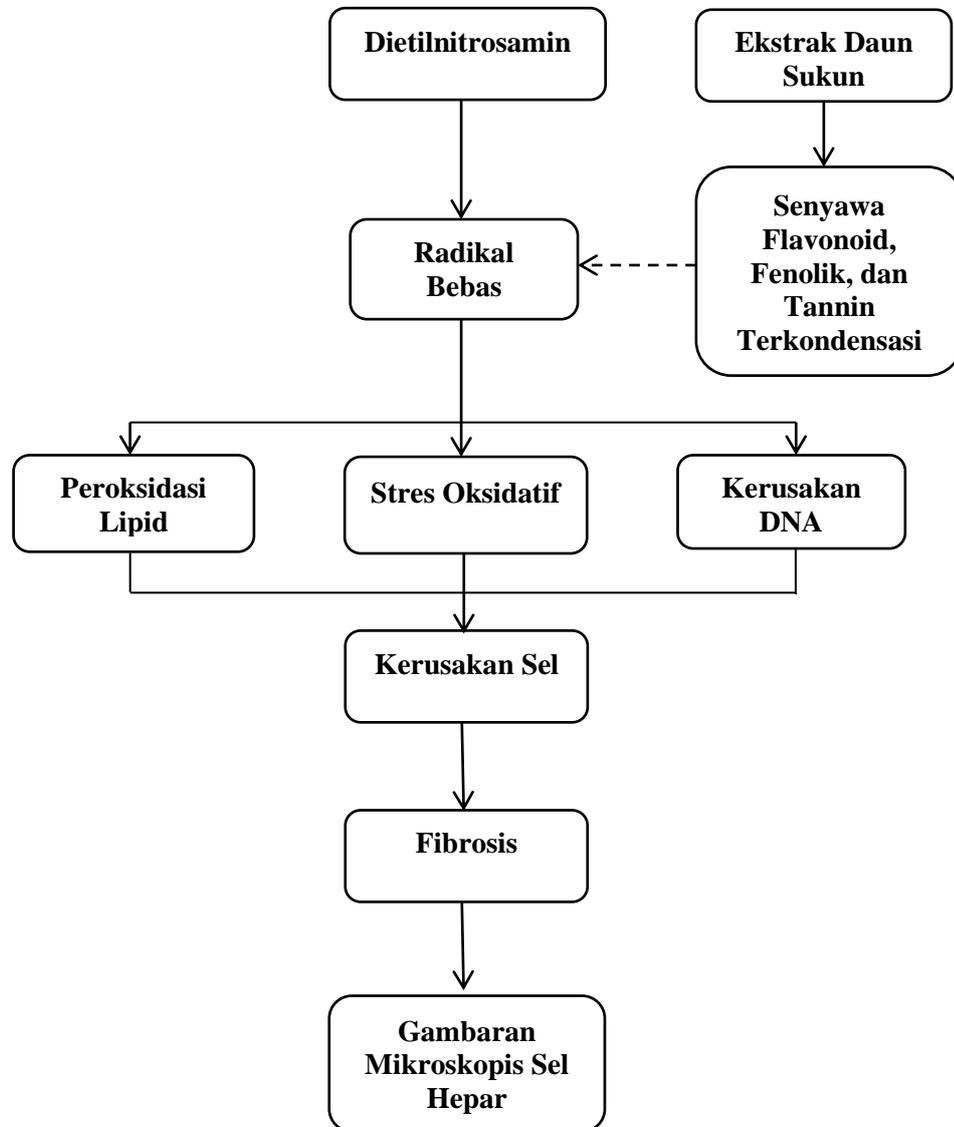
Cara mendapatkan ekstrak daun sukun yang pertama dilakukan adalah mencuci daun sukun, lalu dikeringkan hingga kadar air <5%. Selanjutnya daun yang sudah kering digiling dengan *sample mill* hingga ukuran 40 *mesh*. Setelah digiling, serbuk daun sukun dimasukkan ke dalam tabung Erlenmeyer dan diberi 100mL metanol dan dibiarkan selama 24 jam. Setelah 24 jam sampel disaring, dan

filtrat diuapkan dengan rotari evaporator untuk mendapatkan ekstrak metanol. Lalu ekstrak ditimbang dan disimpan dalam suhu -20°C .⁹

Ekstrak daun sukun mengandung beberapa senyawa antioksidan, seperti komponen fenolik, flavonoid, dan tannin. Beberapa flavonoid yang dapat diisolasi dari ekstrak daun tersebut diantaranya *1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-[8-hydroxy-2-methyl-2-(4-methyl-3-pentenyl)-2H-1-benzopyran-5-yl]-1-propanone, 2-geranyl 20,3,4,40-tetrahydroxydihydrochalcone, 20-geranyl-30,40,7-trihydroxyflavanone, cycloaltilisin 6*. Penelitian lainnya menemukan beberapa kandungan antioksidan golongan *geranyl dihydrochalcones*.²⁰

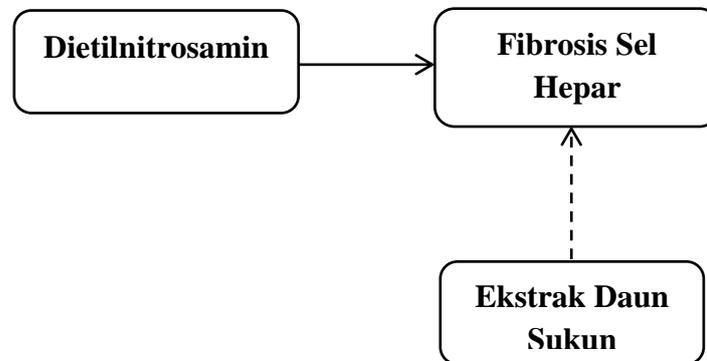
Aktivitas hepatoprotektor dari daun sukun telah diteliti oleh Sudha Sairam et al. Penelitian tersebut menilai tentang kadar enzim hepar dan gambaran histopatologi hepar yang diinduksi oleh CCL_4 . Pada grup yang hanya diinduksi oleh CCL_4 (kontrol positif) ditemukan adanya kerusakan arsitektur hepar, nekrosis, steatosis yang berat, dan terjadi kerusakan pada duktus biliaris dan pembuluh darah, sedangkan pada grup yang diberi ekstrak metanol daun sukun (500 mg/kgBB p.o) ditemukan arsitektur hepar yang normal, dan nekrosis serta steatosis yang sangat minimal, sehingga mengindikasikan bahwa ekstrak tersebut memiliki kemampuan dalam memperbaiki kerusakan hepar yang diinduksi CCL_4 .¹²

2.5 Kerangka Teori



Gambar 5 Kerangka Teori

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 6 Kerangka Konsep

2.7 Hipotesis

2.7.1 Hipotesis mayor

Ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) menghambat pembentukan fibrosis hepar tikus wistar jantan yang diinduksi oleh dietilnitrosamin.

2.7.2 Hipotesis minor

- 1) Terdapat perbedaan gambaran fibrosis hepar antara tikus wistar jantan yang diinduksi dietilnitrosamin dan tikus pada kelompok kontrol.
- 2) Terdapat perbedaan gambaran fibrosis hepar antara tikus wistar jantan yang diinduksi dietilnitrosamin dan yang diberi ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*).
- 3) Terdapat perbedaan gambaran fibrosis hepar antar kelompok perlakuan.