

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel jaringan dalam tubuh yang tidak normal hingga menjadi penyakit kronis. Pertumbuhan sel-sel kanker yang tidak normal tersebut diakibatkan oleh kerusakan DNA yang mengakibatkan mutasi gen penyandi proliferasi sel. Kerusakan DNA yang mengakibatkan mutasi gen tersebut dapat disebabkan oleh agen-agen kimiawi atau fisik yang bersifat karsinogen. Selain itu, sel kanker juga memiliki kemampuan untuk menginfeksi jaringan normal lainnya. Menurut data *World Health Organization* (WHO), kanker merupakan penyebab kematian terbesar kedua di dunia dengan 9,6 juta kematian pada tahun 2018. Agen karsinogenik yang menyebabkan kanker masuk ke dalam tubuh secara terus-menerus dan akan terakumulasi dalam tubuh. Akumulasi agen karsinogenik tersebut dapat menimbulkan stress oksidatif yang menjadi penyebab utama penuaan dini serta berbagai penyakit kronis lainnya, seperti kanker dan penyakit jantung.

Stres oksidatif merupakan suatu keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antara kadar prooksidan (oksidan) dan jumlah antioksidan yang meredam oksidan dalam tubuh. Radikal bebas dan oksidan non radikal mengubah biomolekul, terutama lipid, protein, dan asam nukleat sehingga menyebabkan kematian sel. Stres oksidatif juga dapat didefinisikan sebagai suatu keadaan dimana terjadi peningkatan kadar *Reactive Oxygen Species* (ROS). *Reactive Oxygen Species* dalam jumlah yang normal dapat berperan pada berbagai proses fisiologis seperti sistem imunitas, sintesis hormon, dan sinyal seluler. Namun, peningkatan ROS yang berlebih dapat mengakibatkan adanya stres oksidatif yang dapat menyebabkan berbagai macam penyakit seperti hipertensi, aterosklerosis, diabetes melitus, jantung koroner, stroke, dan penyakit kronis lainnya (Paraviciny and Touyz, 2008).

Reactive Oxygen Species dibagi menjadi dua kelompok, yaitu *Oxygen-centered radicals* yang terdiri atas anion superoksida (O_2^-), *Hydroxyl Radical* ($OH^\cdot$), *Alcoxyl Radical* ($RO^\cdot$), dan *Peroxy Radical* ($LOO^\cdot$) serta *Oxygen-centered non-radicals* yang terdiri atas superoksida (O^-) dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Contoh senyawa reaktif lainnya adalah *Nitric Oxide* (NO), *Nitric Dioxide* (NO_2), dan *Peroxynitrite* ($ONOO^-$). Produksi ROS tersebut selanjutnya mengganggu sisi aktif enzim antioksidan seperti superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), dan *Glutathion Peroxidase* (GPx) sehingga terindikasi adanya stres oksidatif. *Reactive Oxygen Species* tersebut dapat memodifikasi serta mengubah fungsi lipid dan protein sehingga dapat mengubah komponen seluler (Dedonan and Tannenbaum, 2004). Peningkatan ROS yang berkelanjutan dapat mengganggu fungsi potensial mitokondria transmembran, kondensasi *nuclear*, *DNA nicking*, dan penyusutan sel yang menandakan kematian terprogram atau apoptosis sel fotoreptor (Carmody *et al.* 1999). Stres oksidatif dikenal untuk menginduksi ekspresi enzim sintesis GSH (*Glutathione Reductase*).

N-Methyl-NitrosoUrea atau yang dikenal dengan MNU merupakan suatu senyawa dari kelompok N-Nitroso. Senyawa nitroso dapat ditemukan pada daging yang diawetkan, bir, saus, dan keju. Selain pada makanan, nitroso juga dapat ditemukan pada asap rokok dan kosmetik. *N-Methyl-NitrosoUrea* merupakan senyawa karsinogen yang dapat menghubungkan sifat karsinogennya dengan regulator stress oksidatif (Valko *et al.* 2006). *N-Methyl-NitrosoUrea* biasa dijual dipasaran sebagai bahan karsinogen yang dapat menginduksi terbentuknya suatu tumor atau kanker pada hewan coba dalam suatu penelitian. *N-Methyl-NitrosoUrea* dan etil homolognya telah ditemukan sebagai karsinogen yang efektif dapat menyebabkan tumor lambung, esofagus, usus, dan paru-paru dengan satu atau beberapa dosis (Schoental, 1996). Senyawa nitroso yang ada pada MNU akan diubah menjadi nitrosamin yang dapat menyebabkan DNA termetilasi hingga mengalami mutasi dengan memodifikasi basa nitrogen pada DNA.

Menurut Tsuruma *et al.* (2012), MNU dapat menginduksi adanya radikal seluler yang kemudian menghasilkan ROS dengan pemberian dalam jumlah

tertentu. Pemberian MNU dapat meningkatkan peroksidasi lipid serta menurunkan pertahanan enzimatis dengan mendenaturasi enzim serta mengikat gugus sulfhidril enzim yaitu *Glutathione peroxide* (GSH-Px), *Glutathione-s-transferase* (GST), katalase serta menurunkan *Glutathione reductase* (GSH) (Adefisan *et al.* 2018). *N-Methyl-NitrosoUrea* tidak mengubah produksi *Nitric oxide* (NO), namun dapat menyebabkan penurunan signifikan pada regulasi produksi NO sekitar 15% – 20% yang diinduksi oleh lipopolisakarida (Moon. 2018). Parameter yang digunakan dalam penelitian adalah dengan melihat adanya stres oksidatif yang diakibatkan oleh injeksi MNU pada tikus sehingga dapat mempengaruhi kadar NO, GSH, dan GSH-Px dalam tubuh tikus. Pemberian MNU dalam jumlah tertentu juga dapat mengakibatkan adanya nekrosis pada ginjal. Ginjal merupakan organ yang rentan terhadap pengaruh zat kimia karena fungsinya dalam proses sirkulasi cairan tubuh, yaitu fungsi ekskresi yang berhubungan erat dengan darah dan zat yang ada di dalamnya (Koeman. 1987). Menurut Manggarwati *et al.* (2010) tubulus merupakan bagian dari ginjal yang paling banyak dan paling mudah mengalami kerusakan. Hal ini dapat terjadi karena adanya akumulasi bahan-bahan toksik pada tubulus serta karakter epitel tubulus yang lemah dan mudah bocor. Selain itu, pada tubulus kontortus proksimal terjadi sekitar 60% – 80% reabsorpsi hasil filtrasi (Susianti, *et al.* 2010). Kondisi kerusakan pada ginjal seperti pembengkakan hingga nekrosis epitel tubulus merupakan kerusakan struktur dan fungsi jaringan ginjal secara histopatologis (Ansori *et al.* 2019). Nekrosis yang paling sering terjadi adalah pada bagian tubulus kontortus proksimal atau disebut dengan nekrosis tubular akut yang dapat menyebabkan timbulnya penyakit gagal ginjal.

Antioksidan yang dapat menangkal oksidan dapat diperoleh dari senyawa kimia fenolik dan polifenolik. Senyawa-senyawa tersebut banyak ditemukan di alam terutama pada tanaman-tanaman, baik buah maupun sayur. Okra merah (*Abelmoshus esculentus* L. Moench) merupakan tanaman dari famili Malvaceae yang biasa digunakan dalam berbagai pengobatan tradisional. Okra merah merupakan tanaman yang berasal dari Afrika, yang kemudian meluas ke daerah Asia. Okra merah mengandung antioksidan, antidiabetik, antihiperglikemik, dan antiinflamasi serta banyak mengandung polifenol dan flavonoid sebagai konstituen

aktif (Xia *et al.* 2015). Menurut hasil penelitian Syam (2019), kandungan flavonoid buah okra merah dengan nilai sebesar $(14,243 \pm 0,084)$ mg kuersetin/5g simplisia lebih tinggi dibandingkan kandungan flavonoid buah okra hijau yang bernilai sebesar $(12,878 \pm 0,078)$ mg kuersetin/5g simplisia. Selain itu, kadar polifenol buah okra merah memiliki nilai lebih tinggi yaitu sebesar $(45,081 \pm 0,0837)$ mg asam tanat/5g simplisia dibandingkan dengan kadar polifenol buah okra hijau yang bernilai sebesar $(33,553 \pm 0,785)$ mg asam tanat/5g simplisia. Ekstrak etanol buah okra merah juga memiliki aktivitas antioksidan yang diuji menggunakan metode DPPH dengan hasil total persen inhibisi yaitu 35.27 % (Ahiakpa *et al.* 2013). Selanjutnya berdasarkan hasil uji DPPH yang dilakukan oleh Wahyuningsih *et al.* (2020), aktivitas antioksidan tertinggi pada buah okra dengan nilai IC_{50} sebesar 35,21 $\mu\text{g/mL}$ sehingga dapat dikategorikan sebagai antioksidan yang sangat kuat. Flavonoid dan polifenol pada buah okra merah dapat mencegah hingga mengeliminasi stress oksidatif dengan menggenapkan reaksi reduksi oksidasi ion logam aktif dan memutus rantai reaksi radikal bebas (Terao, 2009). Selain meredam radikal bebas, antioksidan dapat mereduksi stress oksidatif terutama pada sel dengan kondisi hiperglikemik berkepanjangan seperti pada sel pada tubulus proksimal ginjal dan sel hepatosit di hepar (Husen *et al.* 2019; Husen *et al.* 2020).

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut diatas, sampai saat ini belum ada informasi tentang pengaruh ekstrak kasar buah okra merah terhadap kadar NO, GSH, GSH-Px, serta gangguan histologi ginjal pada tikus (*Rattus norvegicus*). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh ekstrak buah okra merah (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) terhadap kadar NO, GSH, dan GSH-Px serta kerusakan sel-sel tubuli proksimal ginjal pada *Rattus norvegicus* yang diinduksi *N-Methyl-NitrosoUrea* berdasarkan paradigma patofisiologi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, berikut adalah rumusan masalah yang didapatkan:

1. Apakah ekstrak etanol buah okra merah (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) dapat menurunkan kadar NO pada *Rattus norvegicus* yang

terpapar *N-Methyl-NitrosoUrea*?

2. Apakah ekstrak etanol buah okra merah (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) dapat meningkatkan kadar GSH pada *Rattus norvegicus* yang terpapar *N-Methyl-NitrosoUrea*?
3. Apakah ekstrak etanol buah okra merah (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) dapat meningkatkan kadar GSH-Px pada *Rattus norvegicus* yang terpapar *N-Methyl-NitrosoUrea*?
4. Apakah ekstrak etanol buah okra merah (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) dapat meningkatkan perbaikan kerusakan sel-sel tubuli proksimal ginjal pada *Rattus norvegicus* yang terpapar *N-Methyl-NitrosoUrea*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian yang dilakukan ini adalah:

1. Mengetahui efek pemberian ekstrak etanol buah okra merah (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) dapat menurunkan kadar NO pada *Rattus norvegicus* yang terpapar *N-Methyl-NitrosoUrea*.
2. Mengetahui efek pemberian ekstrak etanol buah okra merah (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) dapat meningkatkan kadar GSH pada *Rattus norvegicus* yang terpapar *N-Methyl-NitrosoUrea*.
3. Mengetahui efek pemberian ekstrak etanol buah okra merah (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) dapat meningkatkan kadar GSH-Px pada *Rattus norvegicus* yang terpapar *N-Methyl-NitrosoUrea*.
4. Mengetahui efek pemberian ekstrak etanol buah okra merah (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) dapat menurunkan perbaikan sel-sel tubuli proksimal ginjal pada *Rattus norvegicus* yang terpapar *N-Methyl-NitrosoUrea*.

1.4 Asumsi Penelitian

Akumulasi *N-Methyl-NitrosoUrea* (MNU) secara berlebihan di dalam tubuh dapat meningkatkan kadar *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang berupa *Nitric*

oxide (NO) dan menghambat aktivitas enzim antioksidan. Peningkatan ROS yang berlebihan tersebut dapat menyebabkan kerusakan pada protein, peroksidasi lipid, hingga kerusakan DNA. Sehingga dapat terjadi kerusakan komponen dan stres oksidatif pada sel, seperti pada sel-sel ginjal yang ditandai dengan kerusakan sel-sel tubuli proksimal ginjal. Sedangkan pengikatan MNU terhadap gugus aktif enzim antioksidan dapat menghambat aktivitas antioksidan *Glutathione reductase* (GSH) dan *Glutathione peroxide* (GSH-Px), sehingga kadar GSH dan GSH-Px di dalam tubuh menurun. Okra merah (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) merupakan tanaman yang memiliki metabolit sekunder berupa senyawa flavonoid dan polifenol serta dapat berperan sebagai antioksidan. Potensi antioksidan pada ekstrak etanol buah okra merah tersebut diketahui dapat menurunkan produksi ROS dan meningkatkan produksi enzim antioksidan di dalam tubuh.

1.5 Hipotesis Penelitian

1.5.1 Hipotesis kerja

Dari rumusan masalah tersebut di atas, didapatkan hipotesis kerja sebagai berikut:

1. Jika ekstrak etanol buah okra merah (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) mengandung senyawa antioksidan, maka pemberian ekstrak etanol buah okra merah dapat menurunkan kadar NO pada *Rattus norvegicus* yang terpapar *N-Methyl-NitrosoUrea*.
2. Jika ekstrak etanol buah okra merah (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) mengandung senyawa antioksidan, maka pemberian ekstrak etanol buah okra merah dapat meningkatkan kadar GSH pada *Rattus norvegicus* yang terpapar *N-Methyl-NitrosoUrea*.
3. Jika ekstrak etanol buah okra merah (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) mengandung senyawa antioksidan, maka pemberian ekstrak etanol buah okra merah dapat meningkatkan kadar GSH-Px pada *Rattus norvegicus* yang terpapar *N-Methyl-NitrosoUrea*.
4. Jika ekstrak etanol buah okra merah (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) mengandung senyawa antioksidan, maka pemberian ekstrak etanol buah okra merah dapat meningkatkan perbaikan kerusakan sel-sel

tubuli proksimal pada *Rattus norvegicus* yang terpapar *N-Methyl-NitrosoUrea*.

1.5.2 Hipotesis statistik

Dari rumusan masalah tersebut di atas, didapatkan hipotesis statistik sebagai berikut:

- H0** : Tidak ada penurunan kadar NO dari pemberian ekstrak etanol buah okra merah (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) pada *Rattus norvegicus* yang terpapar *N-Methyl-NitrosoUrea*.
H1 : Ada penurunan kadar NO dari pemberian ekstrak etanol buah okra merah (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) pada *Rattus norvegicus* yang terpapar *N-Methyl-NitrosoUrea*.
- H0** : Tidak ada peningkatan kadar GSH dari pemberian ekstrak etanol buah okra merah (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) pada *Rattus norvegicus* yang terpapar *N-Methyl-NitrosoUrea*.
H1 : Ada peningkatan kadar GSH dari pemberian ekstrak etanol buah okra merah (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) pada *Rattus norvegicus* yang terpapar *N-Methyl-NitrosoUrea*.
- H0** : Tidak ada peningkatan kadar GSH-Px dari pemberian ekstrak etanol buah okra merah (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) pada *Rattus norvegicus* yang terpapar *N-Methyl-NitrosoUrea*.
H1 : Ada peningkatan kadar GSH-Px dari pemberian ekstrak etanol buah okra merah (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) pada *Rattus norvegicus* yang terpapar *N-Methyl-NitrosoUrea*.

4. **H0** : Tidak ada peningkatan perbaikan kerusakan sel-sel tubuli proksimal ginjal dari pemberian ekstrak etanol buah okra merah (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) pada *Rattus norvegicus* yang terpapar *N-Methyl-NitrosoUrea*.

H1 : Ada peningkatan perbaikan kerusakan sel-sel tubuli proksimal ginjal dari pemberian ekstrak etanol buah okra merah (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) pada *Rattus norvegicus* yang terpapar *N-Methyl-NitrosoUrea*.

1.6 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian yang dilakukan ini adalah memberikan pengetahuan ilmiah tentang potensi ekstrak etanol buah okra merah (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) dan kandungan lain didalamnya sebagai antioksidan yang dapat mengurangi dampak negatif dari stress oksidatif terhadap kadar NO, GSH, dan GSH-Px serta mencegah terjadinya kerusakan seluler pada sel-sel tubuli proksimal ginjal *Rattus norvegicus* yang dipapar *N-Methyl-NitrosoUrea* agar tidak mengakibatkan penurunan fungsi ginjal.