

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK *CURCUMA LONGA* DENGAN TINGKAT TOKSISITAS PARASETAMOL PADA GASTER, HEPAR DAN RENAL MENCIT JANTAN GALUR SWISS

Cindy Tamara Widagdo, Pingkan Naibaho, Tejo Jayadi, Sulanto Saleh Danu
Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wanaca

Korespondensi: jeremytejo1@yahoo.com

ABSTRAK

Latar Belakang: *Curcuma longa* dikatakan memiliki aktifitas hepatoprotektor, renoprotektor dan antiinflamasi terhadap dosis toksik parasetamol. Mengingat pemakaian jangka pendek dan jangka panjang, dan prevalensi toksisitas overdosis parasetamol semakin meningkat, perlu diteliti apakah *Curcuma longa* memproteksi kerusakan lambung, hepar dan renal sehingga dapat bersinergi dengan pengobatan overdosis parasetamol.

Metode Penelitian: Penelitian ini adalah eksperimental murni dengan rancangan acak lengkap (*completely randomized design*), menggunakan 36 ekor mencit jantan galur swiss. Dibagi 6 kelompok yaitu kontrol negatif, kontrol sham, kontrol positif, perlakuan satu, dua dan tiga. Tiga dosis ekstrak *Curcuma longa* terpurifikasi etil asetat 65 mg/kgBB, 487mg/kgBB dan 1040mg/kgBB diberikan selama 14 hari, dilanjutkan dosis toksik parasetamol 520 mg/kgBB selama 7 hari. Pemeriksaan serum SGOT, SGPT, ureum, kreatinin dan histopatologi lambung, hepar, renal untuk menilai apakah ekstrak *Curcuma longa* dapat memberikan proteksi kerusakan lambung, hepar dan renal dari akibat pemberian parasetamol dosis toksik.

Hasil dan Diskusi: Hasil pemeriksaan SGOT ($p = 0,233$), SGPT ($p = 0,004$), ureum ($p = 0,19$), kreatinin ($p = 0,009$) dan histopatologi lambung ($p = 0,00$), hepar ($p = 0,00$), dan renal ($p = 0,00$) menunjukkan ekstrak *Curcuma longa* terpurifikasi etil asetat memberikan efek toksik yang simultan dengan dosis toksik parasetamol. Efek toksik ini dapat dijelaskan karena bioavailabilitas curcumin dalam ekstrak *Curcuma longa* rendah sehingga pengaruh terhadap dosis toksik parasetamol dalam hepatosit diragukan, meningkatkan efek sitotoksitas, dan menurunkan ekskresi metabolit toksik parasetamol.

Kesimpulan: Ekstrak *Curcuma longa* tidak memproteksi toksisitas terhadap gaster, hepar dan renal dari pemberian parasetamol dosis toksik pada mencit galur Swiss.

Kata Kunci: ekstrak *Curcuma longa* terpurifikasi etil asetat, parasetamol, gaster, hepar, renal, SGOT, SGPT, ureum, kreatinin

THE EFFECT OF CURCUMA LONGA EXTRACT PRETREATMENT WITH TOXIC DOSE OF PARACETAMOL IN GASTER, HEPAR AND RENAL OF MALE MICE STRAIN SWISS

Cindy Tamara Widagdo, Pingkan Naibaho, Tejo Jayadi, Sulanto Saleh Danu
Medical Faculty of Duta Wacana Christian University

Correspondence: jeremytejo1@yahoo.com

ABSTRACT

Background: *Hepatoprotector, nephroprotector and antiinflamasion of Curcuma longa extract against toxic dose of paracetamol is questionable. The use of short term and long term of paracetamol, and the rise of toxicity prevalence of toxic dose of paracetamol, is necesery to study whether Curcuma longa have gaster, hepar and renal protection against toxic dose of paracetamol.*

Method: *This research is a true experimental study with a completely randomized design, use 36 mice strain swiss. Subjects were divided into 6 groups, negative control, sham control, positive control, treatment 1,2, and 3. Three dose of Curcuma longa extract purified with etil asetat 65 mg/ kg BW, 487mg/ kg BW dan 1040mg/ kg BW for 14 days, and then toxic dose of paracetamol 520 mg/ kg BW for 7days. Examination of SGOT, SGPT, ureum, creatinine serum and gaster, liver and renal histopathology to asses protection property of Curcuma longa extract.*

Result and Discussion: *The result of serum of SGOT ($p = 0,233$), SGPT ($p = 0,004$), ureum ($p = 0,19$), creatinine ($p = 0,009$) and histopathology of gaster ($p = 0,00$), liver ($p = 0,00$), and renal ($p = 0,00$) showed that purified etil asetat of Curcuma longa extract have simultaneous toxic property with toxic dose of paracetamol. This toxic can explain because bioaviability of curcuminoid in Curcuma longa extract is low, so the influence to toxic dose of parasetamol in hepatocyte is doubtful, can rise cytotoxic effect and lowering toxic metabolit of paracetamol excretion.*

Conclusion: *Curcuma longa extract does not protect against gastric toxicity, hepatic toxicity, nephrotoxicity induced by toxic dose of paracetamol in mice strain Swiss.*

Keywords: *Etil acetate purified of Curcuma longa extract, paracetamol, gaster, liver, renal, SGOT, SGPT, ureum, creatinine*

PENDAHULUAN

Curcuma longa (kunyit) mengandung curcumin (diferuloylmethane) sekitar 60%, desmethoxycurcumin, monodemethoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin, dihydrocurcumin dan cyclocurcumin. Curcumin merupakan komponen pewarna kuning dan terdiri dari curcumin I sebesar 94%, curcumin II sebesar 6% dan curcumin III sebesar 0,3%. Serbuk *Curcuma longa* meningkatkan sekresi musin pada hewan coba kelinci oleh karena itu, *Curcuma longa* berperan sebagai substansi yang memproteksi agen iritan, memberikan efek proteksi terhadap agen penyebab ulkus misalnya fenilbutason, memblokir ulkus gaster diinduksi oleh indometasin, etanol dan stress pada hewan coba tikus. Pada penelitian yang dilakukan di Jepang, *Curcuma longa* merupakan hepatoprotektif terhadap CCl₄ (*Carbon tetrachloride*). *Curcuma longa* juga sebagai nefroprotektif yang merestorasi kerusakan fungsi renal akibat adriamycin.¹

Kerusakan renal akibat parasetamol membahayakan jiwa penderita oleh karena itu, antidotum atau obat untuk tatalaksananya menjadi penting. Meskipun *Acetylcysteine* (NAC), suatu prekursor GSH (*Glutathione*), memproteksi hepatotoksisitas parasetamol, tidak memproteksi kerusakan renal karena parasetamol. Pemberian *curcumin* meningkatkan level GSH dan GSH-Px (*phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase*), aktivitas CAT (*Catalase*) dan SOD (*Superoxide dismutase*) pada jaringan renal. Kemampuan curcumin menurunkan kerusakan membran berhubungan dengan pengikatan agen-agen penginisiasi peroksida lipid. *Curcumin* dapat mencegah nefrotoksisitas karena parasetamol bergantung pada kemampuannya mengeliminasi radikal

hidroksil, radikal superoksida, NO (*Nitric oxide*), menghambat pembuatan radikal superoksida.²

Curcuma longa adalah herbal kaya polifenol telah lama digunakan di India dalam pengobatan *Ayurveda* dan di Cina dalam *traditional Chinese medicine*, sebagai obat tradisional menunjukkan aktivitas antikarsinogenik, antimikrobal, antioksidan, antiinflamasi. Selain itu juga menunjukkan aktifitas hepatoprotektor, nefroprotektor. *Curcumin* yang terkandung dalam *Curcuma longa* sangat aman meskipun diberikan dalam dosis besar pada hewan coba.³ Berdasarkan uraian di atas, peneliti bertujuan meneliti efek protektif *curcumin* yang terkandung dalam *Curcuma longa* pada kerusakan gaster, hepar, dan renal akibat pemberian parasetamol dosis tinggi.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan jenis metode penelitian eksperimental murni dengan rancangan acak lengkap (*completely randomized design*) dikelompokkan secara random acak lengkap. Populasi penelitian ini adalah 36 mencit jantan galur Swiss yang diperoleh dari UHP UGM dengan kriteria inklusi, adalah berumur 2-3 bulan dengan berat badan 25-30 gram.

Aklimatisasi hewan coba berlangsung selama 14 hari, yaitu untuk membiasakan mencit hidup dalam lingkungan dan perlakuan yang baru, serta untuk membatasi pengaruh lingkungan dalam percobaan. Setiap hari mencit diberi makan dan minum secukupnya disertai dengan pengamatan umum, yaitu mencit yang tampak sakit tidak diikutsertakan dalam penelitian. Kriteria eksklusi, adalah aktifitas berkurang, lebih banyak diam, serta bulu berdiri. Dilakukan pula pemeriksaan bobot setiap 2 hari.

Setelah diaklimatisasi, hewan coba dialokasikan secara acak ke dalam kelompok perlakuan. Dibuat 36 gulungan kertas, setiap gulungan kertas ditulis nomor perlakuan A1, A2, A3 ... F5, F6.

Pada penelitian ini digunakan tiga kontrol yaitu kontrol positif pemberian parasetamol 13 mg/25 gramBB selama 7 hari tanpa pemberian ekstrak *Curcuma longa*, kontrol negatif hanya diet ad libitum selama 21 hari, kontrol sham diberikan ekstrak kurkuma longa 12 mg/25 gramBB selama 14 hari. Ada 3 perlakuan diberikan ekstrak *Curcuma longa* 2 mg/25 gram BB, 12 mg/25 gram BB, 26 mg/25 gramBB selama 14 hari dan pada hari ke 15 masing-masing diberikan parasetamol 13 mg/25 gram BB selama 7 hari. Pemberian parasetamol pada penelitian yang dilakukan oleh Santoso selama 7 hari dengan dosis 500 mg/kgBB/Hari.⁴

Untuk *blinding*, laboran yang membantu penelitian di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu IV – UGM tidak mengetahui obat parasetamol dan ekstrak *Curcuma longa* yang digunakan dalam perlakuan. Peneliti memberi parasetamol diberi kode larutan A, ekstrak *Curcuma longa* dosis 2 mg/25 gramBB diberi kode larutan B, 12 mg/25 gramBB diberi kode larutan C, 26 mgBB/25 gramBB diberi kode larutan D.

Curcuma longa diekstraksi dengan cara maserasi memakai pelarut etanol dan dipurifikasi etil asetat. Kadar curcuminoid dihitung dengan kolumkromatografi. Pembuatan ekstrak *Curcuma longa* dan sirup parasetamol, serta penghitungan kadar curcuminoid, dilakukan di LPPT I UGM. Pemberian ekstrak *Curcuma longa* dan sirup parasetamol diberikan peroral dengan sonde.

Setelah mendapatkan perlakuan, mencit dikorbankan

dengan cara inhalasi eter. Darah yang diambil dari pembuluh darah retroorbital. Pembuatan preparat histopatologi gaster, hepar, dan renal dengan pewarnaan H&E dilakukan di Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UGM. Preparat dianalisis dengan metode *blinding* oleh peneliti.

Pengukuran kadar SGOT, SGPT, ureum, kreatinin serum dilakukan di LPPT 1 UGM dengan menggunakan metode standar. Nilai SGOT, SGPT, ureum, dan kreatinin dihitung secara kuantitatif dengan skala ratio. Penelitian ini mengukur tingkat kerusakan dan proteksi gaster, hepar, dan renal berdasarkan parameter morfologi. Penilaian histomorfologi kerusakan lambung karena NSAID menjadi tiga skala, yaitu: nilai 1) Epitel superfisial intak, lamina propria udem, struktur kapiler kongesti dan dilatasi, ekstrasvasi eritrosit dan bekuan fibrin sedikit, nilai 2) Erosi fokal tersebar multiple +1, nilai 3) Hilangnya epitel superfisial, adanya materi proteinase pada permukaan epitelium, perdarahan difus dalam lamina propria, nekrosis iskemia transmural +2.⁵ Kriteria morfologi kerusakan hepar diklasifikasikan sebagai berikut: derajat 0) Histologi normal, derajat 1) Kongesti minimal dan nekrosis hepatosit tunggal, terbatas pada daerah sekitar vena sentrilobuler; umumnya lobulus tidak terkena, derajat 2) Kongesti sedang dan perdarahan pada daerah sekitar vena sentrilobuler dan meluas ke dalam sel-sel midzona, sebagian besar lobulus rusak. Daerah dengan nekrosis terbatas pada sel-sel liver di sekitar vena sentrilobuler, derajat 3) Daerah kongesti dan perdarahan luas dalam sentrilobuler dan daerah midzona hepar. Nekrosis koagulativa tampak jelas melibatkan seluruh hepatosit dalam zona sentrilobuler; banyak didapatkan daerah *bridging necrosis* antara zona sentrilobuler.⁶ Kriteria kelainan morfologi renal dari

Houghton *et al.* (1978), membagi lesi menjadi: 0) normal, 1) daerah degenerasi granulo-vakuoler pada epitel fokal dan debris granuler dalam lumen tubuler, dengan atau tanpa adanya deskuamasi sel epitel tubuler dalam fokus kecil (< 1% dari populasi tubulus mengalami deskuamasi), 2) nekrosis epitel tubuler dan deskuamasi mudah terlihat tetapi kurang dari 50% tubulus kortikal, 3) lebih dari 50% tubulus proksimal menunjukkan deskuamasi dan nekrosis tetapi tubulus masih mudah dilihat, 4) nekrosis tubulus proksimal hampir semua atau semua.²

Unit eksperimental penelitian ini adalah: kandang no. 1 = kelompok kontrol negatif; kandang no. 2 = kelompok kontrol sham; kandang no. 3 = kelompok kontrol positif; kandang no. 4 = kelompok perlakuan satu; kandang no. 5 = kelompok perlakuan dua; kandang no. 6 = kelompok perlakuan tiga.

Dalam penelitian ini akan dicari nilai rata-rata dan simpangan baku dari variabel kuantitatif bila data berdistribusi normal dan dianalisa dengan menggunakan metode *Analysis of Variance* (Anova). Apabila analisis ANOVA menunjukkan ekstrak *Curcuma longa* memberikan pengaruh yang nyata ($p < 0,05$) terhadap respon pengamatan, maka perlu dilanjutkan dengan uji *post hoc* LSD. Pada data semikuantitatif akan diuji beda menggunakan uji statistik nonparametrik *Kruskal-Wallis Anova by Rank*, jika dengan uji tersebut didapatkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

HASIL DAN DISKUSI

Hasil uji *Kruskal-Wallis* pada nilai SGOT ($p = 0,0233$), SGPT ($p = 0,004$), ureum ($p = 0,19$), kreatinin ($p = 0,009$), dan histologi lambung ($p = 0,000$), hepar ($p = 0,00$), dan renal ($p = 0,00$). Berdasarkan hasil tersebut,

analisis akan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Pemberian ekstrak *Curcuma longa* pada kelompok kontrol negatif dan kontrol sham menunjukkan perbedaan kadar SGOT ($p = 0,037$), SGPT ($p = 0,055$), ureum ($p = 0,810$), kreatinin ($p = 0,677$), dan morfologi lambung ($p = 1$), hepar ($p = 1$), dan renal ($p = 1$). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak *Curcuma longa* tidak menimbulkan dampak toksik untuk lambung, hepar, dan renal. Pada kelompok kontrol positif, parasetamol dosis 520 mg/kgBB tidak menimbulkan kenaikan serum SGOT ($p = 0,423$), SGPT ($p = 0,873$), ureum ($p = 0,336$), dan kreatinin ($p = 0,677$), sedangkan pada pemeriksaan histopatologi parasetamol menimbulkan kerusakan morfologi pada lambung ($p = 0,19$), hepar ($p = 0,001$), dan renal ($p = 0,002$). Pada kelompok perlakuan, pemberian ekstrak *Curcuma longa* menunjukkan efek peningkatan serum SGOT kelompok perlakuan 1 ($p = 0,584$), perlakuan 2 ($p = 0,465$), perlakuan 3 ($p = 0,715$) dibandingkan kelompok kontrol positif. Level SGPT serum sedikit meningkat pada kelompok perlakuan 1 ($p = 0,068$), perlakuan 2 ($p = 0,144$), dan menurun pada perlakuan 3 ($p = 0,017$) dibandingkan kelompok kontrol positif. Pada pemeriksaan histopatologi hepar menunjukkan kerusakan lebih berat pada kelompok perlakuan 1 ($p = 0,056$), perlakuan 2 ($p = 0,005$), perlakuan 3 ($p = 0,034$) dibandingkan kontrol positif. Fungsi ginjal menunjukkan perbaikan yang signifikan pada perlakuan 3 dibandingkan kontrol positif. Kadar ureum serum antara kelompok kontrol positif dengan perlakuan 1 ($p = 1$), perlakuan 2 ($p = 0,36$), perlakuan 3: ($p = 0,043$), dan kreatinin serum kelompok kontrol positif dengan perlakuan 1 ($p = 0,056$), perlakuan 2 ($p = 0,04$), perlakuan 3 ($p = 0,056$). Hal ini berlawanan dengan pemeriksaan histopatologi pada renal yang

menunjukkan kerusakan lebih berat pada kelompok perlakuan dibandingkan kontrol positif. Pada morfologi lambung pemberian ekstrak *Curcuma longa* tidak menunjukkan kerusakan morfologi yang lebih berat dibandingkan kelompok kontrol positif dalam berbagai derajat pada semua kelompok perlakuan.

Penelitian ini mendapatkan bukti bahwa efek pemberian ekstrak *Curcuma longa* meningkatkan hepatotoksisitas dan nefrotoksisitas akibat parasetamol. Hasil ini tidak sesuai dengan teori yang menjadi dasar penelitian ini. Studi literatur metabolisme parasetamol dan ekskresinya, efek toksik parasetamol pada hepar, renal, dan lambung, dan dampak negatif dan interaksi obat ekstrak *Curcuma longa*, menelaah kembali metode penelitian akan menjadi pokok pembahasan.

Parasetamol dalam rentang dosis terapi, dimetabolisme oleh hepatosit melalui tiga mekanisme yaitu 52-57% melalui mekanisme *glucuronidation* dikatalisasi oleh enzim UGTs (UDP-glucuronosyltransferase) menjadi APAP (acetyl-para-aminophenol)-*gluc*, 30-44% melalui mekanisme *sulfation* oleh sulfotransferases menjadi APAP *sulfate* (APAP-SO₄), kedua metabolit tersebut terbentuk di hepatosit diekskresikan melalui urin. Sebagian kecil parasetamol, 5-10% dimetabolisme menjadi metabolit aktif *N-acetyl-p-benzoquinoneimine* (NAPQI) oleh enzim sitokrom P450 mikrosomal hati diekskresikan melalui urin dan kurang dari 5% diekskresikan dalam bentuk tidak berubah.^{7,8}

Sitokrom utama yang mengoksidasi parasetamol menyebabkan bioaktivasi metabolit parasetamol adalah CYP2E1, CYP1A2, CYP2A6 dan CYP3A4. *Cytochrome* P450 yang paling berperan dalam metabolisme parasetamol adalah CYP2E1, yang terdapat juga dalam jaringan ekstrahepatik yaitu mukosa

nasal, epitel olfaktorius, paru-paru dan ginjal.^{9,10} NAPQI didetoksifikasi oleh *cysteine containing tripeptide glutathione* (GSH) menjadi *3-(glutathion-S-yl)-APAP*, dikenal sebagai metabolit non toksis.^{10,11} *Acetaminophen-glutathione conjugate* (APAP-GSH) yang terbentuk berlebihan pada intoksikasi parasetamol, dapat menyebabkan deplesi GSH. Ada tiga mekanisme terjadinya toksisitas karena deplesi GSH, pertama terjadi karena aktivasi metabolit parasetamol dengan membentuk ikatan kovalen dari metabolit reaktifnya NAPQI pada gugus residu *cysteine* protein-protein hepatic membentuk *acetaminophen-protein adduct*, kedua agen oksidatif NAPQI bereaksi dengan berbagai macam senyawa menginduksi stress oksidatif, ketiga mekanisme peroksidatif.^{10,11}

Sebagian besar metabolit reaktif parasetamol berikatan melalui reaksi NAPQI dengan protein-protein *cysteinyl sulfhydryl (-SH) groups* menghasilkan *3-(cystein-S-yl)APAP(3-Cys-A)-protein adduct*, atau (APAP-CYS) *acetaminophen-cysteine* dalam hepatosit.^{11,12,13} APAP-CYS *adducts* dideteksi dalam mitokondria, membran plasma, dan sitosol hepatosit.¹²

Penelitian imunohistokimia pada *protein adduct* ini, menunjukkan ada hubungan antara cedera seluler dengan dosis dan waktu.^{11,14,15} Kerusakan hepatosit oleh *protein adduct* ini bersifat progresif, ditemukan pada daerah sentrilobuler yang meluas ke daerah perilobuler. Hubungan proses dari pembentukan *protein adduct* sampai terjadi regenerasi hepatosit, yaitu *protein adduct* ditemukan secara imunohistokimiawi sesaat sebelum terjadi nekrosis sentrilobuler.^{11,16} Lokasi *protein adduct* dalam zona lobuler menurun seiring dengan progresivitas toksisitas, didapatkan *drug-protein binding* dalam hepatosit pada dosis subhepatotoksik dan sebelum deplesi *glutathione hepatic*

total, bukti secara imunohistokimiawi *drug binding* dalam inti sel, *protein adduct* didapatkan dalam hepatosit yang aktif metabolismenya dan aktif membelah dan dalam *macrophage like cells* dalam proses regenerasi liver.¹¹ *Drug binding proteins* tersebut adalah protein kelompok *cysteine*.¹⁶ *Protein adduct* ini diketahui tidak berdampak langsung terhadap nekrosis hepatosit, tetapi melalui mekanisme interaksi dengan protein- protein sitosolik, mitokondria dan nukleus.^{16,17} Ketika hepatosit mengalami lisis, *protein adduct*, SGOT, dan SGPT dilepaskan ke dalam pembuluh darah. Konsentrasi *protein adduct* dalam serum berhubungan dengan toksisitas, tetapi dalam dosis terapeutik juga dapat terdeteksi.^{14,15}

NAPQI merupakan agen pengoksidasi yang dapat menginduksi stress oksidatif, melalui akumulasi dan peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang mengakibatkan kerusakan oksidatif, penurunan fungsi-fungsi mitokondria, kekacauan hemostasis kalsium dan keseimbangan *redox*, kemudian kematian sel akhirnya cedera liver dan kegagalan liver.^{7,18} Nekrosis menyebabkan bocornya enzim- enzim sitosolik hepatic yaitu SGOT dan SGPT ke dalam serum, mengindikasikan adanya destabilisasi dari membran sel hepatosit.^{14,19}

Metabolisme parasetamol oleh *glutathione* (GSH) menjadi metabolit non toksik yaitu APAP-GSH, dapat menginduksi kerusakan mitokondria melalui mekanisme stress oksidatif sehingga produksi spesies oksigen reaktif meningkat.⁷ APAP-GSH menurunkan enzim *glutathione reductase*.²⁰ Enzim *Glutathione Reductase* (GR) berperan dalam pemeliharaan rasio *reduced glutathione* (GSH)/ *glutathione disulphide* (GSSG), dengan memakai *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate* (NADPH) mereduksi GSSG menjadi 2 GSH.²¹ Selama stress

oksidatif rasio GSH/GSSG menurun. Penurunan rasio GSH/GSSG dapat disebabkan oleh oksidasi GSH oleh NAPQI.¹⁶ Stres oksidatif biasanya disertai oleh peroksidasi lipid, di mana NAPQI melalui reduksi NADPH mereduksi oksigen menjadi anion radikal superoksida (O_2^-). Superoksida ini akhirnya juga mereduksi peroksida hidrogen (H_2O_2) membentuk radikal bebas hidroksil (OH \cdot), saat bereaksi dengan lipid menginisiasi peroksidasi lipid.¹⁶ Peroksidasi lipid menyebabkan steatosis, berlanjut hepatitis kronik akhirnya sirosis.²²

Acetaminophen-cysteine adduct (APAP-CYS) mempotensiasi cedera renal dengan mendepleksi GSH renal, dengan meningkatkan katabolisme GSH oleh enzim *γ -glutamyl transpeptidase* (γ -GT), enzim yang banyak terdapat dalam tubulus proksimal renal. Depleksi GSH mempengaruhi detoksifikasi APAP intrarenal atau metabolit aktifnya NAPQI.²³ NAPQI akan berikatan dengan protein seluler akan menginisiasi peroksidasi lipid.²⁴ Metabolit parasetamol yang dihasilkan oleh hepatosit yaitu *acetaminophen GSH conjugate* menimbulkan efek nefrotoksitas.^{24,25} Didapatkan hubungan bermakna antara bioaktivasi metabolit parasetamol dan nefrotoksitas dengan jenis kelamin, dimana pemberian dosis besar parasetamol menyebabkan nefrotoksitas hanya terjadi pada mencit jantan. Hal ini dapat dijelaskan karena bioaktivitas parasetamol dalam renal oleh CYP2E1 adalah *testosterone dependent*, dan hasil biotransformasi tersebut adalah NAPQI.^{26,27} N-deacetylase mengoksidasi N-acetyl-p-aminophenol atau parasetamol menjadi p-aminophenol (PAP) suatu metabolit utama parasetamol dalam urin. PAP mengalami autooksidasi menjadi p-benzoquinone (PBQI) suatu metabolit sangat reaktif. PBQI berikatan dengan GSH menimbulkan efek sitotoksik merusak tubulus

proksimal renal. PAP juga berdifusi dengan cara transport pasif ke dalam sel tubulus menimbulkan efek nefrotoksik.²⁷ Pemberian parasetamol dosis toksik akut menunjukkan cedera seluler primer pada tubulus proksimal dan penurunan bermakna filtrasi glomerulus. Ada sedikit bukti bahwa pemberian parasetamol dosis ambang batas nefrotoksisitas, menunjukkan gambaran yang sama dengan penyakit ginjal kronik dan nefropati analgesik.

Parasetamol bekerja sentral dan sebagai inhibitor sintesis prostaglandin (PG) oleh *cyclooxygenase* (COX)-1 dan COX-2, di mana inhibisi parasetamol terhadap produksi prostaglandin dalam otak 10 kali lebih sensitif dibandingkan dalam lien. Pada perifer, parasetamol inhibitor lemah enzim COX-1 dan COX-2, tetapi ada bukti kuat bahwa parasetamol merupakan inhibitor selektif COX-2 sehingga parasetamol sendiri tidak menimbulkan efek toksik pada lambung.²⁸

Curcuma longa mengandung beberapa curcuminoid pigmen yaitu: curcumin, demetoxicurcumin, dan bisdemetoxicurcumin. Efek protektif ekstrak *Curcuma longa* terhadap cedera hepatotoksisitas parasetamol melalui berbagai mekanisme. Mekanisme hepatoproteksi melalui ikatan langsung dengan metabolit toksik parasetamol, menurunkan metabolit parasetamol. Pemberian jangka panjang ekstrak *Curcuma longa* meningkatkan GSH hepatic dan meningkatkan aktivitas *Glutathione S-Transferase* yang meningkatkan ekskresi metabolit aktif parasetamol.²⁹ Curcumin mencegah peroksidasi lipid.³⁰ Pemberian curcumin pada tikus ditreatmen parasetamol menunjukkan peningkatan level GSH, dan GSH-Px, aktivitas CAT, dan SOD jaringan renal.²

Pada penelitian ini, pemberian ekstrak *Curcuma longa* 65 mg/kgBB, 487mg/kgBB, dan 1040mg/kgBB

selama 14 hari yang dilanjutkan dengan paparan parasetamol dosis toksik 520mgr/kgBB selama 7 hari menunjukkan efek toksik yang simultan pada hepar dan renal. Efek toksik tersebut dapat diterangkan melalui pernyataan yang ditulis dalam beberapa jurnal penelitian. Curcumin memiliki bioavailabilitas rendah, sehingga kadarnya dalam hepatosit sangat rendah, dan diragukan efektifitas dalam mempengaruhi metabolisme obat- obatan.³¹ Curcumin inhibitor sangat kuat untuk P4501A1/1A2, inhibitor kurang kuat P450 2B1/ 2B2, dan inhibitor sangat lemah untuk P450 2E1 pada hepatosit invitro, tetapi penurunan cytochrome p450 tersebut tidak diketahui apakah meningkatkan efek interaksi dari obat.^{31,32} Bioavailabilitas curcumin rendah, implikasinya adalah inhibisi enzim CPY dalam hepar tidak bermakna. Curcumin memiliki aktifitas antioksidan kuat mencegah peroksidasi lipid tetapi tidak dapat mencegah turunnya level GSH dan LDH-leakege yang menunjukkan sitotoksisitas hepatosit yang diinduksi parasetamol.³³ Penelitian oleh Oetari *et al.* 1996, menunjukkan bahwa curcumin merupakan inhibitor *Glutathione S-Transferase* (GST) hepatosit, hal ini berbeda dengan penelitian yang dikerjakan oleh Kalantari *et al.*, 2007.^{29,32} Penurunan GST akan menyebabkan ekskresi metabolit toksik parasetamol menurun. Selain itu curcuminoid merupakan inhibitor kuat CYP3A4 pada sel intestinal.^{31,34} Inhibisi CYP3A4 dalam sel-sel epitel intestinal pada pemberian obat secara bersamaan (co-administration drugs) dapat meningkatkan konsentrasi plasma dari obat- obatan, dengan hasil potensi meningkatkan reaksi efek samping obat, termasuk yang fatal.³¹ Curcumin juga dapat menginhibisi metabolisme normal parasetamol meskipun secara in vitro pada sel-sel mukosa intestinal.³⁴ Curcumin

meningkatkan secara bermakna efek sitotoksitas bila diberikan bersama dengan parasetamol pada sel-sel intestinal. Metabolit non toksik APAP-GSH terbentuk berlebihan pada pemberian parasetamol dosis toksik akan mendepleksi enzim *glutathione reduktase*, menyebabkan stress oksidatif yang dapat merusak mitokondria. GSH berikatan dengan *p-benzoquinone* (PBQI) menimbulkan efek sitotoksik pada sel-sel tubulus ginjal, dan *p-aminophenol* (PAP) dapat berdifusi ke dalam sel epitel tubulus ginjal yang menimbulkan nefrotoksitas.²⁷

Penelitian ini menggunakan ekstrak *Curcuma longa* yang dibuat pada tahun 2013 di LPPT 1 UGM dan disimpan dalam lemari pendingin di Laboratorium Mikrobiologi FK UKDW. Penyimpanan yang benar mencegah tumbuhnya jamur *aspergillus* yang memproduksi aflatoxin, hal ini dibuktikan dari kelompok kontrol sham yang menunjukkan tidak ada perbedaan serum SGOT, SGPT, ureum, kreatinin maupun histopatologi hepar dan renal, dibandingkan dengan kontrol negatif.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan penelitian ini adalah: 1) ekstrak *Curcuma longa* tidak memproteksi mukosa gaster mencit yang telah mendapat ingesti parasetamol dosis tinggi, 2) ekstrak *Curcuma longa* menimbulkan efek toksik pada hepar mencit yang telah mendapat ingesti parasetamol dosis tinggi, 3) ekstrak *Curcuma longa* menimbulkan efek toksik pada renal mencit yang telah mendapat ingesti parasetamol dosis tinggi.

Peneliti memberikan saran: dilakukan penelitian tentang efek *Curcuma longa* dalam sintesis enzim cytochrome P450 oleh hepatosit dan sel-sel intestinal, meneliti dampak inhibisi atau stimulasi cytochrome P450 pada metabolisme parasetamol,

dilakukan penelitian efek *Curcuma longa* jangka panjang dalam meningkatkan atau menurunkan kadar GSH, dilakukan penelitian sitotoksitas *Curcuma longa* terhadap hepatosit dan epitel tubulus ginjal yang telah diinkubasi parasetamol.

DAFTAR PUSTAKA

1. Shrishail D, Handral HK, Ravichandra H, Tulsianand G, Shruthi SD. Review Article. Turmeric: Nature's Precious Medicine. Asian Journal Of Pharmaceutical and Clinical Research; 2013, 6 (3): 10-16.
2. Cekmen M, Ilbey YO, Ozbek E, Simsek A, Somay A, Ersoz C. Curcumin prevents oxidative renal damage induced by acetaminophen in rats. Food and Chemical Toxicology; 2009, 47: 1480-84.
3. Singh S, Jamal F, Agarwal R, Singh RK. Hepatoprotective Role of Curcumin against Acetaminophen induced toxicity in rats. International Research Journal of Biological Sciences; 2013, 2 (12): 42-9.
4. Santoso AH, Astawan M, Wresdiyati. Potensi Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*) sebagai Stabilisator Albumin, SGOT dan SGPT Tikus yang Diinduksi dengan Parasetamol Dosis Toksik [Publikasi Tesis]. Bogor. Institut Pertanian Bogor. 6 hal.
5. Soylu A, Dolapcioglu C, Dolay K, Ciltas A, Yasar N, Kalayci M et al. Endoscopic and histopathological evaluation of acute gastric injury in high-dose acetaminophen and nonsteroidal anti-inflammatory drug ingestion with suicidal intent. World Journal of Gastroenterology; 2008, 14 (43): 6704-10.
6. Blazka ME, Elwell MR, Holladay SD, Wilson RE, Luster MI. Histopathology of Acetaminophen-Induced Liver Changes: Role of Interleukin 1 α and Tumor Necrosis

- Factor α . *Toxicology Pathology*; 1996, 24 (2): 181-89.
7. Rousar T, Nydlova E, Cesla P, Stankova P, Kucera O, Parik P, Cervinkova Z. Purified Acetaminophen-Glutathione Conjugate Is Able To Induce Oxidative Stress in Rat Liver Mitochondria. *Physiological Research*; 2012, 61 (Supple. 2): S103-109.
 8. Mazaleuskaya Kiudmila L, Sangkuhl Katrin, Thorn Caroline F, FitzGerald Garret A, Altman Russ B, Klein Teri E. "PharmGKB summary: pathways of acetaminophen metabolism at the therapeutic versus toxic doses" *Pharmacogenetics and genomics* 2015.
 9. Lin JH, Lu AYH. Inhibition and Induction of Cytochrome P450 and the Clinical Implications. *Clinical Pharmacokinetic*; 1998, 35(5): 361-90.
 10. James LP, Mayeux PR, Hinson JA. Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity. *Drug Metabolism And Disposition*; 2003, 31 (12): 1499-1506.
 11. Roberts DW, Bucci TJ, Benson RW, Warbritton AR, McRae TA, Pumford NR, Hinson JA. Immunohistochemical Localization and Quantification of the 3-(Cystein-S-yl)-acetaminophen Protein Adduct in Acetaminophen Hepatotoxicity. *American Journal of Pathology*; 1991, 138 (2): 359-71.
 12. Pumford NR, Hinson JA, Benson RW. Immunoblot Analysis of Protein Containing 3-(Cystein-S-yl) acetaminophen Adducts in Serum and Subcellular Liver Fractions from Acetaminophen-Treated Mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*; 1990, 104: 521-32.
 13. Heard KJ, Green JL, James LP, Judge BS, Zolot L, Rhyee S, Dart RC. Acetaminophen-cysteine adducts during therapeutic dosing and following overdose. *BioMed Central Gastroenterology*; 2011, 11: 20.
 14. James LP, Letzig L, Simpson PM, Capparelli E, Roberts DW, Hinson JA, Davern TJ, Lee WM. Pharmacokinetics of Acetaminophen-Protein Adducts in Adults with Acetaminophen Overdose and Acute Liver Failure. *Drug Metabolism and Disposition*; 2009, 37 (8): 1779-1784.
 15. McGill MR, Lebofsky M, Norris HRK, Slawson MH, Bajt ML, Xie Y, Williams CD, Wilkins DG, Rollins DE, Jaeschke H. Plasma and Liver Acetaminophen-Protein Adduct Levels in Mice after Acetaminophen Treatment: Dose-Response, Mechanisms, and Clinical Implications. *Toxicology Applied Pharmacology*; 2013, 269(3): 240-249.
 16. Bessems JGM, Vermeulen NPE. Paracetamol (Acetaminophen)-Induced Toxicity: Molecular and Biochemical Mechanisms, Analogues and Protective Approaches. *Critical Reviews in Toxicology*; 2001, 31(1): 55-138.
 17. Jaeschke H, Bajt ML. Intercellular Signaling Mechanism of Acetaminophen-Induced Liver Death. *Toxicological Sciences*; 2006, 89(1): 31-41.
 18. Weis M, Kass GEN, Orrenius S, Moldeus P. N-Acetyl-p-benzoquinone Imine Induces Ca^{+2} , 1991
 19. Arnaiz SL, Liesuy S, Cutrin JC, Boveris A. Oxidative Stress by Acute Acetaminophen Administration in Mouse Liver. *Free Radical Biology & Medicine*; 1995, 19 (3): 303-310.
 20. Nydlova E, Vrbova M, Cesla P, Jankovicova B, Ventura K, Rousar T. Comparison of inhibitory effects between acetaminophen-glutathione conjugate and reduced glutathione in human glutathione reductase. *Journal of Applied Toxicology*; 2013, DOI 10.1002/jat.2914.

21. Noctor G, Gomez L, Vanacker H, Foyer CH. Interaction between biosynthesis, compartmentation and transport in the control of glutathione homeostasis and signaling. *Journal of Experimental Botany*; 2002, 5(372): 1283-1304.
22. Li S, Tan HY, Wang N, Zhang ZJ, Lao L, Wong CW, Feng Y. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*; 2015, 16: 26087-124.
23. Stern ST, Bruno MK, Horton RA, Hill DW, Roberts JC, Cohen SD. Contribution of acetaminophen-cysteine to acetaminophen nephrotoxicity II. Possible involvement of the γ -glutamyl cycle. *Toxicology and Applied Pharmacology*; 2004, 202: 160-71.
24. Li C, Liu J, Saavedra JE, Keefer LK, Waalkes MP. The nitric oxide donor, V-PYRR/NO, protects against acetaminophen-induced nephrotoxicity in mice. *Toxicology*; 2003, 189: 173-80.
25. Hart SGE, Wyand DS, Khairallah EA, Cohen SD. Acetaminophen Nephrotoxicity in the CD-1 Mouse. II. Protection by Probenecid and AT-125 without Diminution of Renal Covalent Binding. *Toxicology and Applied Pharmacology*; 1996, 136: 161- 69.
26. Blantz RC. Acetaminophen: Acute and Chronic Effect on Renal Function. *American Journal of Kidney Diseases*; 1996, 28(1): S3-S6.
27. Sciskalska M, Sliwinska-Mosson M, Podawacz M, Sajewicz W, Milnerowicz H. Mechanism of interaction of the N-acetyl-p-aminophenol metabolites in terms of nephrotoxicity. *Drug and Chemical Toxicology*; DOI: 2014, 10.3109/0148545.2014.928722.
28. Hinz B, Cheremina O, Brune K. Acetaminophen (paracetamol) is a selective cyclooxygenase-2 inhibitor in man. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*; 2008, 22(2): 383-90.
29. Kalantari H, Khorsandi LS, Taherimobarakeh M. The Protective Effect of The Curcuma Longa Extract on Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Mice. *Jundishapur Journal Of Natural Pharmaceutical Products*; 2007, 2(1): 7-12.
30. Paolinelli ST, Reen R, Moraes-Santos T. Curcuma longa ingestion protects in vitro hepatocyte membrane peroxidation. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*; 2006, 42 (3): 429-35.
31. Appiah-Opong R, Commandeur JNM, van Vugt-Lussenberg B, Vermeulen NPE. Inhibition of human recombinant cytochrome P450s by curcumin and curcumin decomposition products. *Toxicology*; 2007, 235: 83-91.
32. Oetari S, Sudibyo M, Commandeur JNM, Samhoedi R, Vermeulen NPE. Effect of Curcumin on Cytochrome P450 and Glutathione S-Transferase Activities in Rat Liver. *Biochemical Pharmacology*; 1995, 1: 39-45.
33. Donatus IA, Sardjoko, Vermeulen NPE. Cytotoxic & Cytoprotective Activities of Curcumin. *Biochemical Pharmacology*; 1990, 39 (12): 1869-75.
34. Volak LP, Ghirmai S, Casman JR, Court MH. Curcuminoids inhibit multiple human cytochromes P450 (CYP), UDP- glucuronosyltransferase (UGT), and sulfotransferase (SULT) enzymes, while piperine is a relatively selectiveCYP3A4 inhibitor. *Drug Metabolism and Disposition*; 2008, 38(8): 1594-1605.