

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Sel Saraf Otak

Sistem saraf tersusun oleh milyaran neuron yang berorganisasi dengan berbagai macam jaringan. Sebagian besar neuron ini berlokasi dalam otak (*brain stem*), dan sumsum tulang belakang (*spinal cord*), sehingga dikenal dengan sistem saraf pusat (Carlsson *et al.*, 2000). Sistem saraf pusat (SSP) terdiri atas otak dan *medula spinalis* yang mengandung sel-sel saraf yang disebut neuron dan sel-sel penyokong yang disebut neuroglia (Fawcett, 2002). Otak merupakan tempat yang paling rentan terhadap kerusakan oksidatif terutama karena mengandung asam lemak tak jenuh ganda, mempunyai kadar oksigen yang tinggi, dan relatif rendah antioksidan (Aksenova, 2005).

Utami (2003) menjelaskan pula bahwa otak merupakan salah satu organ dengan kandungan lemak tinggi (kurang lebih 80%) sehingga otak rentan terhadap serangan radikal bebas. Otak fetus yang baru berkembang lebih rentan terhadap efek neurotoksik misalnya dalam kondisi prooksidatif pada paparan etanol dengan antioksidan yang rendah dan dapat memicu terjadinya kerusakan oksidatif (Shirpoor *et al.*, 2009).

2.1.1 Karakteristik Sel Saraf Otak

Sistem saraf terbagi menjadi dua tipe sel, yaitu neuron dan sel pendukung. Neuron merupakan struktur dasar dan unit fungsional pada sistem saraf. Respon

yang terjadi pada neuron diantaranya adalah respon terhadap rangsangan fisika dan kimiawi, penghubung impuls elektrokimia, dan melepaskan regulator kimia. Respon lainnya yang dapat dilakukan oleh neuron adalah menanggapi rangsangan sensori, pendengaran, ingatan, dan mengontrol otot serta kelenjar (Fox, 2004).

Sel Saraf atau *neuron* membentuk sistem saraf yang merupakan sistem kontrol utama yang sebagian besar ditujukan untuk mempertahankan homeostasis. Neuron berperan dalam menghasilkan sinyal listrik dan proses biokimiawi, mampu mengolah, mengkode, dan menghantarkan perubahan-perubahan pada potensial membrannya untuk menyalurkan signal (Sherwood, 1996).

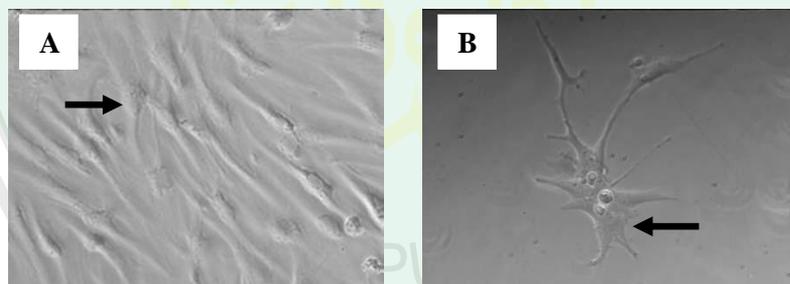
Struktur sel neuron terdiri atas tiga bagian yaitu : 1) Dendrit yang menerima informasi dari sel lain dan mengirimkan pesan ke *cell body* (badan sel); 2) *Cell body* (badan sel) mengandung inti, mitokondria, dan tipe organel lainnya yang termasuk dalam sel eukariotik; 3) Axon menyalurkan pesan yang berasal dari *cell body*, axon dapat berbeda-beda panjangnya dari yang hanya sepanjang milimeter sampai meter (Fox, 2004).

Sel pendukung (*neuroglia*) bekerja untuk mendukung fungsi neuron dan jumlahnya lima kali lebih banyak dibandingkan dengan neuron dalam sistem saraf pusat, sel pendukung ini disebut dengan neuroglia (Fox, 2004). Neuroglia merupakan sel penunjang tambahan pada sistem saraf pusat yang berfungsi sebagai jaringan ikat dan dapat menjalani mitosis selama rentang kehidupannya (Sloane, 2003).

Neuroglia memiliki tipe dan fungsi yang unik, beberapa sel menghasilkan senyawa kimia yang menuntun sel neuron muda ke sambungan yang tepat serta

meningkatkan pertumbuhan neuron (Marieb dan Hoen, 2007). Neuroglia menyusun 40% volume otak dan medula spinalis. Neuroglia jumlahnya lebih banyak dari sel-sel neuron (Feriawati, 2005 dalam Chotimah, 2010).

Neuroglia memiliki peranan penting dalam fungsi normal sistem saraf. Neuroglia meliputi beberapa macam tipe antara lain : astrosit, oligodendrosit, mikroglia dan sel ependim. Astrosit dan oligodendrosit disebut makroglia. Sel neuroglia dianggap tidak membangkitkan potensial aksi, dan tidak membentuk sinaps dengan sel-sel lain, tetapi membentuk mielin akson yang berfungsi dalam pemeliharaan dan viabilitas neuron (Junquiera, 1980). Karakter sel neuroglia dalam sistem kultur, apabila belum konfluen berbentuk seperti fibroblas yang multi polar dan setelah konfluen sel tersebut berbentuk epitelial (sel selapis yang poligonal dengan ukuran yang teratur) (Trenggono, 2009).



Gambar 2.1 (A) Kultur primer astrosit dengan mikroskop fase kontras berbentuk epitelial, (b) morfologi sel kultur primer dengan perbesaran 85x yang mengalami *spreading* sel (penyebaran sel) (Young, *et al.*, 2000)

2.2 Proliferasi Sel Saraf Otak dalam Media Kultur

Proliferasi merupakan proses pertumbuhan meliputi pembelahan sel secara aktif yang bersifat fundamental dan membutuhkan mekanisme regulasi (Albert *et al.*, 1994; Abercrombie *et al.*, 1997). Proses ini berjalan dalam suatu mekanisme

pengontrolan antara pertumbuhan, diferensiasi, dan apoptosis (Lowe dan Lin, 2000). Proliferasi sel terjadi dengan melibatkan peristiwa mitosis yang meliputi kondensasi kromatin, pembentukan benang-benang spindel yang melekatkan kromosom pada mikrotubul spindel (Cooper, 2000).

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 (Albert, 2002 dalam Purnomo, 2009).

Siklus sel secara normal terbagi dalam empat fase, yaitu: (G_1), (S), (G_2), (M) dan diselingi dengan fase istirahat yaitu (G_0). Fase awal dimulai dengan (G_1), pada fase ini sel mulai mempersiapkan untuk melakukan sintesa DNA dan juga melakukan biosintesa RNA dan protein, kemudian dilanjutkan dengan fase S, dimana pada fase ini terjadi replikasi DNA (Pusztai, 1996).

Akhir fase (S), sel telah berisi DNA ganda dan kromosom telah mengalami replikasi, setelah fase ini berakhir sel masuk dalam fase pra-mitosis (G_2) dengan ciri: sel berbentuk tetraploid, mengandung DNA dua kali lebih banyak dari pada sel fase lain dan masih berlangsungnya sintesis RNA dan protein. Sewaktu mitosis berlangsung fase (M) sintesis protein dan RNA berkurang secara tiba-tiba, dan terjadi pembelahan menjadi dua sel, selanjutnya sel memasuki fase istirahat (G_0) (Pusztai, 1996).

Panjang satu siklus bervariasi tergantung sumber dan tipe sel, namun secara umum dalam sistem kultur, panjang siklus sel dari berbagai tipe sel hampir

sama, yaitu berkisar antara 18-24 jam pada sel mamalia. Panjang siklus sel dalam sistem kultur (*generation time*) dapat ditentukan dengan cara menghitung jumlah sel di bawah mikroskop pada interval waktu tertentu (Freshney, 2000).

2.2.1 Fase Pertumbuhan Sel Saraf Otak dalam Kultur

Pertumbuhan sel dalam sistem kultur secara umum dibagi dalam 3 fase yaitu : *Lag Phase* merupakan waktu proses subkultur dan *reseeding*, yaitu masa dimana belum terdapat peningkatan jumlah sel. Pada masa tersebut konsentrasi sel adalah sama atau hampir sama dengan konsentrasi pada waktu subkultur (10^4 sel/ml). Fase ini disebut sebagai periode adaptasi, dimana sel mengganti elemen-elemen *glycocalyx* yang hilang pada waktu tripsinasi, pelekatan pada substrat dan penyebaran sel (Budiono, 2002).

Log phase merupakan periode peningkatan jumlah sel secara eksponensial dan saat pertumbuhan mencapai konfluen, proliferasi akan terhenti setelah 1 atau 2 siklus berikutnya. Waktu *Log phase* tergantung pada konsentrasi awal sewaktu dilakukan *seeding*, kecepatan pertumbuhan sel, serta kepekatan dimana proliferasi sel akan terhambat oleh kepekatan (Budiono, 2002). Pertumbuhan sel kultur pada fase ini akan mencapai 90%-100% dan kultur dalam fase ini adalah dalam keadaan sangat produktif, selain itu fase ini merupakan waktu yang optimal untuk sampling karena populasi sel sangat seragam dan viabilitasnya tinggi (Freshney, 2000).

Plateu phase, fase ini mendekati akhir dari log phase, kultur menjadi konfluen yaitu permukaan substrat untuk pertumbuhan sel sudah terpenuhi dan sel

saling berhubungan dengan lingkungan sekitarnya. Setelah mencapai konfluen kecepatan tumbuhnya akan berkurang, dan pada tahap ini kultur mencapai tahap stationari, dan fraksi pertumbuhan akan turun mencapai 0%-10% (Budiono, 2002).

2.2.2 Kerusakan, Abnormalitas, dan Viabilitas Sel Saraf Otak

Sel kultur pada dasarnya memerlukan suatu kondisi yang seimbang untuk kemampuannya dalam berproliferasi. proliferasi sel merupakan pengukuran jumlah sel yang tumbuh dan membelah dalam medium kultur sel secara *in vitro*. Proses ini dapat diketahui dengan adanya viabilitas, konfluenitas dan abnormalitas pada sel kultur.

Viabilitas sel dapat didefinisikan sebagai jumlah sel-sel yang mampu berkembang dalam medium kultur dan mampu untuk konfluen dalam jangka waktu tertentu sesuai dengan tipe-tipe sel. Konfluenitas sel merupakan tumbuhnya sel secara homogen atau meratanya sel sebagai sel monolayer sampai menutupi *cover glass* (Wulandari, 2003).

Pengujian viabilitas sel sering digunakan pada sel yang terisolasi misalnya pada sel primer dan dipelihara dalam kultur untuk menentukan kondisi kultur optimal untuk populasi sel, viabilitas yang dapat digunakan untuk pengujian atau penelitian yang merupakan parameter utama untuk mempelajari respon sel hewan, yang dapat mendekati cara pengujian *in vivo*. Pada umumnya uji viabilitas sel didasarkan pada kerusakan membran, karena sel dengan membran rusak dan sel mati akan mengambil zat warna, sedangkan membran sel normal bersifat

impermeabel terhadap zat warna. Kerusakan sel merupakan perubahan atau gangguan yang dapat mengurangi viabilitas sel. Kerusakan sel dapat dilihat jika sel mengelupas dari substrat dan tidak berlekatan antar sel dengan menggunakan mikroskop inverted (Trenggono, 2009).

2.3 Peran Vitamin E sebagai Antioksidan terhadap Proliferasi Sel Saraf Otak

Antioksidan merupakan agen protektif yang menonaktifkan spesies oksigen reaktif (ROS) sehingga secara signifikan dapat mencegah kerusakan oksidatif (Stiphanuk, 2000). Antioksidan dapat bekerja sebagai antioksidan pencegah, dengan cara mencegah terjadinya radikal hidroksil dan terhimpunnya senyawa-senyawa oksidan berlebihan, serta antioksidan pemutus rantai, mencegah reaksi rantai berlanjut dengan memutus rantai oksidan (Suryohudoyo, 2000 dan Bast, 1991).

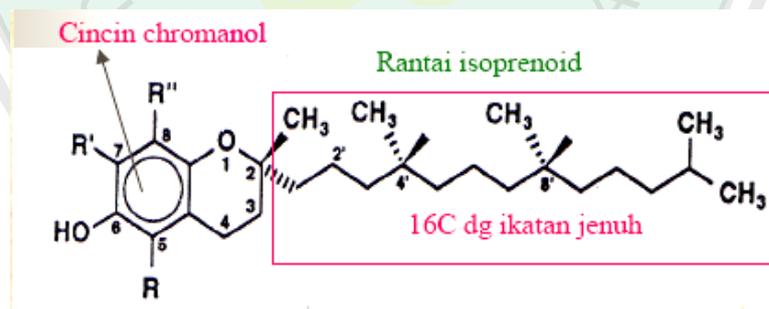
Oksidan adalah senyawa penerima elektron (*electron acceptor*), yaitu senyawa-senyawa yang dapat menarik elektron. Oksidan dapat mengganggu integritas sel karena dapat bereaksi dengan komponen-komponen sel yang penting untuk mempertahankan kehidupan sel, baik komponen struktural (misalnya, molekul-molekul penyusun membran) maupun komponen-komponen fungsional (misalnya, enzim-enzim dan DNA) (Fessenden dan Fessenden, 1986).

Antioksidan dapat menghambat atau menurunkan oksidasi dengan dua cara, yaitu dengan menangkap radikal bebas, disebut antioksidan primer dan tidak melibatkan penangkapan radikal bebas secara langsung, disebut antioksidan

sekunder. Antioksidan primer termasuk komponen *fenolik* seperti vitamin E (*α-tocopherol*) (Goodman's dan Gillman's, 1991).

Vitamin E merupakan istilah umum bagi delapan macam substansi alami yang bersifat lemak, yaitu : 4 *tokoferol* dan 4-*tokotrienol*. Diantara delapan macam substansi tersebut substansi *α-tokoferol* adalah jenis yang mempunyai aktivitas biologi yang tertinggi dan terdapat dalam jumlah besar dalam jaringan tubuh (Goodman's dan Gillman's, 1991).

Laidlaw dan Swendseid (1991) menjelaskan istilah vitamin E (*α-tokoferol*) merupakan vitamin yang larut dalam lipid, terdiri atas sebuah cincin aromatik dan 16 rantai samping karbon *phytyl* yang merupakan molekul *hidrofobik* sehingga bekerja secara langsung pada bagian dalam membran. Peran biologis yang utama dari vitamin E adalah sebagai antioksidan fisiologis, khususnya menghambat oksidasi *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) pada fosfolipid dalam membran sel (Loegito, 1985).



Gambar 2.3 Struktur kimia vitamin E (Hariyatmi, 2004)

Vitamin E merupakan antioksidan yang mampu melindungi sel dari radikal bebas baik secara *in vivo* dan *in vitro* (Olson, 2000). Finch dan Turner (2004) menjelaskan bahwa vitamin E merupakan antioksidan pencegah oto-

oksidasi pada asam lemak tak jenuh, dan menghambat timbulnya peroksidasi lipid pada membran sel. Peroksidasi lipid merupakan reaksi penyerangan radikal bebas terhadap asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) yang mengandung sedikitnya tiga ikatan rangkap (Halliwell, 1994).

Vitamin E merupakan vitamin yang dapat mencegah terjadinya kerusakan oksidatif pada jaringan lemak otak dan menghambat terjadinya reaksi berantai lipid peroksidasi pada membran neuron (Halliwell, 2002). Selain itu Bursell *et al.*, (1999) menyatakan bahwa vitamin E dapat melindungi membran sel neuroglia dari berbagai zat toksik dan polutan, sehingga neuroglia terlindungi dari zat perusak yang mungkin terdapat pada otak. Vitamin E berperan sebagai *neuroprotective* yang meningkatkan daya hidup neuroglia (Pace *et al.*, 2003).

Penelitian Steele (1990) menerangkan bahwa penambahan vitamin E pada media kultur dapat meningkatkan proses penempelan eksplan mencit secara *in vitro* dan hal tersebut dibuktikan dengan pewarnaan serta terlihat adanya peningkatan viabilitas embrio mencit. Dijelaskan pula oleh Shirpoor (2009), bahwa peran vitamin E pada media kultur mampu meningkatkan proliferasi hippocampus dan cerebellum tikus dari stres oksidatif akibat induksi etanol.

Penelitian Then (2009) menerangkan bahwa konsentrasi vitamin E (α -*tokoferol*) 10 μM dapat meningkatkan viabilitas kultur primer saraf cerebellar pada tikus. Olson *et al.*, (2000) dalam penelitiannya menjelaskan pula bahwa pada kultur embrio sapi konsentrasi vitamin E 100 μM mampu meningkatkan perkembangan embrio yang diproduksi *in vitro*.

2.3.1 Hubungan Vitamin E sebagai Antioksidan dengan Radikal Bebas.

Radikal bebas didefinisikan sebagai atom yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan (Fessenden dan Fessenden, 1982). Radikal bebas cenderung sangat reaktif mencari pasangannya berupa molekul lain di dalam sel (Winarsi, 2007). Radikal bebas cenderung membentuk radikal yang baru lagi apabila menjumpai molekul lain, sehingga terjadi reaksi rantai (*chain reaction*) dan bersifat merusak.

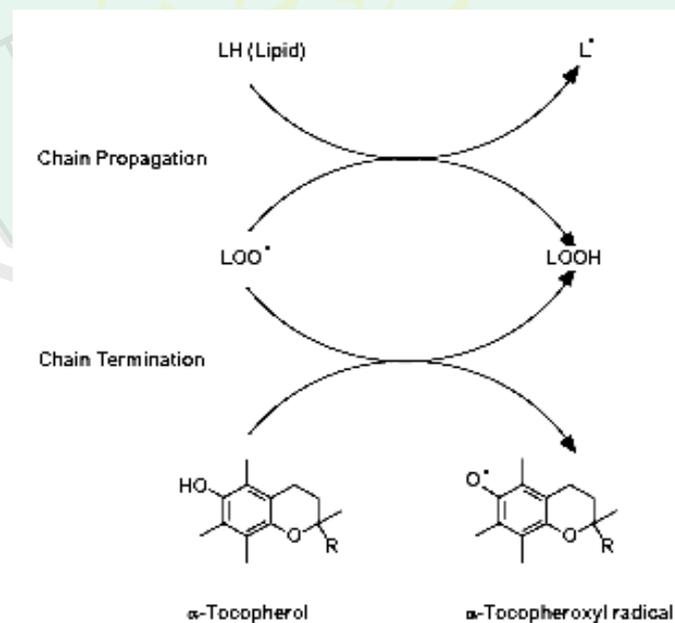
Reaksi rantai tersebut dapat berhenti oleh suatu peredam, salah satunya adalah vitamin E, radikal vitamin E tidak terlalu reaktif, sehingga dapat berfungsi sebagai peredam (Percival, 1998). Mekanisme vitamin E dalam aktivitasnya sebagai antioksidan berkaitan dengan kemampuannya untuk memindahkan *hidrogen fenolat* yang ada pada atom karbon ke-6 cincin kromanol kepada radikal bebas peroksil dari asam lemak tak jenuh ganda yang telah mengalami peroksidasi (Kumala, 1996).

Vitamin E berada di dalam lapisan fosfolipid membran sel dan berfungsi melindungi asam lemak tak jenuh ganda dan komponen membran sel lain dari oksidasi radikal bebas dengan memutuskan rantai peroksida lipid yang banyak 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).

Menurut Traber *et al.*, (2007), vitamin E berperan dalam menangkap radikal peroksil yang berfungsi untuk menjaga integritas dari rantai panjang asam

lemak tak jenuh ganda pada membran sel sehingga dengan demikian dapat mempertahankan bioaktivitas sel. Vitamin E mampu memperlambat berlangsungnya reaksi peroksidasi karena kemampuannya dalam menangkap radikal bebas dan memutus reaksi peroksidasi dengan melepaskan ion hidrogen bersama elektronnya (Sulaeiman *et al.*, 1996).

Mekanisme penghambatan peroksidasi lipid oleh vitamin E dimulai pada saat lipid (LH) kehilangan satu hidrogen dan menjadi produk radikal ($L\cdot$), yang bereaksi dengan oksigen bebas untuk menghasilkan *radikal peroksil* ($LOO\cdot$), dengan adanya reaksi *radikal peroksil* selanjutnya akan diikuti reaksi berantai, hal ini sering terjadi misalnya dalam selaput sel yang dapat mengganggu integritas struktural membran. Vitamin E dapat mengganggu reaksi berantai oleh interaksi dengan *peroksil lipid* membentuk *radikal hidroperoksida* ($LOOH$). Gambar 2.3 berikut menjelaskan mekanisme peroksida lipid oleh vitamin E (Landes, 2005).



Gambar 2.3 Mekanisme penghambatan peroksidasi lipid oleh vitamin E (Landes, 2005)

Oksidasi lipid terjadi melalui 3 tahapan, yaitu : inisiasi, propagasi, dan terminasi. Reaksi inisiasi terjadi di antara asam lemak tidak jenuh dengan radikal hidroksil. Peroksidasi lipid merupakan inisiasi reaksi berantai oleh radikal hidrogen atau oksigen, yang menyebabkan teroksidasinya asam lemak tak jenuh ganda (PUFA). Asam lemak tidak jenuh ganda lebih rentan terhadap reaksi radikal bebas dibandingkan asam lemak jenuh. Jembatan metilen yang dimiliki PUFA merupakan sasaran utama bagi radikal bebas, yang akan membentuk radikal alkil, peroksil, dan alkoksil (Winarsi, 2007).

2.4 Metabolisme Etanol dalam Sel

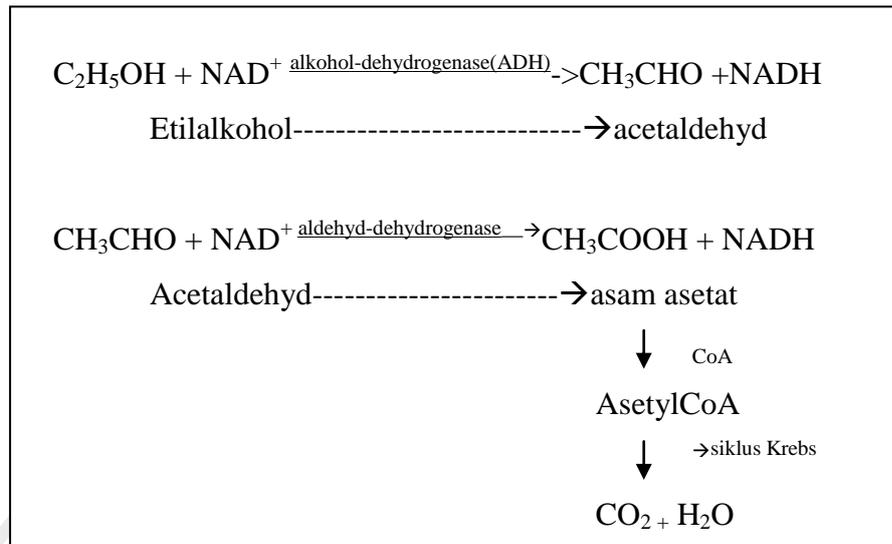
Etanol atau *etil alkohol* lebih dikenal sebagai alkohol merupakan senyawa organik golongan alkohol primer dengan rumus kimia C_2H_5OH . Sifat fisik dan kimia etanol bergantung pada gugus *hidroksil*. Reaksi yang dapat terjadi pada etanol antara lain dehidrasi, dehidrogenasi, oksidasi, dan esterifikasi (Rizani, 2000). Etanol memiliki titik didih $78^\circ C$, tekanan uap 44 mmHg pada temperatur $20^\circ C$ (Dreisbach, 1971). Disamping itu, etanol merupakan cairan jernih tak berwarna, mudah menguap, larut dalam air dalam semua perbandingan dan bersifat *hipnotik* (Joewana, 1989).

Metabolisme alkohol pada sel meliputi berbagai serangkaian proses biokimia. Terdapat tiga jalur metabolisme alkohol dan melibatkan enzim, sebagai berikut : Alkohol dehidrogenase, sistem oksidasi etanol mikrosoma (MEOS) dan katalase. Masing-masing jalur dapat menghasilkan radikal bebas yang mempengaruhi sistem oksidan (Kumar *et al.*, 2005).

Menurut Zakhari (2006), metabolisme alkohol melibatkan 3 jalur. Pertama, Jalur Sitosol/Lintasan Alkohol Dehidrogenase. Jalur ini adalah proses oksidasi dengan melibatkan enzim alkohol dehidrogenase (ADH) dan memerlukan kovaktor NAD (*nicotinamid adenin dinucleotida*). Proses oksidasi dengan menggunakan ADH terutama terjadi di dalam hati. Metabolisme alkohol oleh ADH akan menghasilkan asetaldehid. Asetaldehid merupakan produk yang sangat reaktif dan sangat beracun sehingga menyebabkan kerusakan beberapa jaringan atau sel.

Tahap Kedua, jalur peroksisom atau sistem katalase. Sistem ini berlangsung di dalam peroksisom dengan menggunakan katalase dan diperlukan H_2O_2 . Acetaldehyd diubah menjadi asam asetat oleh enzim aldehid dehydrogenase juga dibantu oleh kovaktor NAD (Zakhari, 2006).

Tahap Ketiga, Jalur Mikrosom. Jalur ini juga sering disebut dengan sistem SOEM (Sistem Oksidasi Etanol Mikrosom). Asam Asetat akan diubah lagi menjadi acetyl coenzim A (CoA), yang kemudian CoA masuk kedalam siklus krebs dan mengalami metabolisme menjadi CO_2 dan H_2O . Pada ketiga jalur tersebut alkohol akan diubah menjadi asetaldehid, kemudian diubah menjadi asetat oleh aldehid dehidrogenase di dalam mitokondria (Zakhari, 2006).



Gambar 2.4 Proses biokimiawi metabolisme etanol (Zakhari, 2006)

2.4.1 Efek Toksik Etanol pada Sel Saraf Otak

Miller dan Mark (1991) menjelaskan bahwa etanol mempunyai efek toksik pada sel baik secara langsung maupun tidak langsung. Para ahli banyak berpendapat mengenai akibat yang ditimbulkan etanol, diantaranya Dreisbach (1971) menyatakan bahwa etanol akan menekan sistem saraf pusat secara tidak teratur tergantung dari jumlah yang dicerna. Etanol dapat menyebabkan kerusakan jaringan melalui peroksidasi lipid dan protein karbonil yang merupakan penanda kerusakan oksidatif yang akan menimbulkan apoptosis dan menyebabkan disfungsi pada otak.

Otak fetus yang baru berkembang lebih rentan terhadap efek neurotoksik misalnya dalam kondisi prooksidatif pada paparan etanol dengan antioksidan yang rendah dan dapat memicu terjadinya kerusakan oksidatif sel otak (Shirpoor *et al.*,

2009). Etanol larut dalam air, sehingga akan benar-benar mencapai setiap sel setelah dikonsumsi (Miller dan Mark, 1991).

Stres oksidatif yang berkaitan dengan metabolisme etanol menyebabkan kerusakan dan fragmentasi DNA mitokondria pada otak, hati, dan otot rangka (Mansouri *et al.*, 2001). 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). Moulder (2002) menjelaskan bahwa pengaruh etanol menyebabkan perubahan neurogenesis, morfologi neuron, dan kematian sel neuron. Selain itu, dijelaskan pula bahwa etanol mempengaruhi kelangsungan hidup neuron hipocampal dalam kultur primer.

Shirpoor (2009) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa metabolisme etanol pada kultur *hipocampus neonatal* tikus meningkatkan protein karbonil yang menyebabkan kerusakan oksidatif dan kerusakan jaringan melalui peroksidasi lipid dalam *in vivo*. Moulder (2002) menjelaskan bahwa pemberian etanol 25 mM dalam kondisi *in vitro* dapat menyebabkan kerusakan *hipocampal postnatal* pada tikus.

Target utama yang menjadi oksidasi etanol yaitu pada membran sel dan terkait dengan kematian sel yang berlebihan. Selain itu, pemberian etanol selama 24 jam sudah mampu menunjukkan pengaruh terhadap mobilitas lateral membran lipid pada kultur primer *neural cranial* mencit dan menurunkan viabilitas sel (Chen *et al.*, 1996). Pada daerah membran tersebut etanol mengganggu transport

ion, dalam kondisi *in vitro* etanol mampu menghambat ion-ion seperti Na^+ , K^+ , dan ATPase (Shirpoor *et al.*, 2009).

Penggunaan Etanol baik secara akut atau kronis dapat menyebabkan kerusakan pada sel saraf secara langsung. Efek dari etanol ini dapat dibuktikan dalam penelitian yang terkait kultur *in vitro* oleh Castilla (2005) pemberian etanol 10 mmol/L dapat meningkatkan nekrosis, apoptosis dan fragmentasi DNA dalam kultur sel hepatosit tikus dan manusia. Stanczyk *et al.*, (2005) menjelaskan bahwa pemberian etanol pada sel fibroblas sebesar 0,3 mM selama 24 jam mampu meningkatkan stres oksidatif. Beberapa hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa kerusakan yang ditimbulkan oleh etanol telah dijelaskan dalam Firman Allah Swt. Alqur'an surat al-Baqarah ayat 219 dan dalam hadist riwayat muslim dari Ibn Umar bahwa penggunaan etanol secara berlebihan lebih banyak mendatangkan kemudharatan daripada kemaslahatan.

Firman Allah Swt. dalam alqur'an dan hadits tersebut menerangkan bahwa tidak ada sesuatu hal yang memabukkan kecuali *khamr* yang mudharatnya lebih besar dibandingkan maslahatnya, kemudharatan yang dimaksud dibuktikan oleh beberapa ahli *sains* terhadap dampak negatif akibat penggunaan etanol dengan konsentrasi yang rendah telah mampu menimbulkan kerusakan pada sel yang berakhir pada disfungsi sel khususnya sel saraf.

2.4.2 Hubungan Etanol, Radikal Bebas dan Kerusakan Sel Saraf Otak.

Metabolisme etanol baik secara langsung atau tidak menginduksi adanya stres oksidatif karena adanya hasil yang tidak seimbang antara proses prooksidatif

dan antioksidatif baik *in vivo* maupun *in vitro*. Ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan berpotensi menyebabkan kerusakan yang disebut stres oksidatif. Stres oksidatif (*oxidative stress*) adalah suatu keadaan dimana tingkat oksigen reaktif yang toksik melebihi pertahanan antioksidan endogen (Stanczyk *et al.*, 2005).

Senyawa oksigen reaktif (ROS) merupakan senyawa radikal yang dapat menyerang berbagai substrat dalam tubuh termasuk lipid, asam nukleat, dan protein, yang dapat memicu timbulnya penyakit-penyakit degeneratif (Borek, 2001). Keadaan ini mengakibatkan kelebihan radikal bebas, yang akan bereaksi dengan lemak, protein, asam nukleat seluler, sehingga terjadi kerusakan lokal dan disfungsi sel saraf otak (Halliwell, 1987).

Peningkatan radikal bebas akibat alkohol juga terjadi melalui mekanisme enzim *inducer*. Alkohol akan menginduksi sitokrom P-450 sehingga enzim tersebut meningkat. Enzim sitokrom P-450 dapat meningkatkan radikal bebas secara langsung dengan membentuk radikal superoksid, maupun secara tidak langsung melalui NADPH (Beckman dan Ames, 1998).

Metabolisme etanol oleh ADH akan menghasilkan asetaldehid. Asetaldehid merupakan produk yang menyebabkan terjadinya kerusakan sel. Hal tersebut disebabkan asetaldehid reaktif dan menyerang senyawa-senyawa *nukleofil* (Pospos, 2002). Kerusakan sel akibat etanol disebabkan interaksinya dengan membran yang akan menyebabkan terpengaruhnya fungsi membran dalam menyampaikan signal antar sel (Pospos, 2002).

Diduga etanol merangsang terbentuknya asetaldehide serta menurunnya rasio $\text{NAD}^+ / \text{NADH}$. Meningkatnya konsentrasi Ca^{2+} menyebabkan kerusakan sitoskelet dan menurunnya ATP meningkatkan terbentuknya *blebs*. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian pada tikus obese yang dipapar alkohol. Pada penelitian tersebut terjadi apoptosis dan kerusakan jaringan hepar, karena adanya stres oksidatif (Pospos, 2002).

Pembentukan *blebs* erat kaitannya dengan perubahan konsentrasi ion Ca^{2+} di dalam sel. Mekanisme pembentukan *blebs* berhubungan dengan konsentrasi ATP. Bila dikaitkan dengan pengaruh Ca^{2+} terhadap pembentukan *blebs*, maka penurunan konsentrasi ATP dikarenakan meningkatnya konsentrasi Ca^{2+} di dalam sitosol berkaitan dengan transport dari luar sel ke dalam sel (Pospos, 2002). Pemberian etanol pada isolat hepatosit dilaporkan menyebabkan perubahan yang besar pada permukaan sel berupa penonjolan (*blebs*) (Rao *et al.*, 1982). Beberapa peneliti menduga bahwa penyebab terbentuknya *blebs* adalah akibat terganggunya stabilitas sel membran yang mempengaruhi kestabilan sitoskelet (Pospos, 2002).