

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Ginjal merupakan organ penting bagi tubuh dalam menyaring dan membuang sisa-sisa metabolisme dalam tubuh. Ginjal merupakan organ yang bekerja mengeliminasi konstituen-konstituen plasma yang tidak diperlukan ke dalam urin, disamping itu juga menahan bahan-bahan yang bermanfaat bagi tubuh (Sherwood, 2001). Organ ginjal juga mengolah dan mengeluarkan sisa hasil metabolisme yang tidak digunakan oleh tubuh, seperti zat-zat yang bersifat toksik dan substansi asing lain yang masuk ke dalam tubuh, seperti pestisida dan obat-obatan. Oleh karena itu, ginjal menjadi sasaran utama serta beresiko tinggi terpapar oleh radikal bebas dan menerima dampak negatif dari molekul tersebut. Kerusakan ginjal akibat radikal bebas adalah salah satu penyebab timbulnya penyakit ginjal (Guyton and Hall, 2016).

Beberapa sumber radikal bebas yang masih sering diremehkan namun bisa berakibat fatal yaitu dalam penggunaan antibiotik yang tidak sesuai indikasi dan berlebihan, baik dalam segi dosis yang diberikan maupun jangka waktu pemberian obat. Antibiotik merupakan obat yang bekerja melawan infeksi bakteri, namun dalam penggunaannya, antibiotik juga dapat menyebabkan toksisitas radikal bebas, seperti nefrotoksitas dan ototoksitas (Saleh *et al.*, 2016). Antibiotik dapat menyebabkan kerusakan pada sel-sel ginjal dan menyebabkan disfungsi ginjal (Rincon *et al.*, 2004). Nefrotoksitas akibat antibiotik ini juga melibatkan aktivasi

proses inflamasi serta penurunan pertahanan antioksidan pada organ ginjal (Yarijani *et al.*, 2016; Pinar *et al.*, 2019).

Antibiotik yang digunakan pada penelitian ini yaitu Gentamisin yang merupakan antibiotik golongan aminoglikosida yang terutama bekerja mengatasi infeksi bakteri gram negatif (Gelaw *et al.*, 2014). Peneliti menggunakan Gentamisin sebagai induksi antibiotik dikarenakan Gentamisin merupakan obat antibiotik yang sering digunakan dan mudah didapatkan, untuk mengatasi infeksi bakteri baik pada manusia maupun pada hewan. Menurut Roslizawaty (2013) Gentamisin tergolong antibiotika aminoglikosida yang sudah diketahui memiliki efek nefrotoksisitas dan ototoksisitas. Nefrotoksisitas yang diinduksi oleh Gentamisin secara mikroskopik, ditunjukkan oleh adanya nekrosis sel-sel epitel tubulus, apoptosis sel-sel epitel tubulus, robeknya membran basalis, proliferasi sel-sel mesangial, dan menyempitnya ruang Bowman (Lintong dkk., 2012).

Gentamisin dapat mengaktifkan jalur apoptosis intrinsik, memutus rantai pernapasan, menurunkan sintesis ATP dan menyebabkan stres oksidatif dengan membentuk anion superoksida dan radikal hidroksil hingga mengakibatkan kematian sel (Randjelovic *et al.*, 2017). Selain itu, Gentamisin dapat menghambat sistem pertahanan antioksidan pada ginjal sehingga terjadi kelebihan produksi ROS. *Reactive Oxygen Species* (ROS) merupakan molekul reaktif tergolong radikal bebas yang akan berikatan dengan elektron yang tidak berpasangan seperti ion *superoxide* (O_2^-), *nitrogen oxide* (NO), dan *hydroxyl radikal* (OH^-) (Haleagraha *et al.*, 2011 dan Attia *et al.*, 2013). Dalam konsentrasi yang tinggi, ROS dapat menjadi mediator kerusakan struktur sel, asam nukleat, lemak dan

protein. Selain itu, hydroxyl radikal juga diketahui bereaksi dengan seluruh komponen molekul DNA, merusak basa purin, pirimidin dan kerangka deoxyribosa, yang selanjutnya dapat memicu toksisitas, disfungsi, dan kerusakan sel ginjal (Valko *et al.*, 2006; Galaly *et al.*, 2014; Almohawes, 2017).

Penurunan pertahanan antioksidan pada organ akibat induksi Gentamisin dapat berakibat fatal, karena senyawa antioksidanlah yang bekerja dalam mengatasi toksisitas yang terjadi. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas sehingga kerusakan sel akan dihambat (Winarsi, 2007). Ketika pertahanan antioksidan menurun oleh serangan radikal bebas dari Gentamisin, organ akan kehilangan kemampuannya dalam bertahan dan akan rusak. Oleh karena itu, dibutuhkan antioksidan eksogen (dari luar tubuh) untuk dapat membantu mengikat radikal bebas tersebut (Arimbi, 2021).

Terdapat berbagai macam keanekaragaman hayati Indonesia yang memiliki potensi untuk menjadi tindakan preventif alternatif pada tubuh akibat toksisitas yang disebabkan oleh obat-obatan, yaitu dengan memanfaatkan senyawa antioksidan yang terkandung pada tumbuhan, salah satunya yaitu tumbuhan kemangi (*Ocimum basilicum L.*) yang dimanfaatkan daunnya. Daun kemangi ini sangat sering kita jumpai biasanya menjadi pendamping hidangan (hidangan lalapan), serta daun kemangi telah banyak dikenal sebagai tanaman obat karena ekstrak daun kemangi telah diketahui mempunyai aktivitas anti stres, anti ulserasi, radio protective, anti peradangan, serta anti bakteri (Prasad V. dan Farhath, 2012).

Tidak hanya itu, pada penelitian sebelumnya telah dibuktikan bahwa ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) juga mengandung antioksidan. Senyawa antioksidan alami yang terkandung dalam daun kemangi ini berupa senyawa fenolik (tokoferol, flavonoid, asam fenolat), senyawa nitrogen (alkaloid, turunan klorofil, asam amino), dan asam ursolic (Hidayati, 2008). Senyawa flavonoid dalam daun kemangi bekerja menangkap radikal bebas dengan cara melepaskan atom hidrogen dari gugus hidroksilnya dan memutus reaksi berantai dari radikal bebas sehingga dapat mencegah terjadinya stres oksidatif (Almatsier, 2004). Selain itu, β -karoten yang terkandung dalam daun kemangi dapat mengurangi konsentrasi radikal bebas dengan meningkatkan kadar glutathione tubuh, serta menetralkan oksigen singlet reaktif dan mencegah pembentukan radikal peroxyl akibat peroksidasi lipida, sehingga diharapkan kandungan ekstrak daun Kemangi dapat menjadi antioksidan eksogen dari bahan alami yang dapat membantu pertahanan antioksidan dan meningkatkan keseimbangan dengan menetralkan spesies reaktif (Halliwell dan Gutteridge, 2007; Shahjahan *et al*, 2011).

Berdasarkan apa yang telah dikemukakan di atas, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) dapat berperan sebagai nefroprotektor terhadap kerusakan sel ginjal yang diakibatkan oleh antibiotik yang dalam hal ini diinduksi oleh Gentamisin.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian yang telah dikemukakan di atas, rumusan masalah pada penelitian ini yaitu :

1. Apakah ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) mampu mencegah degenerasi sel tubulus ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Gentamisin?
2. Apakah ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) mampu mencegah nekrosis sel tubulus ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Gentamisin?
3. Apakah ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) mampu mencegah infiltrasi sel radang pada ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Gentamisin?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui apakah ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) mampu mencegah degenerasi sel tubulus ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Gentamisin.
2. Untuk mengetahui apakah ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) mampu mencegah nekrosis sel tubulus ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Gentamisin.
3. Untuk mengetahui apakah ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) mampu mencegah infiltrasi sel radang pada ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Gentamisin.

1.4 Manfaat Hasil Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini yaitu untuk memberikan informasi mengenai kemampuan ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*)

dalam mencegah kerusakan sel tubulus ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Gentamisin, dan juga diharapkan dapat menjadi referensi untuk penelitian-penelitian selanjutnya.

1.5 Landasan Teori

Menurut Arimbi (2021), radikal bebas dalam mengakibatkan kerusakan sel ginjal ini dapat melalui beberapa mekanisme, yaitu mengakibatkan terjadinya peroksidasi lipid membrane sehingga menghasilkan superoksida yang tidak stabil dan reaktif, serta terjadi reaksi rantai autokatalitik. Mekanisme selanjutnya yaitu fragmentasi DNA, dimana reaksi radikal bebas dengan DNA akan menimbulkan rusaknya rantai tunggal sehingga memicu kematian sel. Selain itu, radikal bebas juga memicu terjadinya ikatan silang protein, yang diperantarai oleh sulfhidril sehingga terjadi peningkatan kecepatan degradasi atau hilangnya aktivitas enzimatis.

Nefrotoksisitas dan ototoksisitas yang terjadi akibat penggunaan Gentamisin terjadi disebabkan saat bahan tersebut masuk ke dalam tubuh, konsentrasinya akan tinggi atau banyak ditemukan pada korteks ginjal serta endolimf dan perilimf telinga bagian dalam (Roslizawaty *et al.*, 2013). Gentamisin yang dikonsumsi akan masuk ke dalam glomerulus dan mengalami filtrasi, selanjutnya mengalami penyerapan kembali sebagian oleh sel tubulus proksimal oleh endositosis adsorptif yang menghasilkan fusi vakuola endositik dengan lisosom tempat obat terakumulasi. Gentamisin yang terakumulasi di dalam lisosom, selanjutnya akan berikatan dengan fosfolipid membran, mengubah fungsi lisosom, dan menyebabkan kondisi yang dikenal sebagai fosfolipidosis.

Selanjutnya ketika akumulasi Gentamisin di dalam lisosom mencapai batas tertentu, membran lisosom akan pecah dan menumpahkan Gentamisin ke sitosol, dan menyebabkan gangguan pada mitokondria. (Morales *et al.*, 2010; Lintong dkk., 2012; Jado *et al.*, 2020).

Mitokondria sel yang mengalami gangguan dapat mengakibatkan terputusnya mekanisme fosforilasi oksidatif dan penurunan sintesis *adenosine triphosphate* (ATP) sehingga *sodium-potassium pump* terganggu dan menyebabkan tertahannya ion Na^+ di dalam sel dan akan menarik ion Ca^{2+} dan H_2O masuk dalam sel. Hal inilah yang menyebabkan sel mengalami degenerasi yang ditandai dengan ukuran sel membesar dan sitoplasma tampak keruh dipenuhi oleh vakuola air (Lintong dkk., 2012; Arimbi dkk., 2021).

Senyawa radikal atau ROS yang terus menerus meningkat di dalam sel serta produksi ATP dan antioksidan endogen yang terus menurun akan menyebabkan ketidakseimbangan yang disebut sebagai kondisi stres oksidatif dengan membentuk anion superoksida dan radikal hidroksil, serta memicu terjadinya deplesi ATP yang kemudian akan merangsang pengeluaran enzim proteolitik sehingga terjadi nekrosis (Guanovora dkk., 2016; Randjelovic *et al.*, 2017). 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).

Menurut Adib (2018), paparan radikal bebas dengan berbagai penyebab salah satunya akibat induksi Gentamisin ini akan membuat suatu organisme

mengembangkan berbagai mekanisme penolakan. Mekanisme penolakan tersebut diantaranya adalah mekanisme preventif (pencegahan), mekanisme perbaikan, pertahanan fisik, dan pertahanan antioksidan. Pertahanan antioksidan enzimatis meliputi *superoxide dismutase* (SOD), *glutathione peroxidase* (GPx), dan *catalase* (CAT), sedangkan antioksidan non enzimatis diperantarai oleh asam askorbat (vitamin C), α -tocopherol (vitamin E), *glutathione* (GSH), carotenoid, flavonoid, dan antioksidan yang lain. Namun, ketika terjadi stress oksidatif akibat induksi Gentamisin, kemampuan tubuh tidak akan cukup untuk menetralkan senyawa oksidan yang masuk, sehingga dibutuhkan antioksidan eksogen untuk membantu menetralkan dan mengikat senyawa radikal bebas tersebut.

Senyawa antioksidan ini dapat diperoleh secara alternatif dan ramah lingkungan dari tumbuh-tumbuhan, yakni salah satunya adalah daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*). Senyawa antioksidan alami yang terkandung dalam daun kemangi ini berupa senyawa fenolik (tokoferol, flavonoid, asam fenolat), senyawa nitrogen (alkaloid, turunan klorofil, asam amino), dan asam ursolic (Hidayati, 2008). Flavonoid dapat bersifat antioksidan karena memiliki gugus hidroksil fenolik dalam struktur molekulnya yang memiliki daya tangkap radikal bebas dan sebagai pengikat logam, serta dapat menekan sistem enzim sitokrom P-450 sehingga menghambat pembentukan radikal bebas. Flavonoid bekerja menangkap radikal bebas dengan cara melepaskan atom hidrogen dari gugus hidroksilnya, dan membangkitkan radikal baru yang relatif lebih stabil dan tidak reaktif karena adanya efek resonansi inti aromatis, serta memutus reaksi berantai dari radikal

bebas sehingga dapat mencegah terjadinya stres oksidatif dan kematian sel (Zhang *et al*, 2009; Pandey dan Madhuri, 2010; Liu dan Guo, 2015).

Tidak hanya flavonoid, kandungan antioksidan pada daun kemangi lainnya seperti vitamin E dan β -karoten juga merupakan pertahanan utama melawan ROS akibat radikal bebas dan peroksidasi lipid (Maslachah dkk., 2001; Kamilatussaniah dkk., 2015). β -karoten dalam daun kemangi dapat mengurangi konsentrasi radikal bebas dengan meningkatkan kadar glutathione tubuh, serta menetralkan oksigen singlet reaktif dan mencegah pembentukan radikal peroxy akibat peroksidasi lipid, sehingga diharapkan kandungan ekstrak daun kemangi dapat menjadi antioksidan eksogen dari bahan alami yang dapat membantu pertahanan antioksidan dan meningkatkan keseimbangan dengan menetralkan spesies reaktif (Halliwell dan Gutteridge, 2007; Shahjahan *et al*, 2011).

1.6 Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini yaitu bahwa daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) dapat mencegah kerusakan sel ginjal tikus putih berupa degenerasi, nekrosis, dan infiltrasi sel radang pada tubulus proksimal ginjal yang diinduksi Gentamisin.