

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Formalin

2.1.1 Definisi dan Penggunaan Formalin

Formalin merupakan larutan formaldehid 30-50 % dengan methanol 15 % sebagai stabilisernya.²¹ Formaldehid merupakan turunan dari methanol dengan rumus kimia CH_2O yang tidak berwarna, mudah terbakar dan berbau tajam yang larut dalam air, aseton, benzena, dietil eter, kloroform dan etanol, serta bersifat sangat reaktif karena memiliki gugus karbonil. Formaldehid memiliki berat molekul sekitar 30g/mol dengan berat jenis 1,05-1,12 g/ml.²²

Formalin banyak digunakan sebagai bahan campuran industri, misalnya industri plastik, tekstil, karet, tripleks dan tinta. Di bidang medis formalin merupakan suatu desinfektan yang juga digunakan sebagai bahan pengawet kadaver atau fiksasi spesimen hayati di laboratorium.¹⁴

2.1.2 Efek Toksik dan Metabolisme Formalin

Formaldehid secara endogen dihasilkan oleh sel-sel pada mamalia yang merupakan sisa metabolisme dari asam amino glisin, serin, dan metionin.²³ Paparan formaldehid dari luar tubuh dapat melalui berbagai cara yaitu kontak langsung pada kulit, peroral misalnya sebagai zat tambahan pangan, serta inhalasi misalnya pada asap rokok dan asap bahan bakar.²⁴ Penggunaan formalin dalam dosis tinggi dapat menimbulkan gejala akut seperti rasa terbakar di mulut dan

kerongkongan, ulkus pada saluran pencernaan, nyeri dada dan perut, mual, muntah, asidosis metabolik, bahkan gagal ginjal dan mengakibatkan kematian.^{1,25}

Formaldehid yang memiliki waktu paruh sangat cepat ($t_{1/2} = 1,5$ menit), setelah diserap di dalam tubuh akan dimetabolisme menjadi asam format di hepar dan eritrosit melalui reaksi yang dikatalis oleh enzim *formaldehyde dehydrogenase* (FDH). Asam format kemudian dimetabolisme lebih lanjut menjadi 10-formyl-THF dengan bantuan enzim *formyl-tetrahydrofolate-synthetase* (*formyl-THF-synthetase*) dan *tetrahydrofolate* (THF). 10-formyl-THF kemudian diubah menjadi karbondioksida dan air oleh enzim *formyl-THF-dehydrogenase* (F-THF-DH). Asam format tidak dapat disimpan dalam tubuh sehingga diekskresikan melalui urin sebagai asam format, atau sebagai karbondioksida melalui sistem respirasi.^{25,26}

Menurut penjelasan *International Programme on Chemical Safety* (IPCS), batas toleransi formalin pada tubuh dalam bentuk air yaitu 0,1 mg/liter atau 0,2 mg/hari, sedangkan dalam bentuk makanan per orang dewasa adalah 1,5-14 mg/hari. Sedangkan menurut WHO kadar formalin akan menimbulkan toksisitas jika mencapai 6 gram. Dosis letal formaldehid peroral pada tikus adalah 800 mg/kg berat badan.^{27,28}

Sifat formalin yang sangat reaktif karena formalin memiliki gugus karbonil yang sangat mudah bereaksi dengan gugus nukleofilik yaitu gugus $-NH_2$ dari sistem enzimatis sehingga menyebabkan hilangnya fungsi enzimatis dalam tubuh. Hal ini menyebabkan terganggunya proses fosforilasi oksidatif sehingga menyebabkan terjadinya asidosis dan produksi senyawa *reactive oxygen species*

(ROS) dan radikal bebas, karena asam lemak dari hasil proses beta oksidasi tidak dapat diproses lebih lanjut menjadi ATP. Produksi ATP yang berkurang mengakibatkan hipoksia sel dan terjadinya apoptosis dan nekrosis.^{1,25,29} Hipoksia sel juga diakibatkan oleh asam format berlebih yang tidak termetabolisme yang kemudian menghambat enzim sitokrom oksidase sehingga proses transpor elektron terhambat menyebabkan sintesis ATP terhambat. Selain itu, formaldehid membutuhkan enzim FDH untuk dimetabolisme menjadi asam format. Enzim FDH sendiri membutuhkan *glutathione* sebagai kofaktor untuk reaksi tersebut. Sehingga semakin meningkatnya kadar formaldehid, maka kadar *glutathione* dalam darah semakin menurun. Penurunan *glutathione* yang merupakan antioksidan endogen dalam tubuh menyebabkan toksisitas formaldehid semakin meningkat.³⁰

2.2 Toksisitas Formalin terhadap Ginjal

Ginjal merupakan sepasang organ yang memiliki fungsi yang sangat penting bagi tubuh. Fungsi ginjal yaitu mengekskresikan zat-zat sisa metabolisme, mengontrol stabilitas volume, mengatur elektrolit dan keseimbangan asam basa, serta fungsi endokrin. Setiap hari ginjal menyaring sekitar 120 sampai 150 liter darah dan menghasilkan 1 sampai 2 liter urin. Ginjal dalam menjalankan fungsinya memiliki unit fungsional yaitu tubulus urinarius, yang terdiri dari nefron dan tubulus kolektivus. Darah difiltrasi oleh nefron tepatnya di glomerulus, kemudian hasilnya masuk melewati tubulus proksimal, loop henle, tubulus distal, dan masuk ke tubulus kolektivus.^{31,32}

Terjadinya kerusakan sel-sel ginjal dapat disebabkan oleh beberapa penyakit serius yang diderita oleh tubuh. Penyakit yang sering kali berdampak pada kerusakan ginjal diantaranya tekanan darah tinggi (hipertensi), diabetes mellitus, sumbatan saluran kemih (batu, tumor, penyempitan/striktur), kelainan autoimun, kanker, infeksi, dan akibat dari obat atau zat kimia toksik, dimana pada penelitian ini menggunakan formalin.³³

Fungsi ginjal sebagai organ ekskresi memungkinkan ginjal dapat terpapar toksin dengan proporsi dan konsentrasi yang lebih besar daripada organ lain melalui sekresi obat ionik oleh transporter ion organik tubulus melewati membran luminal dari tubulus.^{1,34} Selain itu, ginjal merupakan organ yang sangat mudah mengalami kerusakan akibat ROS, dikarenakan memiliki sejumlah banyak *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) rantai panjang yang menyusun lipid ginjal.⁷ Kerusakan akibat ROS ini paling banyak terjadi pada bagian nefron tepatnya di tubulus proksimal, sebab daerah tersebut memproduksi paling banyak ATP dari oksigen untuk mendukung transport aktif yang berlangsung pada sel-sel epitelnya.⁴

Sistem urinaria memegang memegang peran utama dalam pembuangan zat-zat toksik sebab memiliki peran penting untuk filtrasi darah dan metabolisme.^{1,6} Berdasarkan penelitian sebelumnya, formalin memiliki efek nefrotoksik yaitu menyebabkan inflamasi dan efek degeneratif pada sel-sel tubulus ginjal. Formalin juga terbukti menyebabkan degenerasi glomerulus, nekrosis tubuler akut, dan dilatasi tubulus.^{24,30}

2.3 Ureum dan Kreatinin

2.3.1 Ureum

Ureum merupakan salah satu zat yang disekresi oleh ginjal yang merupakan produk katabolisme protein. Proses pembentukan ureum diawali oleh proses transaminasi yaitu penyaluran nitrogen α -amino ke α -ketoglutarat, yang selanjutnya menjadi glutamat. Kemudian proses deaminasi oksidatif glutamat yaitu pembebasan nitrogen menjadi amonia oleh enzim L-glutamat dehidrogenase (GDH) hati, dan berlanjut transpor amonia kemudian terjadilah siklus urea dimana amonia dikonversi menjadi ureum.^{35,36}

Kadar ureum dalam darah dipengaruhi oleh asupan protein dalam diet, laju produksi urea, serta laju filtrasi glomerulus (LFG). Kadar ureum dalam darah meningkat pada diet tinggi protein, cedera ginjal akut, gagal jantung kongestif, hipovolemi, glomerulonefritis, pielonefritis, nekrosis tubuler akut, syok, dan obstruksi traktus urinarius. Kadar ureum menurun pada gangguan hati, malnutrisi, dan overhidrasi.¹⁰

2.3.2 Kreatinin

Kreatinin merupakan hasil metabolisme dari kreatin dan fosfokreatin. Kreatin disintesis di ginjal yang melibatkan asam amino arginin dan glisin. Sintesis kreatinin plasma terjadi di otot skelet tanpa mekanisme *reuptake* oleh tubuh, sehingga kreatinin sebagian besar diekskresi oleh ginjal.⁸

Kadar kreatinin plasma dipengaruhi oleh laju filtrasi glomerulus (LFG), usia, jenis kelamin, massa otot, serta diet protein. Kreatinin serum meningkat pada disfungsi ginjal, nefritis kronik, dehidrasi, kelelahan otot berlebihan, obstruksi

traktus urinarius, gagal jantung kongestif, hipertensi yang tidak terkontrol serta syok. Sedangkan kadar kreatinin menurun pada massa otot yang berkurang, gangguan otot dan saraf seperti myasthenia gravis dan asupan protein yang kurang.^{37,38}

Kadar ureum dan kreatinin serum dapat menjadi parameter pemeriksaan fungsi ginjal. Pada kerusakan ginjal, akumulasi ureum dan kreatinin terjadi ketika kemampuan filtrasi oleh ginjal berkurang, sehingga terjadi peningkatan kadar ureum dan kreatinin serum. Peningkatan kadar kreatinin serum dua kali lipat menunjukkan penurunan fungsi ginjal sebesar 50%.^{8,9,39} Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa pemberian formalin peroral dosis 100 mg/kgBB/hari meningkatkan kadar ureum dan kreatinin serum tikus wistar.¹⁸

2.4 Daun Kelor

Kelor dengan nama latin *Moringa oleifera*, Lam. merupakan tumbuhan yang banyak hidup di daerah tropis maupun subtropis di Asia dan Afrika yang termasuk dalam famili *Moringaceae*.^{40,41}



Gambar 1. Tanaman *Moringa oleifera* i) pohon, ii) daun, iii) bunga, dan iv) buah.⁴²

Hampir semua bagian dari *Moringa oleifera* mengandung makro dan mikronutrien tinggi dan antioksidan yang bermanfaat dalam bidang medis. Mulai dari akar, batang, daun, bunga, buah, dan biji telah banyak digunakan untuk pengobatan inflamasi, disfungsi kardiovaskuler, penyakit hepar, gangguan hematologi, serta disfungsi ginjal.^{40,43} Bagian yang paling sering digunakan adalah daun, sebab kandungan antioksidannya paling tinggi. Penelitian membuktikan bahwa daun kelor (*Moringa oleifera*) memiliki fungsi sebagai antioksidan, antikanker, antiulser, anti-aterosklerotik, antiinflamasi, antitumor, dan meregulasi tiroid.^{16,44,45}

Tabel 2. Komposisi nutrisi 100 gram daun kelor (*Moringa oleifera*)⁴⁵

Nutrien	Daun segar	Daun kering	Serbuk daun
Kalori (kal)	92	329	205
Protein (g)	6,7	29,4	27,1
Lemak (g)	1,7	5,2	2,3
Karbohidrat (g)	12,5	41,2	38,2
Serat (g)	0,9	12,5	19,2
Vitamin B1 (mg)	0,06	2,02	2,64
Vitamin B2 (mg)	0,05	21,3	20,5
Vitamin B3 (mg)	0,8	7,6	8,2
Vitamin C (mg)	220	15,8	17,3
Vitamin E (mg)	448	10,8	113
Kalsium (mg)	440	2185	2003
Magnesium (mg)	42	448	368
Fosfor (mg)	70	252	204
Kalium (mg)	259	1236	1324
Tembaga (mg)	0,07	0,49	0,57
Besi (mg)	0,85	25,6	28,2
Sulfur (mg)	-	-	870

Daun kelor mengandung komponen bioaktif yaitu polifenol, asam fenolik, flavonoid, vitamin, α -tocopherol, β -caroten, karotenoid, alkaloid, antosianin, glikosinolat, isothiosianat, tannin, saponin, oksalat, dan fitat.⁴⁶ Daun kering *Moringa oleifera* mengandung polifenol yang sangat tinggi, bahkan lebih tinggi daripada buah dan sayuran. Polifenol utama yang terdapat dalam daun kelor yaitu flavonoid dan asam fenolik.^{16,40,41}

Senyawa fenolik berperan penting dalam menetralkan oksidasi lipid karena memiliki gugus karboksil dan merupakan fitokimia utama yang memiliki aktivitas antioksidan.⁴⁷ Daun kelor juga kaya akan asam askorbat yang juga memiliki aktivitas antioksidan. Komponen flavonoid utama dalam daun kelor yaitu quercetin dan kaempferol. Quercetin memiliki aktivitas antioksidan tinggi dan antialergi.^{42,48,49}

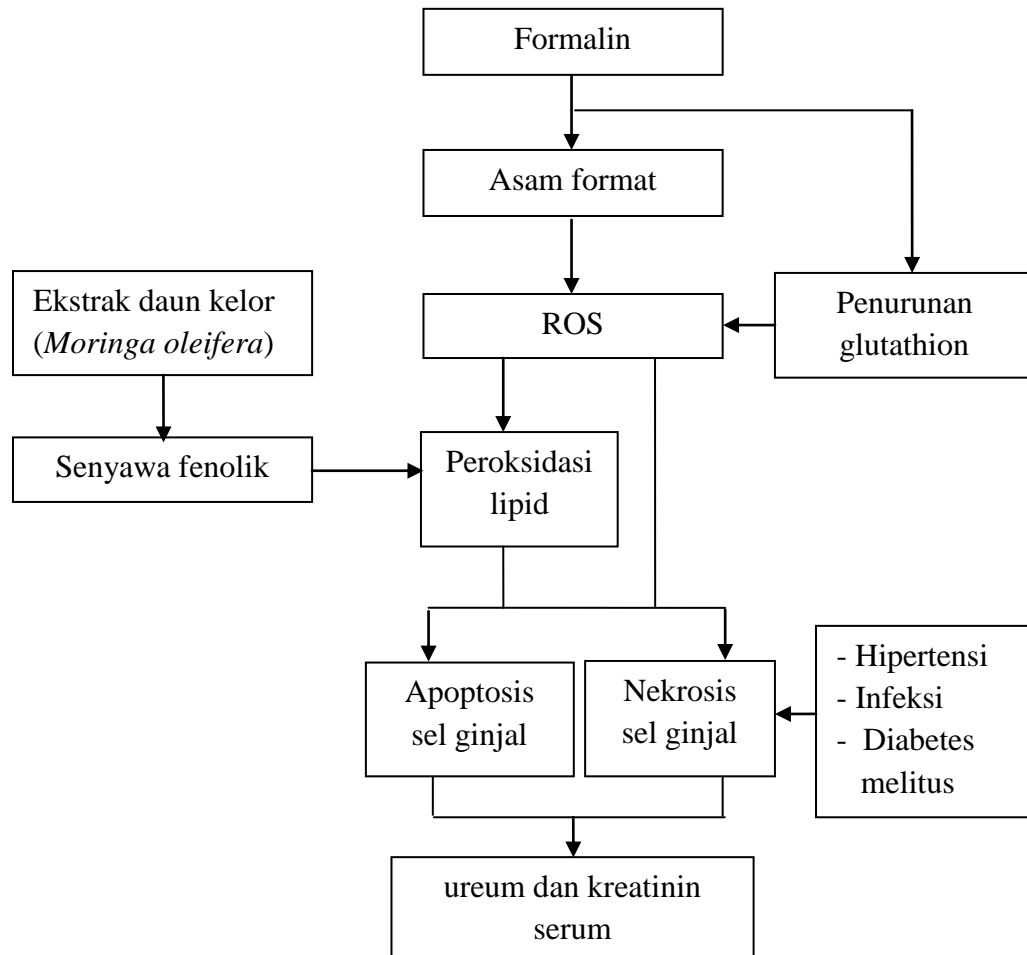
2.5 Mekanisme Perlindungan Ekstrak Daun Kelor terhadap Kerusakan Ginjal akibat Paparan Formalin

Toksitas formalin terhadap ginjal dapat menyebabkan efek degeneratif serta nekrosis tubuler akut karena radikal bebas pada ginjal, yang ditandai meningkatnya kadar ureum dan kreatinin serum.^{1,50} Antioksidan dibutuhkan tubuh untuk melawan radikal bebas. Kandungan flavonoid ekstrak daun kelor berperan sebagai antioksidan dengan mendonorkan elektron terhadap oksidan reaktif.^{47,51} Vitamin C yang merupakan antioksidan yang kuat dapat membantu produksi *glutathione*.²⁴ Vitamin E dapat memutus rantai peroksidasi lipid dengan mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas. Kandungan beta-karoten juga bereaksi dengan radikal bebas dan menyebabkan radikal bebas menjadi stabil. Hal

ini membuktikan bahwa antioksidan pada ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) berperan dalam mekanisme perlindungan ginjal dari toksisitas formalin.^{30,52}

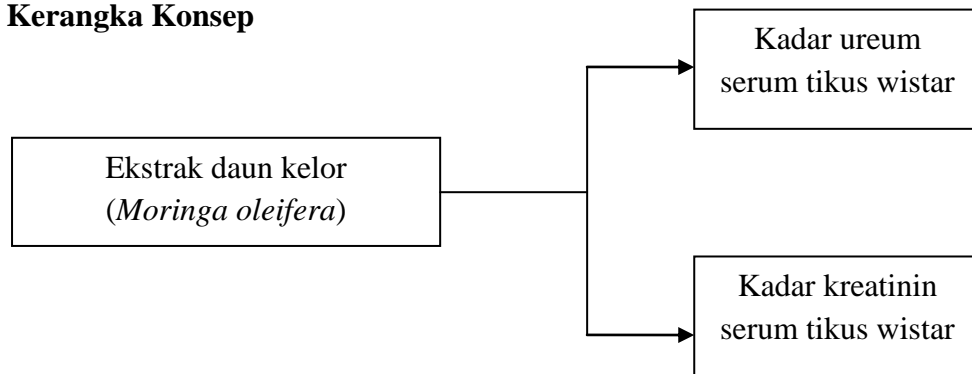
Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa ekstrak daun kelor memiliki efek nefroprotektif yaitu menurunkan kadar ureum dan kreatinin serum hewan coba kelinci yang diinduksi gentamicin.⁵³ Penelitian lain juga membuktikan bahwa pemberian ekstrak daun kelor menurunkan kadar ureum dan kreatinin pada tikus balb/c yang diinduksi acetaminophen. Hal ini membuktikan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) memiliki efek perlindungan terhadap kerusakan ginjal.²⁰

2.6 Kerangka Teori



Gambar 2. Kerangka Teori Penelitian

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 3. Kerangka Konsep

2.8 Hipotesis

2.8.1 Hipotesis Mayor

Ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) menurunkan kadar ureum dan kreatinin serum tikus wistar yang diinduksi formalin.

2.8.2 Hipotesis Minor

- a. Terdapat perbedaan kadar ureum dan kreatinin serum tikus wistar antara kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol
- b. Terdapat perbedaan kadar ureum dan kreatinin serum tikus wistar antar kelompok perlakuan