

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Timbal atau Plumbum (Pb) merupakan salah satu unsur paling melimpah di bumi. Plumbum dapat ditemukan dalam bentuk logam, garam timbal, dan timbal organik. Sumber munculnya Pb pada umumnya berasal dari polutan pertambangan, pertanian, produksi batubara dan hasil pembakaran kendaraan bermotor maupun industri (Kim *et al.*, 2020). Selain itu, timbal sering ditemukan dalam pestisida, pupuk, bensin, bahan baterai, kosmetik, dan produk logam seperti amunisi, solder, dan pipa (Luana *et al.*, 2021).

Akses masuknya Pb ke dalam tubuh diantaranya melalui menghirup udara atau debu, makanan dan air terkontaminasi. Hewan juga berpotensi terkena paparan logam berat Pb sehingga produk asal hewan juga harus bebas dari cemaran atau kontaminasi timbal. Pemerintah Indonesia menetapkan maksimum batas residu pada pangan asal hewan adalah salah satu cara menjaga produk pangan asal hewan yang aman dan sehat bagi masyarakat Indonesia. Maksimum batas residu Pb dalam jeroan yang dapat dimakan telah ditetapkan SNI No. 7387 Tahun 2009 adalah 1 ppm. Kemudian pada tahun 2012 *Centers For Disease Control and Prevention* di Amerika Serikat juga menetapkan standar Pb dalam darah orang dewasa 10 g/dL dan 5 g/dL untuk anak-anak (Harlia E. *et al.*, 2017).

Menazea *et al.*, (2020) mengatakan bahwa Pb mempengaruhi banyak molekul biologis pada fungsinya protein sebagai pengatur enzim dengan mengubah sinyal molekul organ ginjal, hati, otak dan organ lainnya yang rentan

terhadap efek toksik Pb. Efek dari Pb pada tingkat produksi sitokin antiinflamasi dan perubahan lain dalam tubuh pada umumnya meluas dari sel terkecil hingga organ terbesar.

Ginjal merupakan organ vital yang berfungsi untuk menjaga keseimbangan asam basa tubuh serta mengatur keseimbangan hidro-elektrolit dalam pembuangan produk sisa dari darah (Otunctemur *et al.*, 2014; Teslariu *et al.*, 2016). Ginjal merupakan rute utama ekskresi Pb dan dapat mengakumulasi Pb lebih tinggi dari organ lain. Induksi Pb dengan konsentrasi tinggi secara klinis menyebabkan terjadinya efek nefrotoksisitas dikarenakan akumulasi Pb pada sel epitel tubulus proksimal (Balakumar *et al.*, 2017). Timbal akan terakumulasi pada sel epitel tubulus sehingga menyebabkan hilangnya *brush border* sel epitel dan berujung pada acute tubular nekrosis, apoptosis, dan proteolisis masif (Jose *et al.*, 2017).

Timbal merusak sel dengan meningkatkan jumlah ikatan rangkap asam lemak membran sel, hal tersebut ikut menaikkan konsentrasi malondialdehid (MDA) yang merupakan penanda dari terjadinya stres oksidatif dan membuat membran sel rentan terhadap peroksidasi lipid. Membran sel yang rusak akibat peroksidasi lipid akan menghambat kerja pompa ion natrium-kalium sehingga keseimbangan osmotik lingkungan sel terganggu. Mitokondria sebagai organel penghasil energi sel atau *adenosin trifosfat* (ATP) juga akan ikut terganggu. Gangguan pada membran dan mitokondria akan menyebabkan masuknya air ke intra seluler yang kemudian membentuk vakuola-vakuola yang berwarna jernih dan banyak, proses ini akan tetap berlanjut selama paparan radikal bebas masih ada. Degenerasi sel dapat terjadi jika sel tersebut tidak dapat lagi beradaptasi dan

mempertahankan keutuhannya, degenerasi yang terjadi berupa degenerasi parenkimatosus dan degenerasi hidropik (Ercal *et al.*, 2001; Kumar *et al.*, 2007).

Menurut Robbins (2006) pada sel normal, logam berat timbal dapat membentuk radikal bebas, sehingga menyebabkan rangsangan patologi yang merugikan berupa jejas reversible atau irreversible, dimana mempunyai ciri yang khas diantaranya pada jejas reversible akan terjadi pembengkakan sel sedangkan pada jejas irreversible (nekrosis) membran sel mengalami fragmentasi dan perubahan nukleus meliputi piknosis, kariolisis, dan karioreksis. Nekrosis adalah tingkat kerusakan tubulus yang lebih tinggi setelah terganggunya permeabilitas membran dengan adanya bengkak keruh kemudian diikuti oleh lisisnya sel. Nekrosis ditandai dengan penyerapan warna oleh inti yang berlebihan (hiperkromatik), serta terlepasnya sel-sel tubulus ke dalam lumen (Marusin *et al.*, 2001).

Nefrotoksisitas akibat induksi Pb ditandai secara fisiologis dengan meningkatnya serum kreatinin, *blood urea nitrogen* (BUN), dan menurunnya laju filtrasi glomerulus. Sedangkan secara morfologi, ditandai dengan rusaknya epitel tubulus proksimal, nekrosis sel tubulus, fibrosis tubulus, edema, dan hipertropi pada glomerulus (Tavafi, 2012). Mekanisme nefrotoksisitas akibat induksi Pb melibatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS) yang mengakibatkan stress oksidatif. Produksi ROS yang berlebih mengakibatkan kerusakan ginjal melalui peroksidasi lipid membran sel, denaturasi protein, dan kerusakan *deoxyribo nucleic acid* (DNA) (Elfaky *et al.*, 2019). Nefrotoksisitas juga melibatkan aktivasi proses inflamasi, apoptosis, serta

penurunan pertahanan antioksidan (Yarijani *et al.*, 2016; Pinar *et al.*, 2019). Berbagai penelitian yang menggunakan bahan dengan aktivitas antioksidan dan antiinflamasi terbukti dapat mencegah kondisi nefrotoksisitas yang disebabkan oleh induksi Pb (Kandemir *et al.*, 2015).

Produk herbal mempunyai peranan penting dalam dunia pengobatan karena bersifat aman, efisien, dan memiliki harga yang terjangkau. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa produk herbal yang bersifat atau memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi dapat menjadi nefroprotektor pada ginjal yang diinduksi Pb (Darmanto dkk., 2017). Antioksidan juga dapat menghambat stress oksidatif dan peroksidasi lipid yang disebabkan oleh radikal bebas (Pratiwi dkk., 2019). Salah satu tanaman yang memiliki antioksidan alami adalah lengkuas merah (*Alpinia galanga*). Lengkuas merah sebagai obat herbal berpotensi sebagai antiinflamasi dan juga menurunkan peroksidasi lipid (Mundugaru *et al.*, 2018). Lengkuas merah mengandung senyawa flavonoid, tanin, kuinon, steroid, triterpenoid dan alkaloid. Aktivitas antioksidan ekstrak rimpang lengkuas merah memiliki daya antioksidan yang sangat tinggi ditunjukkan nilai IC₅₀ (500 rppm).

Penelitian sebelumnya mengatakan bahwa ekstrak lengkuas merah (*Alpinia galanga*) dapat digunakan sebagai antiinflamasi, antitumor, antioksidan, antibakteri, gastroprotektif, hipoglikemik dan hipolipidemik. Lengkuas mengandung senyawa flavonoid, pitosterol terpinen-4-ol, alkaloid, saponin, terpenoid, fenolat dan karbohidrat (Tansil dkk., 2016).

Berdasarkan uraian diatas perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui efektivitas ekstrak lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap degenerasi, nekrosis dan

sel radang pada tubulus proksimal ginjal mencit jantan (*Mus musculus*) yang dipapar timbal asetat.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah :

1. Apakah ekstrak etanol lengkuas (*Alpinia galanga*) dapat menghambat degenerasi pada tubulus proksimal ginjal mencit jantan (*Mus musculus*) yang dipapar timbal asetat?
2. Apakah ekstrak etanol lengkuas (*Alpinia galanga*) dapat menghambat nekrosis pada tubulus proksimal ginjal mencit jantan (*Mus musculus*) yang dipapar timbal asetat?
3. Apakah ekstrak etanol lengkuas (*Alpinia galanga*) dapat menghambat sel radang pada tubulus proksimal ginjal mencit jantan (*Mus musculus*) yang dipapar timbal asetat?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak etanol lengkuas (*Alpinia galanga*) dapat menghambat degenerasi pada tubulus proksimal ginjal mencit jantan (*Mus musculus*) yang dipapar timbal asetat.
2. Untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak etanol lengkuas (*Alpinia galanga*) dapat menghambat nekrosis pada tubulus proksimal ginjal mencit jantan (*Mus musculus*) yang dipapar timbal asetat.
3. Untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak etanol lengkuas (*Alpinia galanga*) dapat menghambat Infiltrasi sel radang pada tubulus proksimal ginjal mencit jantan (*Mus musculus*) yang dipapar timbal asetat.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada pembaca mengenai efektivitas pemberian ekstrak etanol lengkuas (*Alpinia galanga*) degenerasi, nekrosis dan sel radang pada tubulus proksimal ginjal mencit jantan (*Mus musculus*) yang dipapar timbal asetat.

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan memberikan informasi kepada pembaca mengenai ekstrak etanol lengkuas (*Alpinia galanga*) dapat digunakan sebagai obat herbal alternatif dan dapat digunakan sebagai data dalam membantu menghambat degenerasi, nekrosis dan sel radang pada tubulus proksimal ginjal.

1.5 Landasan Teori

Timbal (Pb) adalah salah satu logam nefrotoksik pada manusia maupun hewan yang dapat masuk melalui air, makanan, dan udara (Lentini *et al.*, 2017). Pb yang kronis mengganggu saraf, hematopoietik, sistem reproduksi, ginjal, dan tulang. Akumulasi timbal dalam tubuh dibuang secara alami melalui ginjal. Ginjal sebagai organ ekskresi, memainkan peranan penting dalam fungsi tubuh (Purnasari, 2020). Ginjal merupakan organ target toksisitas logam berat karena berfungsi menyerap kembali dan mengkonsentrasikan ion divalen dan logam. Besarnya kerusakan ginjal tergantung pada sifat, dosis, dan waktu paparan (Lentini *et al.*, 2017).

Paparan Pb pada hewan coba telah terbukti menyebabkan nekrosis pada sel epitel tubulus. Hal ini dikarenakan penggunaan Pb akan menyebabkan sitotoksitas pada sel epitel tubulus proksimal. Peningkatan akumulasi Pb di tubulus proksimal berhubungan dengan ekspresi molekul transpor protein dan kation yang diperankan oleh kompleks megalin dan cubilin pada tubulus proksimal. Kompleks megalin dan cubilin merupakan reseptor endositosis yang bertanggung jawab atas penyerapan Pb pada tubulus proksimal. Melalui mekanisme endositosis, Pb akan diangkut ke dalam lisosom, aparatus golgi, dan retikulum endoplasma. Timbal yang terakumulasi di dalam lisosom, selanjutnya berikatan dengan fosfolipid membran, mengubah fungsi lisosom, dan menyebabkan kondisi yang dikenal sebagai fosfolipidosis. Pada mekanisme endositosis, setelah konsentrasi Pb pada endosom mencapai tingkat tertentu, maka Pb akan mengganggu membran endosom, dan Pb beserta muatannya akan dilepaskan ke

sitoplasma. Lepasnya Pb pada sitoplasma mempengaruhi fungsi mitokondria dengan mengaktifkan jalur apoptosis sehingga terjadi kematian sel (Jado *et al.*, 2020).

Kematian sel dapat terjadi akibat produksi *reactive oxygen spesies* (ROS) yang menyebabkan peroksidasi lipid. Selain itu, Mitokondria yang mengalami kerusakan dapat mengakibatkan terputusnya mekanisme fosforilasi oksidatif dan penurunan sintesis *adenosine triphosphate* (ATP) sehingga sodium potasium pump terganggu dan menyebabkan tertahannya ion Na^+ di dalam sel sehingga menarik ion Ca^{2+} dan H_2O masuk dalam sel. Hal tersebut menyebabkan sel mengalami degenerasi yang ditandai dengan ukuran sel membesar dan sitoplasma tampak keruh dipenuhi oleh vakuola air (Damayanti, 2010).

Senyawa radikal atau ROS yang terus menerus meningkat dan produksi ATP yang terus menurun akan menyebabkan kondisi stres oksidatif dimana jika sel tidak dapat mempertahankan keadaanya, sel dapat berujung pada nekrosis. Berbeda dengan nekrosis, apoptosis tidak memicu adanya infiltrasi sel radang, sedangkan jaringan nekrosis dan ROS dapat menginduksi mediator pro-inflamatori seperti cyclooxygenase 2, interleukin, dan $\text{TNF-}\alpha$ sehingga infiltrasi sel radang dapat terjadi (Nielsen *et al.*, 2016; Randjelovic *et al.*, 2017).

Lengkuas merupakan tanaman endemik dari Asia tenggara dan sudah banyak dibudidayakan di Thailand, Malaysia Laos, dan Indonesia. Di Indonesia, lengkuas sering digunakan sebagai bumbu dapur untuk menambah citarasa masakan. Lengkuas juga berfungsi sebagai sumber antioksidan dan zat fitokimia yang berguna bagi tubuh. Aktivitas antioksidan lengkuas (*Alpinia galanga*) berasal dari

senyawa flavonoid golongan flavonol, yaitu kuersetin, kaemferol, dan galangin (Li *et al.*, 2003).

1.6 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah :

1. Pemberian ekstrak etanol lengkuas (*Alpinia galanga*) dapat menghambat terjadinya degenerasi tubulus proksimal mencit jantan (*Mus musculus*) yang dipapar timbal asetat.
2. Pemberian ekstrak etanol lengkuas (*Alpinia galanga*) dapat menghambat terjadinya nekrosis tubulus proksimal mencit jantan (*Mus musculus*) yang dipapar timbal asetat.
3. Pemberian ekstrak etanol lengkuas (*Alpinia galanga*) dapat menghambat terjadinya infiltrasi sel radang tubulus proksimal mencit jantan (*Mus musculus*) yang dipapar timbal asetat.