

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

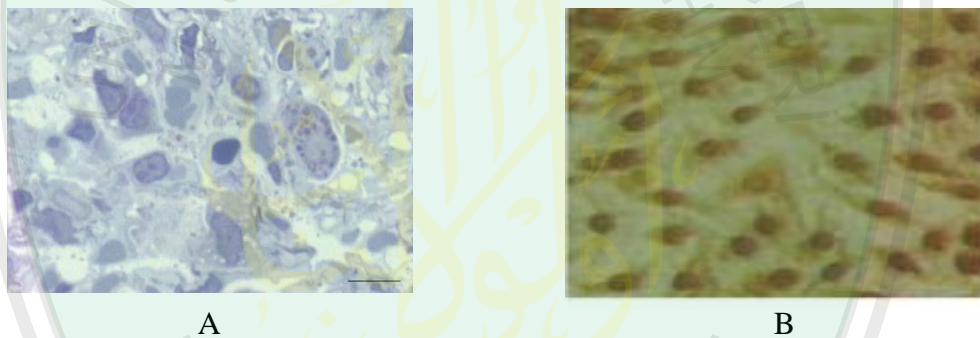
2.1 Karakteristik Sel Paru-Paru Fetus Hamster

Paru-paru merupakan organ yang dibungkus oleh jaringan ikat dan sel-sel mesotel sehingga membentuk pleura viseral. Jaringan ini mencakup beberapa jaringan ikat, arteriola dan venula, serta jalinan kapiler paru-paru. Tempat terjadinya pertukaran gas disebut *air-blood-barrier*, yang merupakan permukaan luas dengan jalinan kapiler di satu sisi dan udara pada sisi lain. Pertukaran gas umumnya terjadi pada kedua belah sisi septa jaringan yang memisahkan alveolus (septa interalveolaris) (Dixon *et al.*, 1999).

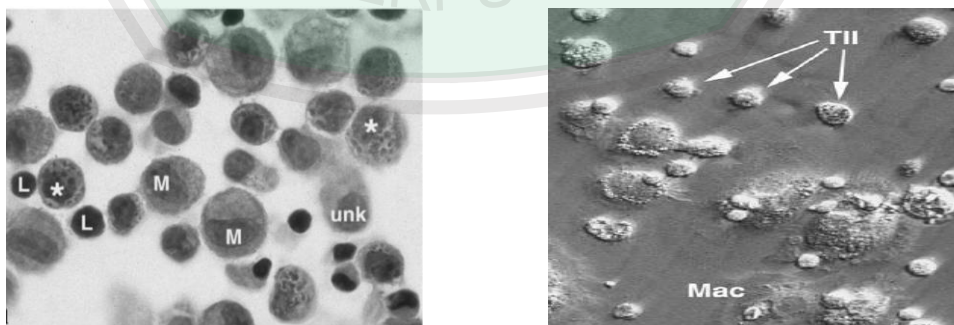
Pada paru-paru terdapat macam-macam sel, diantaranya adalah sel digest, sel makrofag alveolar, sel clara, sel alveolar tipe I dan sel alveolar tipe II. Sel clara dapat ditemukan pada setiap bagian saluran napas mulai laring sampai bronkiolus terminal. Sel clara mensekresi zat yang disebut *clara cell secretory protein (CCSP)* dan berfungsi untuk detoksifikasi zat yang berbahaya yang diinhalasi ke dalam paru. Sel makrofag alveolar adalah sel yang memfagosit benda-benda asing (Dixon *et al.*, 1999). Sel alveolar tipe I adalah sel yang bertanggung jawab untuk pertukaran gas (oksigen dan karbondioksida) dalam alveolus. Sel alveolar tipe II adalah sel-sel yang aktif secara metabolik, mensekresi surfaktan, suatu fosfolipid yang melapisi permukaan dalam dan mencegah alveolar agar tidak kolaps (Bills and Christie 1980 ; Herbert and Leininger 1999).

Kultur sel paru-paru mempunyai bentuk multipolar atau bipolar menyebar pada permukaan cawan kultur. Kultur sel ini setelah konfluen akan menjadi bipolar dan tidak menyebar. Sel yang dapat bermigrasi bipolar atau multipolar seperti sel paru-paru disebut fibroblastik dan sel ini panjangnya lebih dari dua kali lebarnya (Trenggono, 2009).

Sel paru-paru bersifat *cell line* yaitu sel yang diperoleh dari kultur sel primer dan telah dipisahkan secara enzimatik maupun mekanis. Bentuk kultur sel tergantung dari bentuk jaringan asal. *Cell line* dari jaringan padat (paru-paru dan epitel) cenderung untuk tumbuh sebagai monolayers (Nettesheim, 1981).



Gambar 2.1 Sel Paru-Paru Tikus (A. Sel Paru-Paru Tikus pada Kondisi *In Vivo* dengan Pewarnaan *Toluidin Blue* (Amin, 2003), B. Kultur Sel Paru-Paru Tikus dengan Marker *Thyroid Transcription Factor (TTF-1)* (Sarah, 2008))



Gambar 2.2 Kultur Sel Paru-Paru Tikus Fase Adaptasi (M : Sel Makrofag, L : Sel Limfosit, * : Sel Alveolar Tipe II, unk : Tidak Diketahui, TII : Sel Alveolar Tipe II, Mac : Sel Makrofag Alveolar) (Freshney, 2002)

2.2 Perkembangan Sel Paru-Paru Fetus Hamster *In Vivo* dan *In Vitro*

Perkembangan sel paru-paru *in vivo* pada dasarnya dapat berkembang dan tumbuh dengan baik tanpa adanya rangsangan dan pengontrolan dari luar karena walaupun tidak ada nutrisi sel tersebut dapat mendapatkan nutrisi dari sel tetangga sehingga dapat tetap tumbuh dan berkembang. Sel paru-paru yang dikultur dapat berkembang dan tumbuh apabila dapat rangsangan dan pengontrolan dari luar. Sel tersebut apabila kehabisan nutrisi maka harus digantikan dan ditambahkan nutrisi agar sel tersebut dapat hidup (Djati, 2006).

Perkembangan sel paru-paru *in vitro* memerlukan adanya suplai faktor perangsang dan pemacu proliferasi sel agar dapat berkembang sesuai dengan kondisi *in vivo*, karena kultur sel dilakukan untuk mengembangbiakkan sel dibawah kondisi terkontrol pada lingkungan buatan yang kondusif untuk pertumbuhannya (Freshney, 2000). Pertumbuhan dan perkembangan sel tidak lepas dari siklus sel untuk tetap bertahan hidup. Dalam sistem kultur, sel memerlukan media sebagai sumber nutrisi yang berguna untuk proses proliferasi sel. Sel akan mengalami proses pembelahan apabila kebutuhannya terpenuhi. Oleh karena itu pengontrolan media dalam media kultur harus selalu dilakukan sampai sel mencapai konfluen (Trenggono, 2009).

Waktu generasi merupakan periode antara suatu pembelahan sel dengan pembelahan sel berikutnya yang disebut waktu pembentukan atau waktu penggandaan sel. Waktu generasi pada sel mamalia kira-kira selama 20 jam. Pada kondisi *in vivo* siklus sel terdiri dari periode pertumbuhan sel dan pembelahan sel yang berkisar antara 18-24 jam tergantung dari sumber dan tipe sel. Sel dari hasil

kultur dapat melakukan pembelahan sel dan penggandaan sel berkisar antara 12-20 jam (Trenggono, 2009).

Perkembangan sel paru-paru yang dikultur pada tahap pertama masih mengalami adaptasi, sehingga perlu diadakan penggantian media untuk mendapatkan sel yang konfluen. Sel yang sudah mampu beradaptasi akan berkembang cepat, inti sel dan kromosom bersifat stabil, dan dapat dipasase secara terus menerus dengan masa inkubasi yang semakin pendek (Nettesheim, 1981).

2.3 Proliferasi Sel Paru-Paru Fetus Hamster

Proliferasi sel adalah pembelahan sel (*cell division*) dan pertumbuhan sel (*cell growth*). Proliferasi merupakan proses perbanyakkan sel melalui pembelahan sel (*mitosis*) dan diferensiasi. Pembelahan sel (*mitosis*) terjadi melalui fase-fase tertentu (Schluter, 1993).

Pembelahan sel merupakan proses yang dilalui oleh makhluk hidup untuk menjalankan berbagai fungsinya karena kemampuan sel yang paling mendasar adalah kemampuannya untuk tumbuh dan membelah. Trenggono (2009) menjelaskan pada tingkat seluler, pertumbuhan sel disertai dengan penambahan molekul-molekul protein, asam nukleat, karbohidrat, lipid, serta komponen seluler lainnya. Pada saat sel tumbuh, membran plasma mengalami perluasan untuk memungkinkan terjadinya peningkatan volume internal, tetapi sel tidak dapat secara terus menerus meluas tanpa batas, sehingga pertumbuhan sel harus disertai dengan pembelahan sel sehingga dihasilkan sel anak.

Pembelahan sel secara aktif memerlukan suatu pengaturan. Proses yang mendasari mekanisme dan pengaturan pembelahan sel adalah siklus sel. Menurut Albert (2002), proliferasi sel dapat dipengaruhi oleh suatu ligan. Ligan berikatan dengan reseptor pada membran sel, kemudian mengaktifkan beberapa protein di dalam sel melalui fosforilasi. Transduksi sinyal tersebut diteruskan ke dalam inti sel untuk mengaktifkan faktor transkripsi yang selanjutnya dapat mengaktifkan siklus sel.

Fase-fase dalam siklus sel adalah G_1 , S, G_2 , dan M. Fase G_1 merupakan fase antara fase M dan S, yaitu saat berlangsungnya pertumbuhan dan persiapan untuk replikasi kromosom. Fase G_2 merupakan fase antara fase S dan M, yaitu fase persiapan untuk sel melakukan mitosis. Sintesis DNA dan penggandaan sentrosom berlangsung dalam fase S, sedangkan mitosis terjadi pada fase M. Fase G_1 , S, dan G_2 secara keseluruhan disebut interfase. Fungsi utama sel pada fase M disamping melakukan sintesis protein dan sintesis RNA adalah membelah diri (Trenggono, 2009).

Allah menciptakan manusia dalam berbagai fase perkembangan, begitu juga sel sebagai unit terkecil penyusun makhluk hidup. Pertumbuhan dan pembelahan sel dalam sistem kultur juga berlangsung melalui fase-fase dalam siklus sel karena proliferasi merupakan proses yang dilakukan sel sebagai unit dasar struktural dan fungsional untuk menjalankan berbagai fungsinya, sebagaimana dijelaskan Allah Swt. dalam Alqur'an surat an-Nuh : 14, yaitu :

وَقَدْ خَلَقَكُمْ أَطْوَارًا ﴿١٤﴾

"Dan sesungguhnya Dia telah menciptakan kamu dalam beberapa fase kejadian" (Qs. an-Nuh : 14).

Sel yang terbentuk dari hasil kultur akan tumbuh mengikuti kurva pertumbuhan yang terbagi dalam 3 fase yaitu fase lambat, fase eksponensial dan fase menetap (Trenggono, 2009). Menurut Budiono (2002), pertumbuhan sel dalam sistem kultur terdiri dari 3 fase yaitu *Lag phase*, *Log phase* dan *Plateu phase*. Pada *Lag phase* konsentrasi sel adalah sama atau hampir sama dengan konsentrasi pada waktu subkultur. Fase ini juga disebut dengan fase adaptasi atau fase lambat, yaitu fase sel yang meliputi pelekatan pada substrat dan penyebaran sel. *Log phase* merupakan fase terjadinya peningkatan jumlah sel secara eksponensial dan saat pertumbuhan mencapai konfluen, proliferasi akan terhenti setelah 1 atau 2 siklus berikutnya. Fraksi pertumbuhan pada fase ini mencapai 90-100%. *Plateu phase* merupakan fase terjadinya penurunan dan berkurangnya kemampuan sel untuk tumbuh apabila sel telah mencapai konfluen. Pada fase ini fraksi pertumbuhan akan mencapai 0-10%.

2.3.1 Kerusakan Sel Paru-Paru Fetus Hamster

Kerusakan sel merupakan perubahan atau gangguan yang dapat mengurangi viabilitas atau fungsi esensial sel. Stres oksidatif dapat menyebabkan kematian sel secara apoptosis dan nekrosis. Apoptosis adalah proses kematian sel secara terprogram berupa proses autodestruksi seluler aktif yang ditandai dengan penyusutan sel, kerusakan membran, dan fragmentasi DNA inti sel. Nekrosis merupakan kematian sel secara tiba-tiba akibat kerusakan berat yang ditandai kerusakan struktur seluler secara menyeluruh diikuti dengan lisisnya sel dan inflamasi jaringan (Moodie, 2004).

2.3.2 Viabilitas Sel Paru-Paru Fetus Hamster

Viabilitas sel merupakan kemungkinan sel untuk dapat hidup (Freshney, 2000) serta perbandingan jumlah sel yang hidup dan sel yang mati (Wulandari, 2003). Viabilitas sel ditentukan dari kemampuan sel untuk hidup dan menjalankan metabolismenya dimana ini merupakan faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur sel (Prihastanti, 1999).

Viabilitas sel menunjukkan respon sel jangka pendek seperti perubahan permeabilitas membran atau adanya gangguan pada jalur metabolisme tertentu dalam sel. Viabilitas sel sering digunakan sebagai penanda sitotoksitas suatu material dan ini berguna untuk mengetahui sifat biologis suatu bahan apakah bersifat toksik terhadap sel tertentu atau tidak. Salah satu yang mengindikasikan sitotoksitas suatu bahan adalah adanya penurunan proliferasi sel dan penurunan viabilitas sel (Freshney, 2000).

Metode yang digunakan untuk melihat viabilitas sel salah satunya dilakukan dengan cara menambahkan larutan *tripan blue* agar dapat membedakan sel yang hidup dan yang mati. Sel yang mati akan terlihat berwarna biru, karena membran selnya mengalami lisis sehingga protein dalam plasmanya akan berikatan dengan *tripan blue*. Hal ini tidak terjadi pada sel yang hidup karena tidak mengalami kerusakan pada membran selnya (Djajanegara, 2009).

2.3.3 Abnormalitas Sel Paru-Paru Fetus Hamster

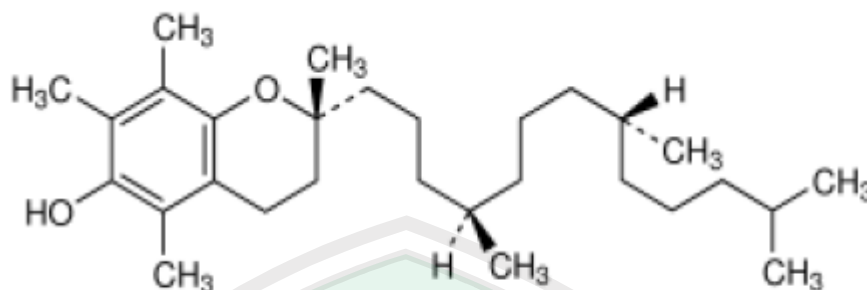
Sel dikatakan abnormal apabila sel tersebut berukuran melebihi ukuran sel normal dan mengalami perubahan bentuk dari asalnya, terkontaminasi oleh

bakteri dan jamur (Djati, 2006). Abnormalitas sel yang sering muncul pada kultur sel ditandai dengan adanya sel raksasa (*sel giant*) yaitu sel yang volume selnya, DNA, RNA serta massa protein bertambah hingga 20-200 kali lipat daripada sel normal (Freshney, 2000).

Abnormalitas sel yang lain biasanya ditandai dengan adanya nekrosis. Ciri-ciri dari sel yang mengalami nekrosis antara lain kromatin menggumpal, pembengkakan organel, kerusakan membran sel, keluarnya isi sel. Proses nekrosis sel dapat muncul sebagai respon terhadap rangsangan spesifik misalnya stres oksidatif. Stres oksidatif adalah suatu gangguan keseimbangan antara oksidan dan antioksidan yang menyebabkan rusaknya sel potensial (Moodie, 2004)

2.4 Struktur dan Sifat Vitamin E (*α -tocoferol*)

Terdapat sekelompok ikatan organik yang mempunyai aktivitas vitamin E. Secara garis besar terdapat 8 buah ikatan yang dapat dikelompokkan menjadi kelompok tocoferol dan kelompok tokotrienol. Vitamin E istilah umum bagi delapan macam substansi alami yang bersifat lemak, yaitu : 4-tocopherol dan 4-tocotrienol dan dari delapan macam substansi tersebut substansi *α -tocoferol* mempunyai aktivitas biologi yang tinggi dan terdapat dalam jumlah besar pada jaringan tubuh (Goodman's and Gillman's, 1991).



Gambar 2.3 Struktur Vitamin E (*α-tocopherol*) (Pekiner, 2003)

Sifat fisik dari vitamin E adalah semua bentuk vitamin E merupakan minyak yang tidak dapat dikristalkan. Minyak ini mempunyai viskositas tinggi, larut dalam minyak dan zat pelarut lemak. Vitamin E stabil terhadap suhu, alkali dan asam. Secara kimiawi berdasarkan jumlah gugus metil pada inti aromatic tokotrienol, dikenal 6 jenis tokoferol, yaitu α , β , γ , δ , ϵ , dan Z, tetapi diantara keenam bentuk tokoferol tersebut yang paling aktif adalah *α-tocopherol* (Winarsi, 2007).

2.5 Peran Vitamin E (*α-tocopherol*) pada Media Kultur

Penambahan vitamin E pada media kultur dapat meningkatkan proses penempelan eksplan mencit *in vitro* (Steele, 1990) dan hal tersebut dibuktikan dengan pewarnaan bahwa terlihat adanya peningkatan viabilitas embrio mencit yang dipapar panas (Arechiga, 1994). Penambahan *α-tocopherol* pada medium kultur dapat meningkatkan proliferasi sel dentate gyrus pada tikus dewasa (Cuppini, 2001).

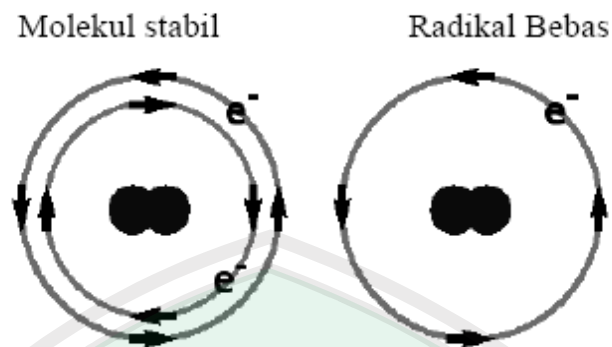
Menurut Seidel (2000), vitamin E yang ditambahkan pada media kultur memberi pengaruh positif terhadap perkembangan proliferasi sel embrio sapi yang

dikultur. Hasil penelitian Sekaran (2010), kandungan vitamin E, karoten, dan fenolat pada minyak palm phenolik dapat mempercepat viabilitas sel pada kultur sel baby hamster kidney (BHK).

2.6 Peran Vitamin E (*α-tocoferol*) dalam Melindungi Sel dari Efek Toksik

Vitamin E merupakan antioksidan yang dapat melindungi lemak supaya tidak teroksidasi, misalnya lemak atau asam lemak yang terdapat pada membran sel (Suryanti, 2002). Vitamin E adalah antioksidan yang larut dalam lipid dan melindungi sel dari radikal bebas *in vivo* dan *in vitro*. Vitamin E merupakan antioksidan yang lebih efektif karena kelarutannya dalam lipid dan aktivitas antioksidannya tinggi (Chow, 1979 dan Miller, 1993).

Radikal bebas merupakan molekul yang kehilangan elektron, sehingga molekul tersebut menjadi tidak stabil dan selalu berusaha mengambil elektron dari molekul atau sel lain (Anderson, 1999). Radikal bebas didefinisikan sebagai sekelompok zat kimia yang sangat reaktif karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Peningkatan dari radikal bebas tersebut dapat memicu peroksidasi lipid dan secara umum menyebabkan gangguan fungsi sel dan kerusakan oksidatif pada membran (Halliwell, 1994).



Gambar 2.4 Struktur Molekul Stabil dan Radikal Bebas (Sulistyowati, 2006)

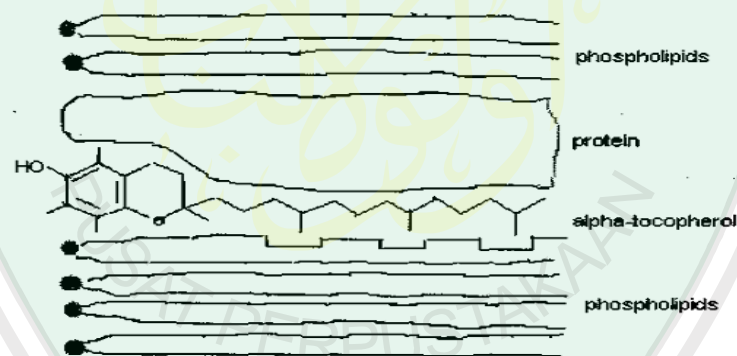
Radikal bebas dapat dihasilkan dari hasil metabolisme tubuh misalnya sejumlah reaksi seluler yang dikatalisis oleh besi (Fe^{2+}) dan reaksi enzimatik seperti NADPH oksidase yang berlangsung saat proses sintesa energi oleh mitokondria atau proses detoksifikasi dan faktor eksternal antara lain berbagai polutan lingkungan misalnya asap rokok, radiasi ionisasi, dan paparan zat kimia yang bersifat mengoksidasi sel (Anderson, 1999).

Radikal bebas yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya sangat reaktif mencari pasangannya supaya keadaannya stabil. Winarsi (2007) menyebutkan, antioksidan secara biologi merupakan senyawa yang mampu meredam dampak negatif oksidan didalam tubuh, sehingga apabila antioksidan masuk kedalam tubuh mampu melindungi tubuh dari kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas.

Salah satu antioksidan yang mampu mengurangi efek radikal bebas dalam sel adalah vitamin E (*α -tocoferol*). Vitamin E merupakan antioksidan yang larut dalam lemak dan berada pada lapisan fosfolipid membran sel. Vitamin E

melindungi *Poly Unsaturated Fatty Acids (PUFA)* dan komponen membran sel lain dari oksidasi radikal bebas dengan memutuskan rantai peroksida lipid yang muncul karena adanya reaksi antara lipid dan radikal bebas dengan cara menyumbangkan satu atom hidrogen dari gugus OH pada cincinnya ke radikal bebas, sehingga terbentuk radikal vitamin E yang stabil dan tidak merusak (Hariyatmi, 2004).

Vitamin E merupakan antioksidan yang dapat mengganggu propagasi peroksidasi lipid pada membran plasma sehingga mempertahankan kestabilan membran (Chow, 1991). Menurut Pekiner (2003), vitamin E merupakan salah satu agen untuk mencegah penyebaran peroksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas melalui asam lemak fosfolipid sebagai antioksidan pemecah rantai.



Gambar 2.5 Vitamin E (*α-tocoferol*) pada Membran Sel (Pekiner, 2003)

Sasaran utama reaksi radikal bebas di dalam sel adalah ikatan-ikatan rangkap dari lipida yang terdapat di dalam membran sel. Reaksi berantai pada peroksidasi lipid dapat dihentikan oleh vitamin E dengan cara memberikan elektron tunggal pada dua reaksi berurutan untuk membentuk senyawa teroksidasi yang stabil (Hillbom, 1999). Vitamin E (*α-tocoferol*) dapat merusak rantai reaksi

ion dari peroksidasi lipid (Halliwell, 1994). Vitamin E terutama *α-tocoferol*, bertindak sebagai antioksidan yang melindungi peroksidasi lipid oleh radikal bebas (Mardones, 2004).

Peroksida lipid merupakan reaksi berantai yang terus menghasilkan pasokan radikal bebas sehingga terjadi reaksi-reaksi peroksidasi berikutnya yang menyebabkan terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang bersifat toksik terhadap sel (Hillbom, 1999). Peroksidasi lipid yang meliputi rangkaian radikal bebas juga dihubungkan dengan beberapa tipe kerusakan biologis. Peroksidasi lipid diketahui sebagai radikal bebas yang dapat menyebabkan penurunan stabilitas dan disintegrasi membran sel (Miller, 1993).

Vitamin E berfungsi menjaga kestabilan membran sel serta melindungi sel dan komponen-komponennya dari radikal bebas (Singha, 2008). Komponen terpenting pada membran sel mengandung asam lemak tak jenuh ganda yang sangat rentan terhadap serangan radikal bebas. Apabila membran sel terserang, struktur dan fungsi membran akan berubah yang dalam keadaan ekstrim akhirnya mematikan sel-sel (Miller, 1993).

Vitamin E berperan mencegah proses oksidasi terhadap komponen-komponen sel yang penting dan mencegah terbentuknya hasil oksidasi yang toksik. Vitamin E juga berfungsi menjaga stabilitas dan integritas membran sel serta melindungi sel dan komponen-komponennya dari toksisitas berbagai zat-zat kimia yang dapat membentuk radikal bebas (Singha, 2008).

Vitamin E adalah antioksidan utama yang berperan penting dalam melindungi sel terhadap toksisitas. Vitamin E menunjukkan efek yang paling

bagus dalam mengurangi efek toksisitas yang disebabkan oleh bahan kimia (Mansouri, 2001). Vitamin E mampu mengurangi efek genotoxicity atrazin yang diinduksi pada tikus dan dapat melindungi sel paru-paru dari stress oksidatif (Singha, 2008). Hasil penelitian Bolt (2001) terbukti vitamin E dapat melindungi sel paru-paru hamster dari toksisitas amiodarone dan N-desethylamiodarone.

2.7 Sifat Fisik dan Kimiawi Etanol

Etanol disebut juga etil alkohol dan termasuk ke dalam alkohol rantai tunggal, dengan rumus kimia C_2H_5OH dan rumus empiris C_2H_6O . Etanol merupakan isomer konstitusional dari dimetil eter. Etanol sering disingkat menjadi EtOH, dengan "Et" merupakan singkatan dari gugus etil (C_2H_5). Secara struktural, suatu alkohol merupakan gabungan dari alkana dan air. Dalam rumus alkohol terdapat gugus R- yang bersifat lipofilik dan gugus $-OH$ yang bersifat hidrofilik. Adanya kedua unit struktur tersebut menentukan sifat-sifat alkohol. Gugus $-OH$ sangat polar dan dapat membentuk ikatan hydrogen dengan sesama molekul alkohol, dengan molekul netral, serta dengan anion. Akibat adanya ikatan hydrogen antar molekul maka titik didih alcohol lebih tinggi dari pada titik didih alkana yang berat molekulnya hampir sama (Masters, 2002).

Etanol merupakan cairan jernih tak berwarna, rasanya pahit, mudah menguap, larut dalam air pada semua perbandingan dan bersifat hipnotik, memiliki titik didih $78^\circ C$, tekanan uap 44 mmHg pada temperatur $20^\circ C$. Etanol adalah pelarut yang serbaguna, larut dalam air dan pelarut organik lainnya,

meliputi asam asetat, aseton, benzena, karbon tetraklorida, kloroform, dietil eter, etilena glikol, gliserol, nitrometana, piridina, dan toluena (Dreisbach, 1971).

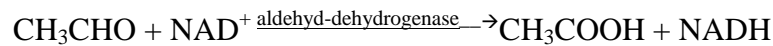
Sifat kimia etanol adalah termasuk dalam alkohol primer, yang berarti bahwa karbon yang berikatan dengan gugus hidroksil paling tidak memiliki dua hidrogen atom yang terikat dengannya juga. Ini dipengaruhi oleh keberadaan gugus hidroksil dan pendeknya rantai karbon etanol. Gugus hidroksil dapat berikatan dengan ikatan hidrogen, sehingga membuatnya cair dan lebih sulit menguap dari pada senyawa organik lainnya dengan massa molekul yang sama. Ikatan hidrogen menyebabkan etanol murni sangat higroskopis. Sifat gugus hidroksil yang polar menyebabkannya dapat larut dalam banyak senyawa ion (Miller and Mark, 1991).

2.8 Efek Metabolime Etanol pada Sel

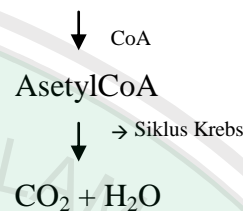
Menurut Kalant (1971), proses metabolisme etanol melibatkan tiga jenis enzim. Pada proses pertama etanol dioksidasi menjadi acetaldehyd oleh enzim "alkohol dehydrogenase" dan memerlukan kovaktor NAD (*Nicotinamid Adenin Dinucleotida*). Pada tahap kedua acetaldehyd diubah menjadi asam asetat oleh enzim "aldehyd dehydrogenase" yang juga memerlukan kovaktor NAD. Tahap berikutnya diubah lagi menjadi acetyl coenzim A (CoA), yang kemudian CoA masuk kedalam siklus Krebs dan mengalami metabolisme menjadi CO₂ dan H₂O.



Etilalkohol -----> acetaldehyde



Acetaldehyd -----> asam asetat



Gambar 2.6 Proses Biokimiawi Metabolisme Etanol (Kalant, 1971)

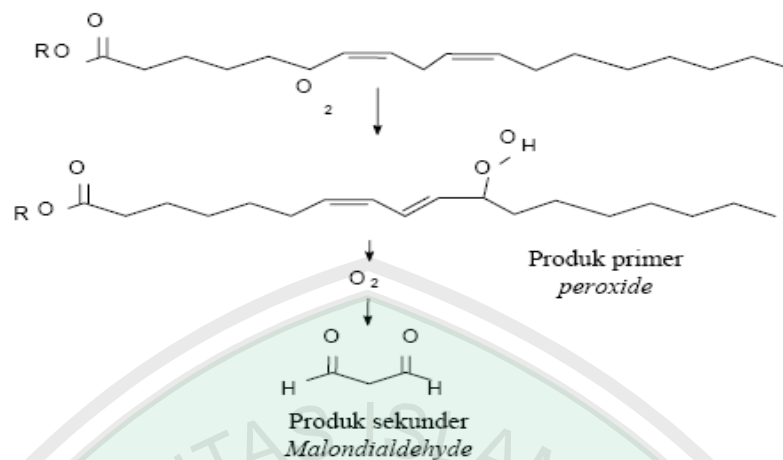
Pada mamalia, termasuk hamster, metabolisme ethanol melalui tiga cara sesuai dengan enzim yang mereduksinya yaitu : alcohol (ADH) dan aldehyd (ALDH) dehidrogenase dengan NAD^+ sebagai kofaktor, sitosol dan katalase peroximal dengan H_2O_2 sebagai sistem mikrosomal oksidasi ethanol yang berperan penting dalam *cytochrome P4502E1 (CYP2E1)* yang memerlukan NADPH dan O_2 (Stanczyk, 2005).

Jalur utama metabolisme alkohol meliputi *alcohol dehydrogenase (ADH)*, yaitu enzim sitosol yang mengatalisasi perubahan alkohol menjadi *acetaldehyde*. Selama perubahan *ethanol* menjadi *acetaldehyde*, ion hydrogen ditransfer dari alkohol pada *nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺)* untuk membentuk NADH . *Mitochondrial NAD⁺ dependent aldehyde dehydrogenase* merupakan jalur utama oksidasi *acetaldehyde*. Produk dari reaksi ini adalah *acetate* yang selanjutnya mengalami metabolisme menjadi CO_2 dan air. Konsumsi alkohol kronis akan menurunkan penurunan oksidasi *acetaldehyde* dalam mitokondria (Masters, 2002).

Radikal bebas yang dihasilkan selama metabolisme etanol dapat menyebabkan stress oksidatif dan peroksida lipid pada hati, otak dan jantung. Pada organ yang terdapat lemak dalam jumlah besar, ROS mengoksidasi lemak tak jenuh dan menyebabkan peroksidasi lipid (Mansouri, 2001). Ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan berpotensi menyebabkan kerusakan yang disebut stres oksidatif. Stres oksidatif menggambarkan banyaknya ROS pada proses oksidasi, sehingga menyebabkan gagalnya pertahanan kapasitas antioksidan tubuh terhadap produksi ROS yang berlebih (Halliwell, 1994).

Stres oksidatif yang terjadi pada sel *in vivo* dan *in vitro* diakibatkan adanya radikal bebas yang dihasilkan oleh agen eksogen (misalnya radiasi, bahan kimia) dan agen endogen misalnya metabolisme seluler. Stres oksidatif dibawah kondisi ekstrim akan menyebabkan mekanisme seluler terganggu dan menyebabkan terjadinya kematian sel (Chow, 1979).

Kerusakan akibat peroksidasi lipid yang disebabkan etanol dapat menghasilkan metabolit sekunder, salah satunya adalah malondialdehyd (MDA) (Hillbom, 1999). MDA terbentuk dari peroksidasi lipid (*lipid peroxidation*) pada membran sel yaitu reaksi radikal bebas (radikal hidroksi) dengan *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA). Reaksi tersebut terjadi secara berantai dan akibat akhir dari reaksi rantai tersebut akan terbentuk hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida tersebut dapat menyebabkan dekomposisi beberapa produk aldehid yang bersifat toksik terhadap sel dan berbeda panjang rantainya, antara lain MDA, yang merupakan salah satu aldehid utama yang terbentuk (Hariyatmi, 2004).



Gambar 2.7 Mekanisme Peroksidasi PUFA (Rizqia, 2009)

Asupan etanol dalam jumlah besar memiliki efek yang merusak gizi. Etanol setelah diserap, kemudian didistribusikan ke seluruh jaringan, cairan tubuh dan langsung ke darah. Konsumsi etanol lebih berpengaruh terhadap otak daripada organ lain (Paniagua, 2003). Etanol selain mempengaruhi otak juga melibatkan organ-organ vital lainnya seperti ginjal, hati dan jantung (Memon, 2009). Metabolisme etanol juga terjadi pada sel otak, jantung, dan paru-paru (Sies, 1991 dan Navasumrit, 2000).

Salah satu mekanisme yang bisa menjadi aksi produk akhir metabolisme etanol seperti asetaldehida dalam jumlah besar dari radikal oksigen reaktif dapat menimbulkan stress oksidatif dan menyebabkan perkembangan abnormal sel. Radikal oksigen reaktif diproduksi sebagai produk sampingan dari reaksi metabolik dan diatur pada tingkat fisiologis oleh mekanisme pertahanan antioksidan tubuh. Pada tingkat fisiologis, radikal oksigen reaktif berpengaruh dalam berbagai proses sel. Jika antioksidan tidak cukup untuk mempertahankan

batas fisiologis, radikal oksidatif ini dapat menyebabkan kerusakan pada lipid, DNA dan protein (Memon, 2009).

Menurut Miller (1993) dan Mark (1991), etanol mempunyai efek toksik pada tubuh baik secara langsung maupun tidak langsung. Menurut Cohen (2003) dan Sies (1991), metabolisme ethanol secara langsung maupun tidak langsung menyebabkan stress oksidatif sebagai hasil dari ketidakseimbangan antara proses prooksidan dan antioksidan. Efek etanol secara langsung menyebabkan perkembangan stress oksidatif yang berhubungan dengan beberapa radikal bebas misalnya hidroksil dan *hidroxylethyl*, reaktif oksigen spesies (ROS) yang dapat bereaksi dengan protein dan lipid (Cohen, 2003 dan Mansouri, 2001).

Target utama etanol adalah menyebabkan stress oksidatif pada DNA mitokondria dan menghambat sintesis protein yang dikode oleh DNA mitokondria (Hoek, 2002). Pengaruh etanol terhadap stress oksidatif secara tidak langsung disebabkan oleh lemahnya system ketahanan enzimatis antioksidan intraseluler : glutathione peroksida (GSH-Px), katalase, superoksida dismutase (SOD) dan air atau molekul antioksidan yang larut dalam lemak rendah (vitamin C, vitamin E, glutathione, selenium) (Sies, 1991 dan Navasumrit, 2000).

Keutuhan struktur membran tergantung pada protein dan lipid yang menyusunnya. Pelarut organik misalnya etanol dapat merusak struktur tersebut dan menyebabkan gangguan fungsi pada membran yang normal. Pengaruhnya yang lain adalah melepaskan metabolit kecil dari sel dan mengganggu transpor aktif dan metabolisme energi (Miller, 1993). Etanol juga dapat mendenaturasi protein seluler (Mansouri, 2001).

Penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa ion Na^+ , K^+ , dan ATPase dihambat oleh etanol. Etanol mudah sekali masuk melalui membran sel dengan difusi karena sifatnya yang mudah larut dalam air dan lemak, merupakan penghantar listrik yang lemah, dan ukuran molekulnya relatif kecil. Etanol mempengaruhi proliferasi sel yang dikultur, dapat menurunkan jumlah sel yang hidup dengan memperlambat proliferasi sel dan meningkatkan kejadian kematian sel (Hamada, 2002).

Kerusakan sel terjadi karena pengaruh langsung terhadap DNA, protein atau lipid dan secara tidak langsung akibat meningkatnya ion Ca^{2+} intraseluler. Ca^{2+} dapat merangsang protease dan nuclease yang akan merusak DNA dan sitoskeleton, ATP akan makin berkurang sehingga menyebabkan rusaknya sel (Cotran, 1995).

Kerusakan sel akibat etanol disebabkan interaksinya dengan membran yang akan menyebabkan terpengaruhnya fungsi membran dalam menyampaikan signal antar sel. Etanol merangsang terbentuknya asetaldehide serta menurunnya rasio NAD^+/NADH . Meningkatnya konsentrasi Ca^{2+} menyebabkan kerusakan sitoskelet dan menurunnya ATP sehingga menyebabkan *blebs* (Pospos, 2005). Pemberian etanol pada isolat hepatosit menyebabkan perubahan yang besar pada permukaan sel berupa penonjolan (*blebs*). Penyebab terbentuknya *blebs* adalah akibat terganggunya stabilitas membran sel (Hasky, 1978).

Penelitian Holguin (1998) menunjukkan bahwa etanol mengurangi tingkat sintesis glutathione dalam sel alveolar tipe II sehingga mengganggu sel tersebut dalam memproduksi surfaktan. Pasokan radikal bebas dalam jumlah besar dapat

menyebabkan sel alveolar tipe II rentan terhadap kerusakan oksidatif dan membatasi kemampuannya untuk meningkatkan produksi surfaktan. Konsumsi etanol secara signifikan dapat menurunkan kemampuan sel alveolar tipe II dalam sintesis dan sekresi surfaktan dan menurunkan viabilitas sel alveolar tipe II tikus yang dikultur.

2.9 Peran Vitamin E terhadap Proliferasi Sel Paru-Paru Fetus Hamster yang Dipapar Etanol

Sel paru-paru rentan terhadap stres oksidatif sehingga menyebabkan penurunan viabilitas sel. Metabolisme etanol di dalam sel paru-paru akan menghasilkan pasokan radikal bebas yang akan menyerang PUFA pada membran sel. Radikal bebas yang reaktif ini akan menyebabkan stress oksidatif yaitu ketidakseimbangan antara antioksidan dan prooksidan, selanjutnya akan terjadi peroksidasi lipid karena radikal bebas tersebut bereaksi dengan PUFA. Reaksi ini akan terjadi secara berantai dan terbentuklah hidrogen peroksida. Hasil akhir dari peroksidasi lipid yang disebabkan etanol dapat menghasilkan metabolit sekunder, salah satunya adalah malondialdehyd (MDA) (Hillbom, 1999).

MDA yang terbentuk dari peroksidasi lipid (lipid peroxidation) bersifat toksik terhadap sel dan berbeda panjang rantainya (Hariyatmi, 2004). Efek toksik yang terjadi pada sel paru-paru di antaranya terjadi penurunan viabilitas sel, peningkatan abnormalitas sel, dan lambatnya proliferasi sel sehingga kematian sel menjadi meningkat (Hamada, 2002).

Vitamin E merupakan antioksidan yang berada pada lapisan fosfolipid membran sel dan berfungsi melindungi asam lemak tidak jenuh ganda (PUFA)

dan komponen membran sel lain dari oksidasi radikal bebas dengan memutuskan rantai peroksida lipid yang muncul karena adanya reaksi antara lipid dan radikal bebas dengan cara menyumbangkan satu atom hidrogen dari gugus OH pada cincinnya ke radikal bebas, sehingga terbentuk radikal vitamin E yang stabil dan tidak merusak (Hariyatmi, 2004).

