

BAB I PENDAHULUAN

Latar Belakang

Anemia adalah suatu kondisi yang terjadi ketika darah mengalami abnormal dengan jumlah sel darah merah yang rendah ataupun hemoglobin yang rendah, sehingga timbulnya suatu keadaan ketidakmampuan darah untuk mensuplai jaringan dengan oksigen yang cukup untuk melakukan fungsi metabolisme yang sesungguhnya (Eustice dan Hughes, 2019). Anemia adalah nilai kadar Hb <13 g/dL pada laki-laki dan <12 g/dL pada wanita. Usia anak 6 bulan–6 tahun dianggap anemia jika nilai kadar Hb <11 g/dL dan usia antara 6–14 tahun kadar Hb sebesar <12 g/dL. Hemoglobin adalah protein kaya zat besi yang menempel pada oksigen di paru-paru sehingga dapat diangkut ke jaringan di seluruh tubuh. Pada tahun 2013, prevalensi anemia di Indonesia tahun 2013 untuk usia >1 tahun sebesar 27,1%. Di Indonesia, wanita memiliki prevalensi anemia 23,9% lebih tinggi disbanding dengan laki laki 18,4%. Anemia dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti usia kehamilan, sosial ekonomi rendah, usia (20–30 tahun), dan jenis kelamin (perempuan lebih berisiko dibanding dengan laki-laki). Terdapat beberapa klasifikasi anemia tersering antara lain anemia defisiensi besi, anemia aplastik, anemia hemolitik, dan anemia megaloblastik (Ardianti *et al.*, 2017).

Anemia aplastik (AA) adalah kegagalan hematopoiesis yang langka dan berpotensi mengancam jiwa yang ditandai dengan pansitopenia dan aplasia sumsum tulang (Yu *et al*, 2007), akibat adanya kegagalan sumsum tulang yang disebabkan adanya kelainan primer pada sumsum tulang dalam bentuk aplasia atau hipoplasia tanpa adanya infiltrasi, supresi atau pendesakan sumsum tulang (Putra *et al*, 2019). Sebagian besar kasus AA diperoleh selain bentuk penyakit yang diturunkan yang tidak biasa. Meskipun AA yang diperoleh didefinisikan sebagai gangguan autoimun yang dimediasi oleh limfosit T sitotoksik yang merusak sel-sel induk hematopoietik, ini dapat terjadi akibat penghancuran langsung secara fisik dan kimiawi sel-sel hematopoietik di sumsum tulang (Yu *et al*, 2007).

Pada pemeriksaan darah tepi ditemukan adanya anemia, leukopenia dan trombositopenia, sehingga disebut sebagai Pansitopenia. Dalam pemeriksaan sumsum dinyatakan hampir tidak ada hematopoetik sel perkusi dan digantikan oleh jaringan lemak. Kerusakan ini bisa disebabkan oleh zat kimia beracun, virus tertentu, atau bisa juga karena faktor keturunan (Siregar, 2018). Anemia aplastik dapat muncul pada semua usia, namun lebih sering didiagnosis pada anak-anak dan dewasa muda. Gangguan ini terjadi pada sekitar dua hingga enam orang per juta populasi di seluruh dunia. Sekitar 20% individu mengembangkan anemia aplastik sebagai bagian dari sindrom turunan seperti anemia Fanconi, dyskeratosis bawaan, atau anemia Diamond Blackfan. Sebagian besar individu (80%) menderita anemia aplastik, yang berarti disebabkan oleh infeksi seperti hepatitis atau virus *Epstein-Barr*, paparan racun terhadap radiasi dan bahan kimia, atau obat-obatan seperti kloramfenikol atau fenilbutazon. Penelitian menunjukkan anemia aplastik mungkin akibat kelainan autoimun (Kugler dan Fogoros, 2020).

Teori terjadinya kegagalan sumsum tulang dalam hematopoiesis adalah terjadinya defek pada sumsum tulang atau kerusakan sel-sel induk. Berdasarkan etiologinya, anemia aplastic dibagi menjadi *acquired aplastic anemia* dan *congenital aplastic anemia*. Berdasarkan derajat keparahan, anemia aplastik diklasifikasikan menjadi derajat sedang, berat dan sangat berat. Menurut penelitian yang dilakukan oleh *University Teaching Hospital* selama tahun 2000-2014 di Brazil, komplikasi mortalitas terbanyak pada kasus anemia aplastic berat adalah perdarahan dan infeksi (Putra *et al*, 2019).

Insidensi anemia aplastik (AA) di Eropa dan Amerika bagian utara sekitar 2/1.000.000 penduduk pertahun, tetapi di Asia Timur angka tersebut meningkat menjadi sebanyak 2-3 kali dari angka tersebut (Siregar, 2018). Tatalaksana AA pada dasarnya terdiri dari 3 yaitu:

transplantasi sel punca, terapi immunosupresif (IST=*Immunosuppressive therapy*) dan perawatan suportif. IST menjadi pengobatan standar untuk AA khususnya pada pasien yang tidak dapat dilakukan SCT (*Stem cell transplantation*) dengan ATG (*anti-thymocyte globulin*), ALG (*antilymphocyte globulin*) dan *cyclosporine* (CsA) merupakan pilihan yang sering digunakan dengan keberhasilan sekitar 50-60%. Namun CsA mempunyai efek samping pada rongga mulut yaitu terjadinya hiperplasia gingiva, dengan insidensi sebesar 8-81%. CsA menginduksi terjadinya hiperplasia gingiva melalui efek stimulasinya terhadap munculnya TGF- β 1 (*transforming growth factor-beta1*) dan kolagen, sehingga mengakibatkan infiltrasi sel plasma, peningkatan jumlah sel inflamasi (makrofag) dan peningkatan derajat vaskularisasi (Nelonda *et al.*, 2019).

Benzena merupakan suatu senyawa organik yang dikelompokkan sebagai hidrokarbon, banyak digunakan sebagai agen kimia penting industri yang paling banyak dipergunakan, seperti komponen tinta dalam industri percetakan, sebagai pelarut untuk bahan organik, sebagai bahan awal dan perantara dalam industri kimia dan obat-obatan (misalnya untuk memproduksi karet, pelumas, pewarna, deterjen, pestisida, sebagai bahan aditif untuk bensin tanpa timbal (IARC, 2012), dan dapat menimbulkan polutan pada lingkungan, dapat dilepaskan dari asap rokok, limbah industri, minyak mentah, ornament arsitektur, penguapan bensin dan emisi mobil. Populasi yang terpapar benzena sebagian besar melalui menghirup uap ambien dan makanan yang tercemar atau konsumsi air. Paparan benzena menjadi masalah kesehatan lingkungan yang semakin meningkat bagi masyarakat umum di seluruh dunia dan benzena telah diklasifikasikan sebagai karsinogen hematologi manusia oleh IARC (*International Agency for Research on Cancer*). Penelitian epidemiologis mendukung hubungan kuat antara paparan benzena dan anemia aplastic, sindrom myelodysplastik, leukemia, dan kelainan darah lainnya (Chen *et al*; 2018).

Toksisitas Benzene pada manusia yang terpapar di tempat kerja telah ditandai sebagai hematotoksisitas reversibel dini (Snyder dan Hedli, 1996). Paparan jangka panjang benzena menyebabkan aplasia sumsum tulang dan menyebabkan berbagai gangguan hematopoietik termasuk anemia aplastik (AA), leukemia myeloblastic akut, dan leukemia nonlymphositik akut, dan bahkan pada dosis rendah dapat mempengaruhi jumlah sel darah putih dan trombosit (Elsayed, 2015) yaitu, leukopenia, dan trombositopenia, hal ini disebabkan metabolisme benzene yang murni menghasilkan fenol, katekol, hidroquinon, 1,2,4-benzenetriol, tran-trans asam mukonat, dan asam L-fenilmerkapturat, zat-zat ini yang bertanggung jawab terjadinya toksisitas yang melibatkan depresi sumsum tulang dan leukemogenesis akibat kerusakan beberapa kelas sel hematopoietic dan berbagai fungsi sel hematopoietic (Snyder dan Hedli, 1996). Meskipun leukositopenia telah secara konsisten terbukti menjadi indikator yang lebih sensitif daripada anemia toksisitas benzena pada hewan percobaan, limfositopenia telah terbukti lebih sensitif daripada leukositopenia (Bayliss *et al*, 2002).

Saat ini tidak ada pendekatan yang efektif untuk melindungi orang dari hematotoksisitas dan AA yang diinduksi benzena. Selain itu, perawatan saat ini untuk AA memiliki keterbatasan dengan risiko jangka pendek dan jangka panjang. Menemukan agen protektif dan pendekatan terapeutik baru sangat diperlukan untuk mencegah dan mengobati penyakit akibat paparan dengan benzene (Yu *et al*, 2007). Masyarakat Indonesia telah menggunakan bahan alam secara turun temurun sebagai obat tradisional untuk mengatasi berbagai penyakit. Salah satu tanaman yang sering digunakan diantaranya daun salam (*Syzigium polyanthum* (Wight) Walp.) salah satu spesies dari family Myrtaceae. Daun salam (*Syzigium polyanthum* (Wight) Walp.) merupakan tanaman yang telah banyak dikenal oleh masyarakat, dan biasanya banyak dimanfaatkan sebagai bumbu dapur atau rempah rempah penyedap masakan karena memiliki aroma khas. Selain itu, daun salam (*Syzigium polyanthum* (Wight) Walp.) sering dimanfaatkan masyarakat untuk pengobatan alternatif karena tumbuhan ini banyak terdapat di masyarakat dan mudah didapatkan. Daun salam dikenal dengan nama *salam* di Jawa, Madura, dan Sunda,

kastolam di Kangean dan Sumenep, *manting* di Jawa, dan *meselengan* di Sumatra (Novira *et al*; 2018).

Daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) aman dikonsumsi karena terbukti tidak menunjukkan efek toksik, teratogenitas, dan genotoksik pada hewan percobaan. Kandungan zat gizi pada daun salam mampu meningkatkan kadar hemoglobin (Adyani *et al*, 2018). Selain itu kandungan metabolit sekunder daun salam juga sangat bermanfaat sebagai penurun kolesterol, pengobatan hipertensi, diare, gastritis dan terapi diabetes melitus. Dari beberapa penelitian menunjukan bahwa daun salam memiliki berbagai macam khasiat yang bermanfaat dalam pengobatan. Ekstrak etanol daun salam dapat menurunkan kadar glukosa darah juga memiliki aktivitas antidiare. Filtrat dari daun salam diketahui dapat menurunkan kadar asam urat. Salam mengandung minyak asiri (sitral, eugenol) tanin dan flavonoid. Ekstrak kental daun salam mengandung tanin, flavonoid dengan komponen utama fluoretin dan kuersitrin. Ekstrak metanol daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp) yang diuji menggunakan metoda HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) dan LC-MS (*Liquid chromatography-mass spectrometry*) menunjukkan adanya kandungan asam fenolat, asam galat dan asam caffeic. Ekstrak flavour daun salam yang dihasilkan dari metode distilasi uap menggunakan pelarut n-heksana mengandung 26 senyawa dengan senyawa utama terdiri dari *cis*-4-dekanal, oktanal, α -pinen, farnesol, nerolidol, dan dekanal. Senyawa identitas dari daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) adalah kuersitrin (Rivai *et al.*, 2015).

Berdasarkan latar belakang benzena yang berbahaya bagi kesehatan dan dikaitkan dengan penyakit anemia aplastik akibat rusaknya sumsum tulang, serta kandungan antioksidan dan zat gizi yang tinggi pada daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.), peneliti ingin melakukan uji efektifitas daun salam sebagai preventif dan tata laksana pada mencit anemia aplastik yang diinduksi benzena, dengan melakukan pemeriksaan darah lengkap dan kadar kalsium dalam darah serta melakukan pemeriksaan histopatologis sumsum tulang dan hitung total sel sumsum tulang (*Total bone marrow cell count*).

Rumusan Masalah

Berdasarkan rumusan diatas maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah

1. Apakah pemberian ekstrak etanol daun salam (EEDS) dapat meningkatkan kadar Hemoglobin dan mencegah peningkatan kalsium dalam darah pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan yang di induksi benzena.
2. Berapakah dosis efektif pemberian ekstrak etanol daun salam (EEDS) untuk dapat meningkatkan kadar Hemoglobin dan mencegah menurunkan kalsium dalam darah pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinduksi benzena.
3. Apakah pemberian ekstrak etanol daun salam (EEDS) dapat mempertahankan gambaran histologis sumsum tulang yang normal pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi benzena.
4. Apakah ekstrak etanol daun salam (EEDS) lebih efektif melindungi sumsum tulang dibandingkan dengan kontrol positif (Vitamin E).
5. Apakah ekstrak etanol daun salam (EEDS) mengandung bahan yang bermanfaat untuk pengobatan anemia melalui pemeriksaan fitokimia.
6. Apakah jumlah hitungan sel dan diftel (*differential telling*) darah putih pada sumsum tulang sama dengan pada darah.

Tujuan Penelitian

Berdasarkan hipotesis diatas maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah

1. Untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak etanol daun salam (EEDS) dapat meningkatkan hemoglobin dan mencegah peningkatan kalsium dalam darah pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan yang di induksi benzena.

2. Untuk mengetahui dosis efektif pemberian ekstrak etanol daun salam (EEDS) untuk dapat meningkatkan hemoglobin dan meningkatkan kalsium dalam darah pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinduksi benzena.
3. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun salam (EEDS) terhadap gambaran histologi sumsum tulang tikus yang diinduksi benzena.
4. Untuk mengetahui ekstrak etanol daun salam (EEDS) lebih efektif melindungi sumsum tulang dibandingkan dengan kontrol positif (Vitamin E).
5. Untuk mengetahui kandungan ekstrak etanol daun salam (EEDS) yang bermanfaat untuk pengobatan anemia, dengan pemeriksaan phytokimia.
6. Mengetahui perbedaan jumlah sel darah dan difel sel darah putih pada sumsum tulang dan darah.

Manfaat Penelitian

1. Manfaat penelitian ini adalah untuk memperoleh informasi tentang pengaruh ekstrak etanol daun salam (EEDS) terhadap kadar hemoglobin dan kalsium dalam darah pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan yang di induksi benzena.
2. Untuk mengetahui dosis efektif ekstrak etanol daun salam (EEDS) untuk dapat meningkatkan hemoglobin dan meningkatkan kadar kalsium dalam darah.
3. Menemukan metode dan menambah inventaris tanaman yang mampu sebagai hematoprotektif dan sebagai tatalaksana alternatif terhadap toksisitas benzena.
4. Pengembangan Ekstrak etanol daun salam (EEDS) menjadi salah satu sediaan herbal terstandar dengan efek hematoprotektif.
5. Memberikan informasi pemeriksaan laboratorium klinik kepada peneliti yang lainnya.