

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penggunaan bahan kimia sebagai bahan tambahan pada makanan (*food additive*) saat ini mudah ditemui pada makanan maupun minuman olahan. Bahan tambahan pangan memiliki berbagai fungsi, diantaranya sebagai zat pengawet, pewarna, pemberi cita rasa, pengeras, pengendali kelembaban, pengendali pH, dan lain-lain. Salah satu bahan *food additive* yang sering digunakan adalah pengawet makanan (*food preservative*). Penggunaan bahan pengawet makanan memiliki tujuan yaitu antara lain mencegah atau menghambat fermentasi, pengasaman, penguraian, dan perusakan lainnya terhadap pangan yang disebabkan oleh mikroorganisme (Suprayitno, 2017). Salah satu bahan pengawet yang banyak digunakan dalam industri makanan olahan terutama daging adalah pengawet sintetis berupa sodium nitrit (Hasna, 2011).

Sodium nitrit adalah senyawa anorganik dengan rumus kimia  $\text{NaNO}_2$  yang hadir dalam bentuk bubuk kristal putih, tidak berbau, sangat larut dalam air, dan bersifat higroskopis. Sodium nitrit sering digunakan untuk pengawet daging sebagai produk makanan olahan, karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri pendegradasi protein *Clostridium botulinum* dalam daging dengan cara merusak enzim bakteri tersebut. Di samping itu sodium nitrit juga dapat meningkatkan kualitas warna merah pada daging, sehingga memiliki tampilan yang menarik. Namun, penggunaan sodium nitrit secara kontinu dapat mengakibatkan perubahan fisiologis. Menurut Baek *et al.*, (2015), sodium nitrit dapat meningkatkan stres oksidatif.

Gugus nitrit pada  $\text{NaNO}_2$  apabila diinduksikan ke dalam tubuh akan masuk ke dalam lambung kemudian melewati usus halus, selanjutnya akan diserap ke dalam darah. Nitrit dalam darah dan jaringan direduksi menjadi NO yang merupakan salah satu produk *Reactive Nitrogen Species* (RNS). Nitrit oksida (NO) yang terbentuk apabila berikatan dengan salah satu produk ROS yaitu superoksida akan menghasilkan peroksinitrit ( $\text{ONOO}^-$ ). Senyawa  $\text{ONOO}^-$  akan

membentuk reaksi dengan *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) yang dapat mempercepat peroksidasi lipid. Peningkatan pada peroksidasi lipid dapat menyebabkan meningkatkan stres oksidatif, hal ini menyebabkan gangguan pada transport ion.

Gangguan transport ion akibat penurunan kemampuan  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase untuk menjaga gradient ionik dan keseimbangan air telah mengalami penurunan. Kerusakan pada  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase *pump* ini menyebabkan  $\text{Na}^+$  dalam sel tinggi akibat tidak mempunya  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase *pump* dalam membuang  $\text{Na}^+$  keluar sel. sehingga kondisi sel menjadi hipertonic, dan air akan masuk dalam sel. Hal ini yang berkontribusi pada terjadinya pembengkakan sel (Wallig *et al.*, 2013).

Pembengkakan merupakan degenerasi sel sementara akibat cedera ringan yang bersifat reversibel artinya bisa diperbaiki apabila penyebabnya segera dihilangkan, namun jika pembengkakan sel menjadi akut dan sel gagal dalam memperbaiki kondisi keseimbangan elektrolit serta hilangnya kontrol volume sel, maka *reversible cell injury* bisa berubah menjadi tahap nekrosis (Miller & James, 2017).

Ginjal merupakan alat ekskresi yang berperan penting dalam mengeluarkan sisa-sisa metabolisme tubuh, termasuk zat-zat toksik yang tidak sengaja masuk dalam tubuh, akibatnya ginjal menjadi salah satu organ yang mudah terinduksi oleh bahan toksik tersebut. Bahan toksik kemudian di reabsorpsi di dalam tubulus kontortus proksimal (TKP). Sebagian bahan toksik tersebut ada yang keluar bersama urin dan sebagian akan tertinggal, yang lama kelamaan akan menumpuk dalam ginjal. Korteks ginjal merupakan organ yang peka terhadap keadaan hipoksia sehingga dapat terjadi kerusakan sel berupa pembengkakan, atau bahkan sampai nekrosis pada TKP ginjal (Abbas *et al.*, 2015).

Parameter biokimia yang dapat digunakan untuk mengukur keadaan fungsi ginjal yaitu pengukuran BUN dan kadar kreatinin pada serum. *Blood Urea Nitrogen* (BUN) merupakan konsentrasi urea dalam serum atau plasma, dan merupakan salah satu indikator fungsi ginjal (Sennang *et al.*, 2005). Kadar BUN dapat digunakan sebagai petunjuk laju filtrasi glomerulus. Blood Urea Nitrogen dalam serum darah menggambarkan keseimbangan antara produksi dan sekresi

urea. Urea dihasilkan dari amonia di dalam hati dan merupakan produk akhir dari metabolise protein. Urea difiltrasi oleh ginjal di bagian glomerulus, kemudian hasil filtrasi masuk ke dalam kapsula Bowman dan menuju ke dalam tubulus lalu disekresikan (Bijanti, 2009). Sedangkan kreatinin merupakan hasil metabolisme kreatin dalam otot sehingga jumlah kreatinin menggambarkan masa otot tubuh dan kestabilan pada individu sehat (Henry, 2001). *Blood Urea Nitrogen* dan kreatinin dikeluarkan dari tubuh melalui ginjal pada kadar yang konstan. Kerusakan pada struktural ginjal menyebabkan penurunan pada laju filtrasi glomerulus serta kemampuan absorpsi tubulus kontortus proksimal (TKP), yang mana akan membuat kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kreatinin meningkat kadarnya dalam darah (Rahmawati, 2018).

Tanaman okra (*Abelmoschus esculentus* L.) merupakan salah satu tanaman yang mengandung senyawa antioksidan. Beberapa penelitian menunjukkan adanya penurunan stres oksidatif setelah pemberian antioksidan (Sherif dan Al-Gayyar, 2013 dan Hassan *et al.*, 2009). Tanaman dengan julukan *Lady's Finger* ini diketahui banyak mengandung antioksidan seperti flavonoid, *quercetin*, rutin, polisakarida, pektin, vitamin C, dan asam amino (Arapitsas, 2008).

Flavonoid adalah senyawa fenol alam yang terdapat dalam hampir semua tumbuhan (Neldawati *et al.*, 2013). Salah satu sifat yang dapat menggambarkan flavonoid adalah kemampuan flavonoid untuk bereaksi sebagai antioksidan. Hal ini dikuatkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Shui & Peng (2004) terdapat senyawa turunan flavonoid yaitu *quercetin* di dalam buah okra yang memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antiapoptosis, hepatoprotektif, nefroprotektif. Kandungan *quercetin* dan flavonoid pada okra berperan dalam menonaktifkan generasi ROS dan mengakhiri reaksi berantai radikal (Maria dan Elvira, 2008). Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Wahyuningsih *et al* (2020) menunjukkan bahwa dengan pemberian berbagai dosis ekstrak metanol okra terbukti memiliki aktivitas nefroprotektif akibat dipapar timbal asetat, sehingga dapat mengurangi kadar BUN dan kreatinin dalam serum. Pemberian dengan ekstrak metanol okra pada berbagai dosis juga menunjukkan penyembuhan ginjal dan tingkat kerusakan sel yang lebih sedikit.

Isolasi senyawa metabolit sekunder dengan menggunakan metode ekstraksi. Metode ekstraksi digunakan untuk memisahkan senyawa kimia yang terdapat dalam tanaman berdasarkan sifat kelarutan. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi antara lain n-heksana, dan etil asetat, dan etanol. N-heksana akan mengikat senyawa non polar, sedangkan etil asetat mengikat senyawa semi polar, kemudian etanol akan mengikat senyawa polar maupun non polar. Flavonoid yang bersifat polar akan larut pada pelarut polar (Anggitha, 2012).

Berdasarkan pemaparan latar belakang diatas, maka dilakukan studi untuk melihat pengaruh antioksidan ekstrak etanol buah okra terhadap gambaran histologi ginjal dan kadar *Blood Urea Nitrogen* serta kreatinin pada mencit yang terinduksi sodium nitrit sebagai pencegahan kerusakan seluler pada organ ginjal akibat stres oksidatif yang berdampak pada penurunan fungsi ginjal.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, rumusan masalah yang dapat diangkat:

1. Apakah terdapat pengaruh ekstrak etanol okra merah (*A. esculentus* L.) terhadap histologi ginjal (jumlah sel TKP yang normal, mengalami pembengkakan, dan yang mengalami nekrosis) pada mencit (*Mus musculus*) yang terinduksi sodium nitrit?
2. Apakah terdapat pengaruh ekstrak etanol okra merah (*A. esculentus* L.) terhadap kadar BUN pada mencit (*M. musculus*) yang terinduksi sodium nitrit?
3. Apakah terdapat pengaruh ekstrak etanol okra merah (*A. esculentus* L.) terhadap kadar kreatinin pada mencit (*M. musculus*) yang terinduksi sodium nitrit?

## 1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh ekstrak etanol okra (*A. esculentus* L.) terhadap gambaran histologi ginjal (jumlah sel TKP normal, mengalami pembengkakan, dan yang mengalami nekrosis) pada mencit (*M. musculus*) yang terinduksi sodium nitrit.
2. Mengetahui pengaruh ekstrak etanol okra (*A. esculentus* L.) terhadap kadar

BUN pada serum darah mencit (*M. musculus*) yang terinduksi sodium nitrit.

3. Mengetahui pengaruh ekstrak etanol okra (*A. esculentus* L.) terhadap kadar kreatinin pada serum darah mencit (*M. musculus*) yang terinduksi sodium nitrit.

#### 1.4 Asumsi Penelitian

Gugus nitrit pada  $\text{NaNO}_2$  masuk melewati lambung, sebagian masuk ke usus halus, lalu diserap dalam darah. Nitrit dalam darah dan jaringan direduksi menjadi NO. Nitrit oksida (NO) juga bereaksi dengan oksihemoglobin untuk membentuk nitrat dan methemoglobin. Nitrat dalam darah secara langsung menuju ke ginjal. Methemoglobin yang terbentuk dapat menyebabkan penurunan afinitas hemoglobin terhadap oksigen, sehingga terjadi hipoksia pada korteks ginjal. Pada keadaan hipoksia, kadar ROS dalam jaringan akan meningkat karena adanya peningkatan aktifitas mitokondria. Salah satu produk ROS adalah superoksida, saat superoksida berikatan dengan NO akan menghasilkan peroksinitrit ( $\text{ONOO}^-$ ). Senyawa  $\text{ONOO}^-$  akan membentuk reaksi dengan *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) pada membran sel yang dapat mempercepat peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid dapat mengakibatkan kerusakan membran sel. Kerusakan pada membran pada sel ginjal menyebabkan adanya kerusakan pada epitel TKP ginjal serta penurunan laju filtrasi oleh glomerulus yang berujung pada meningkatnya BUN dan kreatinin pada darah.

Flavonoid yang terdapat dalam ekstrak buah okra diserap oleh usus halus dan bersama-sama dengan aliran darah menuju ke jaringan/sel dengan jumlah antioksidan yang tinggi. Flavonoid berperan dalam proses transfer proton pada radikal bebas  $\text{NO}_2^-$ , transfer proton ini mengakibatkan keradikalan  $\text{NO}_2^-$  akan ternetralkan, sehingga kadar nitrit akan menurun. Peningkatan jumlah ROS yang ada dalam tubuh dapat dicegah dan terbentuknya peroksinitrit akibat induksi ROS ke NO akan menurun. Penurunan ROS dan peroksinitrit juga akan menyebabkan turunnya pembentukan ikatan dengan PUFA pada membran sel, yang menyebabkan penurunan peroksidasi lipid. Penurunan peroksidasi lipid

menyebabkan kerusakan membran menurun. Tingkat kerusakan membran yang menurun akan menyebabkan kadar BUN dan kreatinin pada darah juga menurun.

## **1.5 Hipotesis Penelitian**

### **1.5.1 Hipotesis kerja**

Pemberian ekstrak etanol buah okra (*A. esculentus* L.) dalam berbagai varian dosis (25, 50, 75, 100 mg/kg BB), akan berpengaruh terhadap perbaikan keadaan kerusakan histologis ginjal, kadar BUN dan kreatinin pada mencit yang diinduksi sodium nitrit (50 mg/kg BB).

### **1.5.2 Hipotesis statistik**

H0 : Tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol buah okra (*A. esculentus* L.) terhadap gambaran histologi ginjal (jumlah sel tubuli yang normal, mengalami pembengkakan, dan yang mengalami nekrosis), kadar BUN dan kreatinin pada mencit yang terinduksi sodium nitrit.

H1 : Terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol buah okra (*A. esculentus* L.) terhadap gambaran histologi ginjal (jumlah sel tubuli yang normal, mengalami pembengkakan, dan yang mengalami nekrosis), kadar BUN dan kreatinin pada mencit yang terinduksi sodium nitrit.

## **1.6 Manfaat Penelitian**

Hasil dari penelitian ini dapat memberikan informasi ilmiah mengenai potensi antioksidan dari senyawa yang terkandung dalam buah okra untuk mengurangi stres oksidatif dan mencegah kerusakan seluler pada organ ginjal akibat stres oksidatif yang berdampak pada penurunan fungsi ginjal.