

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ginjal

Ginjal merupakan organ yang berbentuk oval dan berfungsi mengeluarkan air, garam, dan hasil buangan metabolisme protein yang berlebih dari darah saat membawa kembali zat gizi dan zat kimia ke darah. Ginjal terletak retroperitoneal pada dinding abdomen posterior, satu pada setiap sisi columna vertebralis setinggi vertebra T12-L3. Selama hidup, ginjal berwarna cokelat kemerahan dan memiliki ukuran panjang sekitar 10 cm, lebar 5 cm, dan tebal 2,5 cm.²¹

2.1.1 Histologi Ginjal

Setiap lobus renalis memiliki 1-1,4 juta unit fungsional ginjal yang disebut nefron. Nefron terbagi menjadi dua komponen, yaitu korpuskulum ginjal (corpusculum renale) dan tubulus ginjal (tubulus renalis).²²

Bagian awal setiap nefron memiliki korpuskulum ginjal yang berdiameter sekitar 200 μ m dan mengandung seberkas kapiler, glomerulus, yang dikelilingi oleh simpai epitel berdinding ganda disebut simpai (Bowman) glomerular. Lapisan internal (lapisan viseral) simpai menyelubungi kapiler glomerulus. Lapisan parietal eksternal membentuk permukaan luar simpai tersebut. Di antara kedua lapis simpai Bowman terdapat ruang kapsular atau perkemihan yang menampung cairan yang disaring melalui dinding kapiler dan lapisan viseral. Setiap korpuskulum ginjal memiliki kutub vaskuler, tempat masuknya arteriol aferen dan keluarnya arteriol

eferen, serta memiliki kutub tubular atau perkemihan, tempat tubulus kontortus proksimal berasal. Setelah memasuki korpuskulum ginjal, arteriol aferen biasanya bercabang dan terbagi lagi menjadi dua sampai lima kapiler glomerulus ginjal. Lapisan parietal simpai glomerular terdiri atas selapis epitel skuamosa yang ditunjang lamina basal dan selapis tipis serat retikular di luar. Di kutub tubular, epitelnya berubah menjadi epitel selapis kuboid yang menjadi ciri tubulus proksimal.²³

Tubulus kontortus proksimal sangat berkelok atau melengkung. Tubulus kontortus proksimal lebih panjang dari tubulus kontortus distal sehingga lebih sering tampak pada potongan korteks ginjal. Sel-sel tubulus proksimal memiliki sitoplasma asidofilik yang disebabkan oleh adanya sejumlah besar mitokondria. Apeks sel memiliki banyak mikrovili panjang, yang membentuk suatu *brush border* untuk reabsorpsi. Pada sediaan histologis rutin, *brush border* dapat tidak teratur dan lumennya tampak terisi serabut.²³

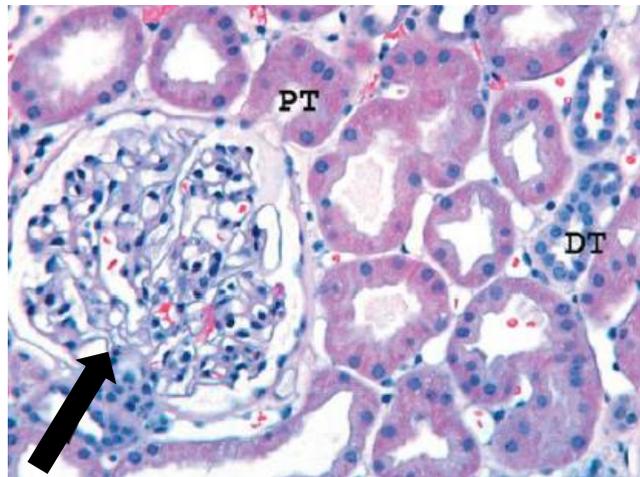
Tubulus kontortus proksimal berlanjut sebagai tubulus lurus yang lebih pendek dan memasuki medula serta menjadi gelung nefron. Gelung ini merupakan struktur berbentuk U dengan segmen desendens dan segmen asendens, keduanya terdiri atas selapis epitel kuboid di dekat korteks, tetapi berupa epitel skuamosa di dalam medula. Di medula luar, bagian lurus tubulus proksimal dengan diameter sekitar 60 μm , tiba-tiba menyempit sampai sekitar 12 μm dan berlanjut sebagai segmen tipis desendens tipis gelung nefron. Lumen pada segmen ini lebar dan dindingnya terdiri atas epitel skuamosa dengan inti yang hanya sedikit menonjol ke dalam lumen.²³

Segmen tebal asendens gelung nefron menjadi lurus saat memasuki korteks, dan kemudian berkelok-kelok sebagai tubulus kontortus distal. Selapis sel kuboid tubulus tersebut berbeda dari sel kuboid tubulus kontortus proksimal karena lebih kecil dan tidak memiliki *brush border*. Karena sel-sel tubulus distal lebih gepeng dan lebih kecil daripada tubulus kontortus proksimal, tampak lebih banyak inti di dinding tubulus distal ketimbang di dinding tubulus proksimal. Sel-sel tubulus kontortus distal memiliki banyak invaginasi membran basal dan mitokondria terkait yang serupa dengan mitokondria tubulus proksimal, yang menunjukkan fungsi transpor-ionnya.²³

Bagian awal tubulus distal yang lurus berkontak dengan kutub vaskular di korpuskulum ginjal nefron induknya dan membentuk struktur khusus, apparatus jukstaglomerularis. Sel struktur tersebut menciptakan suatu mekanisme umpan balik yang memungkinkan autoregulasi aliran darah ginjal dan menjaga laju filtrasi dengan relatif konstan.²³

Filtrat glomerulus mengalir dari tubulus kontortus distal ke tubulus koligens. Tubulus koligens bukan merupakan bagian nefron. Sejumlah tubulus koligens pendek bergabung membentuk beberapa duktus koligens yang lebih besar. Duktus koligens dilapisi oleh epitel kuboid terpulas pucat yang jauh di dalam medula, epitel tubulus ini berubah menjadi silindris.²²

Gambaran mikroskopis korteks ginjal manusia ditunjukkan oleh Gambar 1. Di dalam gambar terlihat glomerulus (panah) di sebelah kiri, tubulus kontortus proksimal (PT) dan tubulus kontortus distal (DT) di sebelah kanan.



Gambar 1. Korteks ginjal manusia (HE, 200x) ⁸

2.1.2 Fisiologi Ginjal

Ginjal adalah organ vital untuk mempertahankan lingkungan internal tubuh yang stabil, atau homeostasis. Fungsi ini dilakukan dengan mengatur tekanan darah, komposisi dan pH darah, volume cairan, dan keseimbangan asam-basa. Ginjal juga menghasilkan urine, yang terbentuk di ginjal sebagai akibat dari tiga fungsi utama: filtrasi darah di glomeruli, reabsorpsi nutrisi dan zat bermanfaat lainnya dari filtrat yang masuk ke tubulus kontortus proksimal dan distal, dan sekresi atau ekskresi produk sisa metabolisme atau bahan kimia atau zat yang tidak dibutuhkan ke dalam filtrat. Sel-sel ginjal juga menghasilkan dua bahan penting, enzim renin dan glikoprotein eritropoietin. Renin mengatur tekanan darah untuk mempertahankan tekanan filtrasi yang sesuai di glomeruli ginjal. Eritropoietin, dianggap dihasilkan dan dikeluarkan oleh sel endotel anyaman kapiler peritubular, merangsang pembentukan eritrosit di sumsum tulang merah.²²

Kedua ginjal menerima kurang lebih seperlima dari total volume darah (1.220 mL) permenit, dan memproduksi sekitar 1-2 ml urin per menit. Kedua ginjal menerima volume yang besar dari sistem sirkulasi darah karena arteri renalis berukuran besar dan merupakan cabang langsung dari aorta abdominalis. Seluruh suplai darah tubuh bersirkulasi melalui ginjal setiap lima menit, maka 1.220 mL darah masuk ke kedua ginjal setiap menitnya dengan kecepatan filtrasi glomerular pada pria adalah 125 mL/menit sehingga 180 L filtrat glomerular dibentuk setiap hari dan hanya 1,5-2,0 L diekskresikan, jadi sekitar 99% filtrat glomerulus dihasilkan oleh ginjal yang masuk ke tubulus direabsorpsi ke dalam sistem nefron dan hanya 1% filtrat yang tersisa masuk ke kandung kemih dan dikeluarkan sebagai urine.^{22,24}

Tiga proses dasar yang terjadi di ginjal diuraikan sebagai berikut:

1) Filtrasi glomerulus.

Komponen cairan dalam darah akan melewati barier filtrasi untuk menjadi ultrafiltrat. Cairan yang difiltrasi dari glomerular ke dalam kapsula Bowman harus melewati tiga lapisan yang membentuk membran glomerulus: dinding kapiler glomerulus, membran basal, dan lapisan dalam kapsula Bowman. Secara kolektif, lapisan-lapisan ini berfungsi sebagai saringan halus molekular yang menahan sel darah dan protein plasma tetapi membolehkan H₂O dan zat terlarut dengan ukuran molekul lebih kecil lewat.²

2) Reabsorpsi Tubulus

Selain zat sisa dan kelebihan bahan yang harus dikeluarkan oleh tubuh, cairan filtrasi juga mengandung nutrien, elektrolit, dan bahan lain yang dibutuhkan oleh

tubuh. Bahan-bahan esensial yang terfiltrasi dikembalikan ke tubuh melalui reabsorpsi tubulus. Di seluruh panjangnya, dinding tubulus memiliki ketebalan satu sel dan terletak dekat dengan kapiler peritubulus yang mengelilinginya. Sel-sel tubulus yang berdekatan tidak berkontak satu sama lain kecuali di tempat mereka disatukan oleh taut erat di tepi-tepi lateral dekat membran luminal mereka, yang menghadap ke lumen tubulus. Cairan interstisium terletak di celah antara sel-sel yang berdekatan serta di antara tubulus dan kapiler. Membran basolateral menghadap cairan interstisium di bagian basal dan tepi lateral sel. Taut erat umumnya menghambat bahan mengalir di antara sel sehingga bahan harus menembus sel untuk meninggalkan lumen tubulus dan masuk ke darah.²

Suatu bahan harus melewati lima sawar terpisah untuk dapat direabsorpsi:

- a. Bahan harus meninggalkan cairan tubulus dengan melewati membran luminal sel tubulus.
- b. Bahan harus melewati sitosol dari satu sisi sel tubulus ke sisi lainnya.
- c. Bahan harus melewati membran basolateral sel tubulus untuk masuk ke cairan interstisium.
- d. Bahan harus berdifusi melalui cairan interstisium.
- e. Bahan harus menembus dinding kapiler untuk masuk ke plasma darah.

Keseluruhan rangkaian langkah ini dikenal sebagai transpor transepitel.

Hanya bahan esensial, misalnya elektrolit, yang berlebihan yang dieksresikan di urine. Produk-produk sisa lainnya yang difiltrasi, misalnya fenol (berasal dari berbagai makanan), kreatinin, dan asam urat, termasuk bahan sisa yang berpotensi merugikan tubuh juga terkonsentrasi di dalam cairan tubulus sewaktu H₂O

meninggalkan filtrat untuk masuk ke plasma. Namun, molekul urea, karena merupakan bahan sisa yang terkecil, adalah satu-satunya zat sisa yang secara pasif direabsorpsi melalui efek pemekatan ini. Bahan-bahan sisa lainnya tidak dapat meninggalkan lumen menuruni gradien konsentrasi mereka untuk secara pasif direabsorpsi karena tidak dapat menembus dinding tubulus. Produk-produk sisa ini umumnya tetap berada di tubulus dan diekskresikan di urine dalam konsentrasi tinggi. Ekskresi zat sisa metabolik ini tidak berada di bawah kontrol fisiologik, tetapi ketika ginjal berfungsi normal, proses ekskresi berlangsung dengan kecepatan yang memuaskan.²

3) Sekresi Tubulus

Sekresi tubulus melibatkan traspor transepitel dengan langkah yang dibalik. Bahan-bahan terpenting yang disekresikan oleh tubulus adalah ion hidrogen (H^+), ion kalium (K^+), serta anion dan kation organik, yang banyak diantaranya adalah senyawa yang asing bagi tubuh. sekresi tubulus merupakan mekanisme untuk mengeluarkan bahan dari plasma secara cepat dengan mengekstraksi sejumlah tertentu bahan dari 80% plasma yang tidak terfiltrasi di kapiler peritubulus dan memindahkannya ke bahan yang sudah ada di tubulus sebagai hasil filtrasi.²

Ekskresi urin adalah pengeluaran bahan-bahan dari tubuh dalam urine dan bukan merupakan proses terpisah, melainkan merupakan hasil dari tiga proses pertama di atas. Semua konstituen plasma yang terfiltrasi atau disekresikan, tetapi tidak direabsorpsi akan tetap di tubulus dan mengalir ke pelvis ginjal untuk diekskresikan sebagai urine dan dikeluarkan dari tubuh.²

2.1.3 Patologi Ginjal

Sel dalam keadaan normal berada pada keadaan homeostasis, di mana terdapat keseimbangan sel dengan lingkungan sekitar. Sel yang terjejas merupakan suatu rangkaian perubahan biokimia atau morfologi yang terjadi ketika kondisi homeostasis mengalami gangguan hebat. Perubahan tersebut bisa kembali ke kondisi normal (*reversible*) atau tidak (*irreversible*). Terdapat bermacam-macam penyebab jejas sel, baik sebab eksogen (dari luar tubuh) seperti trauma fisik (panas, dingin, suntikan jarum), kimiawi (racun, obat, bahan toksik), dan biologi (virus, bakteri, parasit, jamur) maupun sebab endogen (dari dalam tubuh) seperti kelainan genetik, metabolit, hormon, sitokin, dan substansi bioaktif yang lain.^{25,26}

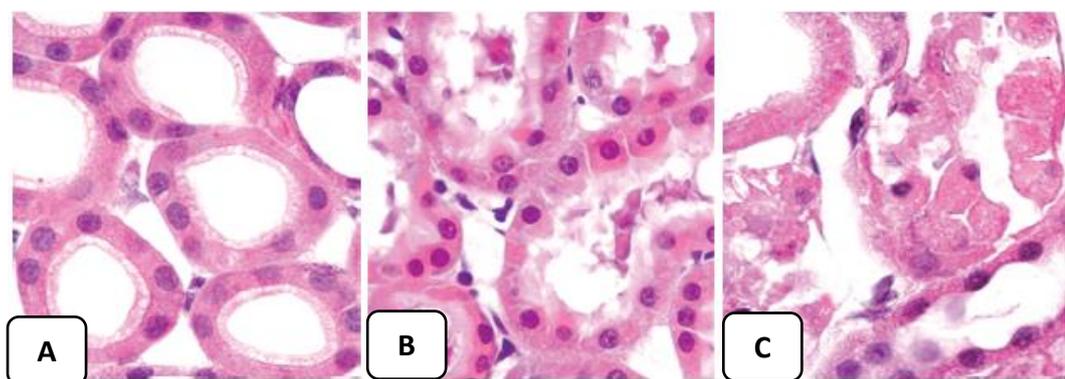
Semua stres dan zat berbahaya mula-mula akan memberikan pengaruh pada tingkat molekuler atau biokimia. Hilangnya fungsi sel terjadi jauh sebelum kematian sel, dan kelainan morfologi terjadi jauh sesudahnya. Kelainan sel pada jejas reversibel dapat dikoreksi dan apabila stimulus tersebut menghilang maka sel dapat kembali menjadi normal. Cedera yang terus menerus dan berat, akan mengakibatkan sel melampaui “*point of no return*” menuju jejas ireversibel dan kematian sel. Walaupun tidak ada kelainan morfologi atau biokimia pasti yang berkaitan dengan ireversibilitas, dua hal menjadi ciri khas ireversibilitas; pertama ketidakmampuan untuk memperbaiki disfungsi mitokondria (tidak terjadinya fosforilasi oksidatif dan pembentukan ATP) walaupun telah terjadi resolusi jejas sel, dan kedua ialah gangguan pada fungsi membran. Jejas pada membran lisosom mengakibatkan kerusakan enzim pada sel yang cedera yang berakhir dengan nekrosis.²⁵

Dua kelainan morfologik penting yang berkaitan dengan jejas reversibel pada sel ialah pembengkakan sel dan degenerasi lemak. Pembengkakan sel disebabkan kegagalan pompa ion yang tergantung tenaga/ energi-dependen pada membran plasma, mengakibatkan sel tidak mampu mempertahankan homeostasis ion dan cairan. Degenerasi lemak terjadi akibat jejas hipoksia dan berbagai cedera toksik dan metabolit.²⁵

Pembengkakan sel, manifestasi pertama jejas pada sel, ialah perubahan reversibel yang sulit dikenal pada mikroskop cahaya, tetapi lebih tampak pada tingkat organ. Apabila keadaan itu mengenai banyak sel pada suatu organ, akan mengakibatkan warna pucat (akibat dari tekanan pada kapiler), turgor meningkat, dan berat organ akan meningkat. Gambaran mikroskopik menunjukkan vakuola kecil jernih dalam sitoplasma; menandakan segmen retikulum endoplasmik (ER) yang melebar dan terlepas. Pola jejas non-letal ini kadang-kadang disebut degenerasi hidrofik atau degenerasi vakuolar. Degenerasi lemak tampak sebagai vakuol lemak dalam sitoplasma. Biasanya dijumpai pada sel yang terlibat dalam metabolisme lemak (contoh sel hati, sel miokardium) dan reversibel. Sel cedera juga akan menunjukkan pulasan eosinofil yang bertambah, dan akan lebih menonjol apabila nekrosis.²⁵

Nekrosis merupakan jenis kematian sel yang dihubungkan dengan hilangnya integritas membran dan bocornya isi sel sehingga terjadi kerusakan sel, terutama akibat pengaruh enzim yang merusak sel yang mengalami jejas fatal. Isi sel yang bocor keluar akan mengakibatkan reaksi lokal pejamu yang disebut radang yang merupakan upaya untuk menghilangkan sel yang mati dan memulai perbaikan.

Morfologi sel nekrotik akan menunjukkan peningkatan warna eosin yang sebagian terjadi akibat peningkatan ikatan eosin dengan protein sitoplasma yang mengalami denaturasi. Dibandingkan dengan sel viabel, maka sel ini memberikan gambaran jernih, homogen terutama akibat hilangnya partikel glikogen. Apabila enzim telah mencerna organel sitoplasmik, sitoplasma bervakuol dan mirip gambaran seperti “digigit rayap”. Sel yang nekrotik memiliki warna basofil dari kromatin yang memudar (kariolisis), inti mengecil, warna basofil meningkat, DNA berubah menjadi suatu massa padat melisut (piknotik), dan inti piknotik yang mengalami fragmentasi (karioreksis). Sel nekrotik dapat bertahan beberapa saat atau kemudian dicerna oleh enzim dan menghilang. Sel mati akan diganti oleh benda mielin yang akan difagositosis oleh sel lain atau mengalami degradasi menjadi asam lemak. Asam lemak ini akan mengikat garam kalsium, mengakibatkan sel mati mengalami kalsifikasi.²⁵



Gambar 2. Perubahan morfologi pada jejas sel reversibel dan ireversibel (nekrosis).²⁵

Gambar 2 menunjukkan perubahan morfologi yang dapat terjadi pada tubulus ginjal. Bagian A. menunjukkan tubulus ginjal normal dengan sel epitel viabel; B. jejas dini (reversibel) iskemik dengan tonjolan permukaan, peningkatan eosinofilia di sitoplasma, dan pembengkakan beberapa sel; C. jejas nekrotik (ireversibel) sel epitel, dengan hilangnya inti, fragmentasi sel dan bocornya inti sel.²⁵

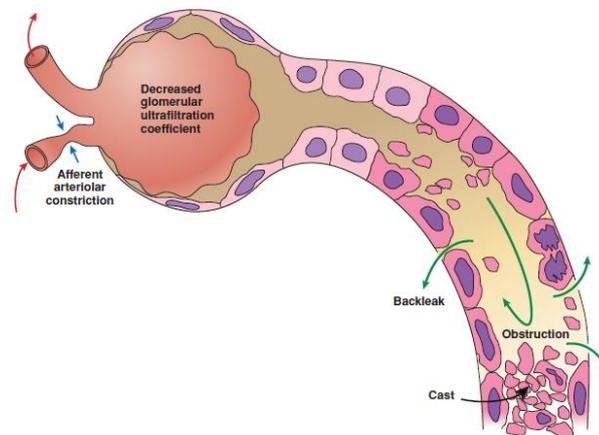
Jejas tubulus akut/ *acute tubular injury* (ATI) adalah entitas klinikopatologis yang secara morfologik ditandai oleh rusaknya sel epitel tubulus dan secara klinis ditandai oleh penurunan fungsi ginjal secara akut, disertai *cast* granuler dan sel tubulus yang dapat ditemui dalam urin. Pola ATI yang berhubungan dengan penurunan aliran darah baik secara umum maupun lokal disebut sebagai ATI iskemik. Pola kedua, disebut ATI nefrotoksik, disebabkan oleh berbagai racun, termasuk logam berat (misalnya, merkuri); pelarut organik, dan berbagai macam obat seperti gentamisin, dan antibiotik lain, dan zat kontras radiografi. ATI seringkali reversibel, dan pengenalan dan manajemen yang tepat dapat memberikan manfaat berbeda, antara kesembuhan total dan kematian.²⁵

ATI iskemik ditandai oleh lesi pada bagian lurus tubulus proksimal dan bagian tubulus asendens berdinding tebal, namun tidak ada segmen tubulus proksimal maupun distal yang tesa. Seringkali terdapat berbagai jejas tubuler, termasuk pelemahan jonjot-mikro permukaan epitel (*brush border*) tubulus proksimal, yaitu jonjot-mikro permukaan epitel melepuh dan mengelupas, vakuolisasi sel dan lepasnya sel tubulus dari membran basal di bawahnya disertai rontoknya sel dan masuk ke dalam urin. Temuan tambahan yang mencolok adalah *cast* jenis protein pada tubulus distal dan tubulus koligentes, yang terdiri dari protein Tamm-Horsfall

(biasanya disekresi oleh tubulus) disertai hemoglobin dan protein plasma yang lain. Jika jejas akibat trauma (*crush injury*) sampai mengakibatkan ATI, *cast* juga mengandung mioglobin. Interstitium biasanya menunjukkan edema menyeluruh disertai sekumpulan sel radang ringan yang terdiri atas leukosit polimorfonuklear, limfosit, dan sel plasma. Perangai histologis ATI toksik pada dasarnya mirip, dengan beberapa perbedaan. ATI toksik menunjukkan kerusakan epitel tubulus yang lebih banyak dibandingkan ATI iskemik meskipun nekrosis akibat toksik sangat terbatas pada bagian tubulus yang paling sensitif terhadap toksin tertentu, biasanya tubulus proksimal.^{8,10,25}

ATI secara patologis dapat menyebabkan nekrosis tubular akut (*Acute Tubular Necrosis/ATN*). ATN merupakan entitas klinikopatologi yang secara morfologi ditandai dengan kerusakan atau jejas yang hebat dari epitel tubulus ginjal. Istilah *acute tubular injury*, *acute vasomotor nephropathy*, *shock kidney*, *ischemic acute tubular nephropathy*, dan *ischemic acute tubular necrosis* telah digunakan untuk perubahan morfologis yang tidak terlalu kentara yang berhubungan dengan iskemia dengan atau tanpa nekrosis yang ringan.⁸

ATI dapat menyebabkan gangguan ginjal akut (*acute kidney injury/AKI*) atau yang dahulu lebih dikenal sebagai gagal ginjal akut (*acute renal failure/ARF*). AKI merupakan gangguan ginjal yang menyebabkan kenaikan kreatinin serum dalam lebih dari beberapa hari atau minggu.¹⁰



Gambar 3. Patogenesis gagal ginjal akut akibat jejas tubular akut (ATI)

Gambar 3. menunjukkan patogenesis dari gagal ginjal akut akibat ATI. Peluruhan dan nekrosis sel epitelial menyebabkan pembentukan *cast*. *Cast* menyebabkan obstruksi dan peningkatan tekanan intraluminal yang menurunkan filtrasi glomerular. Vasokonstriksi arteriolar aferen, sebagian disebabkan oleh umpan balik tubuloglomerular, menyebabkan penurunan tekanan filtrasi kapiler glomerulus. Jejas tubulus dan peningkatan tekanan intraluminal menyebabkan kebocoran cairan dari lumen ke interstisium.¹⁰

2.2 Diethylnitrosamin (DEN)

2.2.1 Deskripsi DEN

Diethylnitrosamin (DEN) adalah salah satu senyawa nitrosamin yang termasuk dalam golongan senyawa n-nitroso yang bersifat karsinogenik, mutagenik dan teratogenik. Senyawa n-nitroso secara garis besar terdiri atas dua kelompok utama yaitu nitrosamin dan nitrosamida. Nitrosamin sering ditemukan dalam makanan sedangkan nitrosamida sangat jarang atau bahkan hampir tidak pernah ada.

Nitrosamin dapat ditemukan dalam makanan olahan terutama yang menggunakan nitrat dan nitrit sebagai pengawetnya, contohnya pada produk daging dan ikan atau dalam teknik khusus pengolahan makanan seperti pengeringan, pembakaran dan pengemasan makanan. Nitrosamin dibentuk secara endogen dari nitrat dan nitrit dalam kondisi tertentu seperti pemanasan dan pH lambung yang sangat asam. Toksisitas beberapa senyawa n-nitroso dapat terlihat bahkan dalam kadar $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb).²⁷⁻²⁹

2.2.2 Pengaruh DEN terhadap Ginjal

Ginjal adalah organ yang sangat penting dalam mengeliminasi sejumlah senyawa xenobiotik, termasuk obat-obatan, senyawa kimia, dan hasil metabolisme endogen. Spesies oksigen reaktif (ROS) dibentuk selama proses detoksifikasi senyawa tersebut. Spesies oksigen reaktif ROS (*Reactive Oxygen Species*) adalah senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif yang terdiri atas kelompok radikal bebas dan kelompok nonradikal. Spesies oksigen reaktif memainkan peran penting dalam patogenesis penyakit ginjal.^{27,30}

Spesies oksigen reaktif menyebabkan jejas sel melalui tiga reaksi utama :

- Peroksidasi lemak membran. Ikatan rangkap pada membran lemak poliunsaturated sangat rawan terhadap serangan radikal bebas asal oksigen. Interaksi lemak dengan radikal menghasilkan peroksidase, yang tidak stabil dan reaktif sehingga akan terjadi reaksi rantai autokatalitik.
- Reaksi silang dan perubahan lain pada protein. Radikal bebas mengakibatkan reaksi silang pada protein yang dimediasi sulfhydryl, terjadi peningkatan

degradasi atau hilangnya aktivitas enzim. Radikal bebas bisa juga langsung menyebabkan fragmentasi polipeptida.

- Kerusakan DNA. Radikal bebas dengan thymin pada DNA inti dan mitokondria akan menyebabkan kerusakan pita tunggal. Kerusakan DNA tersebut dijumpai pada proses kematian sel, penuaan, dan transformasi keganasan sel.²⁵

Dietilnitrosamin menyebabkan pembentukan ROS yang berujung pada stress oksidatif dan jejas sel. Dietilnitrosamin yang dimetabolisme oleh sitokrom p450 menghasilkan radikal bebas yang sangat reaktif yang menyebabkan peroksidasi lipid retikulum endoplasma membran sel dan reaksi berantai. Radikal bebas tersebut dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada DNA, protein dan lipid.²⁷ Stres oksidatif akibat DEN dapat dinilai dengan parameter berupa kadar MDA, GST, GSH, GPx, dan SOD. Penelitian yang dilakukan oleh Mahmoud et al. (2015) menunjukkan pemberian DEN pada tikus wistar menyebabkan peningkatan kadar MDA, penurunan kadar GSH dan penurunan aktivitas SOD, GST, dan GPx ginjal.⁶

Penelitian yang dilakukan oleh Kesmati et al. terhadap tikus wistar yang diinduksi DEN dosis tunggal 200mg/kgBB secara intraperitoneal menunjukkan induksi DEN dapat menyebabkan kerusakan ginjal yang ditandai dengan perubahan histologis berupa adenoma, displasia tubulus ginjal dengan inti kariomegalic, atrofi glomerulus, infiltrasi sel-sel inflamasi, *protein cast* dalam lumen tubulus ginjal, dan vakuolasi tubulus ginjal. Penelitian yang dilakukan oleh Rezaie et al. menunjukkan adanya nekrosis tubular akut pada ginjal tikus wistar yang diinduksi DEN dosis tunggal 200mg/kgBB secara intraperitoneal.^{27,29}

2.3 Sukun (*Artocarpus altilis*)

2.3.1 Taksonomi



Gambar 4. Sukun (*Artocarpus altilis*).³¹

Taksonomi tanaman sukun menurut Balitbangkes adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Urticales
Suku	: Moraceae
Marga	: Artocarpus
Spesies	: <i>Artocarpus altilis</i> (Park.) Fosberg

2.3.2 Deskripsi Sukun (*Artocarpus altilis*)

Artocarpus altilis di Indonesia lebih dikenal dengan nama sukun. Pohon sukun berukuran sedang dan dapat tumbuh hingga mencapai tinggi 15-21 m dengan diameter batang mencapai 2 m. Pohon ini mulai berbuah saat berumur 3-5 tahun dan terus produktif sampai beberapa dekade. Pohon sukun mudah untuk dibudidayakan, membutuhkan sedikit perawatan, dan dapat tumbuh dalam keadaan ekologi yang beragam.³¹

Sukun termasuk tanaman yang mudah ditemui di Indonesia. Sebaran tanaman sukun di Indonesia meliputi Sumatera (Aceh, Sumatera Utara, Sumatera Barat, Riau, Nias, Lampung), Pulau Jawa (Kepulauan Seribu, Jawa Barat, Jawa Tengah, Yogyakarta, Jawa Timur, Madura), Bali, Nusa Tenggara Barat, Nusa Tenggara Timur, Sulawesi (Minahasa, Gorontalo, Bone, Makasar, Malino), Maluku (Seram, Buru, Kai, Ambon, Halmahera dan Ternate) dan Papua (Sorong, Manokwari, pulau-pulau kecil di daerah "Kepala Burung". Nama sukun sering dikaitkan dengan daerah asalnya, antara lain sukun Sorong, sukun Yogya, sukun Cilacap, sukun Pulau Seribu, sukun Bone dan sukun Bawean.³²

Pemanfaatan bahan tanaman sukun sebagai obat tradisional (herbal) telah banyak dilaporkan, walaupun secara medis belum banyak dikembangkan. Daunnya bisa dimanfaatkan untuk pakan ternak, juga berguna sebagai obat tradisional untuk mengatasi gangguan jantung dan ginjal dengan cara merebus daun tua yang telah dikeringkan, kemudian air rebusan ini diminum secara teratur. Di Trinidad dan Bahama, daun sukun diyakini dapat menurunkan tekanan darah, mengatasi penyakit

asma, infeksi kulit, sakit gigi dan diare, selain itu pemanfaatan daun sukun dapat menurunkan demam dan menambah ASI.³²

2.3.3 Daun Sukun (*Artocarpus altilis*)

Daun sukun biasanya tersebar tunggal, berwarna hijau tua mengkilat pada bagian dorsal dan pucat pada bagian yang lain. Daun sukun memiliki rasa yang pahit dengan aroma yang ringan.³³ Daun sukun muda ditandai dengan daun yang berwarna hijau muda, tulang daun masih lunak, terletak pada tangkai paling ujung, dan memiliki tekstur halus. Daun sukun dewasa berwarna hijau tua, tulang daun keras, terletak pada tangkai ke 2 hingga 4, tekstur berbulu, dan bergetah. Daun sukun tua memiliki ciri berwarna kuning kecokelatan, terletak pada tangkai paling akhir, dan mudah remuk. Ekstrak daun sukun memiliki beberapa senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri, antituberkular, antivirus, antijamur, antiplatelet, antiarthritis, inhibitor tirosinase dan sitotoksitas.^{34,35}

Penelitian mengenai aktivitas antioksidan ekstrak daun sukun telah banyak dilakukan di Indonesia, diantaranya penelitian yang dilakukan oleh Suryanto dan Wehantouw (2009) yang membuktikan bahwa ekstrak daun sukun dengan metanol, etanol, dan aseton mengandung senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin terkondensasi dimana ketiga senyawa ini merupakan senyawa yang terkenal memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas.³⁶

Kandungan komponen fenolik, flavonoid dan tannin terkondensasi ekstrak dengan metanol daun sukun lebih dominan dan lebih tinggi aktivitas antioksidannya daripada ekstrak dengan etanol dan ekstrak dengan aseton. Semakin besar

konsentrasi ekstrak daun sukun yang ditambahkan, aktivitas antiradikal bebas dan kandungan total antioksidan juga semakin besar. Efek antioksidan ekstrak dengan metanol daun sukun terhadap perbaikan fungsi ginjal telah diteliti di Nigeria. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun sukun dapat menurunkan kerusakan struktur histologi ginjal yang diakibatkan oleh induksi cadmium.^{17,36}

2.4 Madu

Madu merupakan cairan alami yang dihasilkan oleh lebah madu dari sari bunga tanaman (floral nektar) atau bagian lain dari tanaman (ekstra floral nektar) atau ekskresi serangga.³⁷ Kandungan utama madu adalah monosakarida, yaitu fruktosa dan glukosa. Sukrosa, maltosa, trehalosa, turanosa, melezitosa dan rafinosa juga ditemukan dalam madu namun dalam jumlah yang lebih sedikit. Madu tidak hanya mengandung karbohidrat, tetapi juga memiliki enzim (glukosa oksidase, diastase, invertase, katalase dan peroksidase), kandungan protein, asam amino, vitamin, mineral, *trace compound*, dan senyawa fenolik.¹⁵

Selama berabad-abad, madu merupakan satu-satunya zat pemanis alami yang bisa diperoleh oleh manusia sebelum ditemukannya gula pasir hasil pabrik. Penggunaan madu masih tetap tidak bisa tergantikan oleh gula pasir karena selain memberikan rasa manis, madu juga memberikan banyak manfaat lewat senyawa-senyawa yang dikandungnya. Rasa manis pada madu alami memiliki tingkat kemanisan mencapai 1,5 kali dari gula pasir sehingga untuk menghasilkan rasa manis yang sama, dibutuhkan lebih sedikit madu dibandingkan gula pasir.

Kandungan kalori pada madu yaitu 3,04 kkal/gram sementara kandungan kalori gula pasir (sukrosa) yaitu 3,94 kkal/gram.^{38,39}

Erejuwa et al. dalam tinjauannya menyatakan bahwa madu dapat berperan sebagai antioksidan baru (*novel antioxidant*) lewat kemampuannya dalam memperbaiki stress oksidatif pada saluran pencernaan, hepar, pankreas, ginjal, organ reproduksi dan plasma/serum. Tinjauan ini bahkan menyatakan bahwa penggunaan madu lebih menguntungkan daripada senyawa antioksidan lain yang sudah lebih dahulu diteliti seperti vitamin C dan vitamin E karena selain memiliki kemampuan sebagai antioksidan, madu juga memiliki kemampuan sebagai antiinflamasi yang sangat berguna dalam manajemen penyakit-penyakit kronik yang berhubungan dengan stress oksidatif seperti diabetes melitus dan hipertensi terutama apabila dikombinasikan dengan terapi konvensional.^{15,40}

Aktivitas antioksidan madu secara umum disebabkan kandungan senyawa fenolik dan flavonoidnya. Senyawa fenolik dan flavonoid utama yang terdapat dalam madu termasuk asam elagat, asam galat, asam siringat, asam benzoat, asam sinamat, asam ferulat, mirisetin, asam klorogenat, asam kafeat, hesperetin, asam kumarat, isoramnetin, krisin, quersetin, galangin, luteolin, dan kaemferol.⁴⁰ Kandungan madu lainnya yang dapat berperan sebagai antioksidan antara lain enzim glukosa oksidase, enzim katalase, asam organik, beta karoten (prekursor vitamin A), vitamin E, mangan, dan selenium.^{15,41}

Beberapa penelitian yang dilakukan di Indonesia telah membuktikan bahwa madu dengan efek antioksidannya mampu mencegah kerusakan ginjal akibat induksi beberapa bahan nefrotoksik, yakni aspirin, etanol, dan metanol. Madu yang

diberikan secara oral mencegah perdarahan dan infiltrasi sel radang ginjal tikus putih yang diinduksi aspirin dengan dosis toksik, memiliki efek protektif terhadap kerusakan tubulus proksimal tikus putih jantan dewasa (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley yang diinduksi etanol, dan memberikan perubahan signifikan terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus yang rusak akibat induksi metanol.⁴²⁻

45

2.5 Antioksidan

2.5.1 Deskripsi Antioksidan

Antioksidan adalah suatu senyawa yang pada konsentrasi rendah secara signifikan dapat menghambat atau mencegah oksidasi substrat dalam reaksi rantai. Antioksidan dapat mendonorkan elektronnya kepada molekul radikal bebas, sehingga dapat menstabilkan radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai.⁴⁶

Radikal bebas adalah atom atau molekul (kumpulan atom) yang memiliki elektron yang tak berpasangan (*unpaired electron*) pada orbit terluarnya. Konfigurasi yang tidak stabil ini menghasilkan energi yang dilepaskan lewat reaksi dengan molekul-molekul yang berdekatan, seperti protein, lipid, karbohidrat, dan asam nukleat. Radikal bebas berasal dari tiga elemen: oksigen, nitrogen dan sulfur sehingga radikal bebas terdiri dari spesies oksigen reaktif (*reactive oxygen species/ROS*), spesies nitrogen reaktif (*reactive nitrogen species/RNS*), dan spesies sulfur reaktif (*reactive sulfur species/RSS*). ROS merupakan radikal bebas utama yang merusak sistem biologi. ROS diproduksi baik secara endogen maupun eksogen. Secara eksogen, ROS dapat terbentuk akibat radiasi sinar UV dan sinar

gamma X-rays. ROS juga terdapat pada atmosfer sebagai polutan. Sumber ROS endogen adalah mitokondria, metabolisme sitokrom p-450, peroksisom, dan aktivasi sel inflamasi.⁴⁷

ROS dipercaya dapat berbahaya sekaligus menguntungkan bagi sistem biologi tergantung pada lingkungan. Contoh efek menguntungkan ROS misalnya peran fisiologis ROS dalam perlawanan agen infeksius serta peran ROS dalam berbagai sistem penyampaian informasi seluler, sebaliknya dalam konsentrasi tinggi, ROS dapat memediasi kerusakan struktur sel, termasuk lipid, membran, protein dan asam nukleat; kerusakan ini seringkali dirujuk sebagai stres oksidatif.³⁵

Tubuh manusia dapat menetralkan radikal bebas bila jumlahnya tidak berlebihan. Kemampuan sel untuk menangkap kelebihan radikal bebas sangat tergantung pada efektivitas keseluruhan sistem pertahanan antioksidan. Sistem pertahanan ini terdiri dari antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen terdiri dari antioksidan enzim seperti superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), dan glutathion peroksidase (GPx) dan antioksidan non-enzim seperti vitamin C, E serta molekul-molekul kecil. Antioksidan eksogen terdiri dari mikronutrien dan antioksidan lain yang didapatkan secara eksogen. Individu dengan penyakit degeneratif atau penyakit kronik lebih mudah mengalami stres oksidatif karena memiliki kadar oksidan yang tinggi dan/atau antioksidan yang menurun sehingga penggunaan suplemen antioksidan untuk orang-orang dengan penyakit tersebut mungkin menguntungkan.^{49,40}

ditunjukkan dalam skema pada gambar 3. antioksidan enzim dibagi menjadi antioksidan enzim primer dan sekunder. Antioksidan enzim primer terdiri dari tiga enzim penting yang mencegah pembentukan dan menetralkan radikal bebas: glutathion peroksidase, katalase, dan superoksida dismutase (SOD). Antioksidan enzim sekunder terdiri dari glutathion reduktase dan glukosa-6-fosfat dehidrogenase. Kedua enzim ini mendukung antioksidan enzim primer dan tidak menetralkan radikal bebas secara langsung. Antioksidan non-enzim terdiri dari beberapa subgrup diantaranya vitamin (A,E,C), kofaktor enzim, peptida (glutathion), asam fenolik dan senyawa nitrogen.⁵¹ Kata yang berwarna hijau dalam gambar menunjukkan antioksidan eksogen dan yang berwarna kuning menunjukkan antioksidan endogen.⁵⁰

2.5.3 Toksisitas Antioksidan

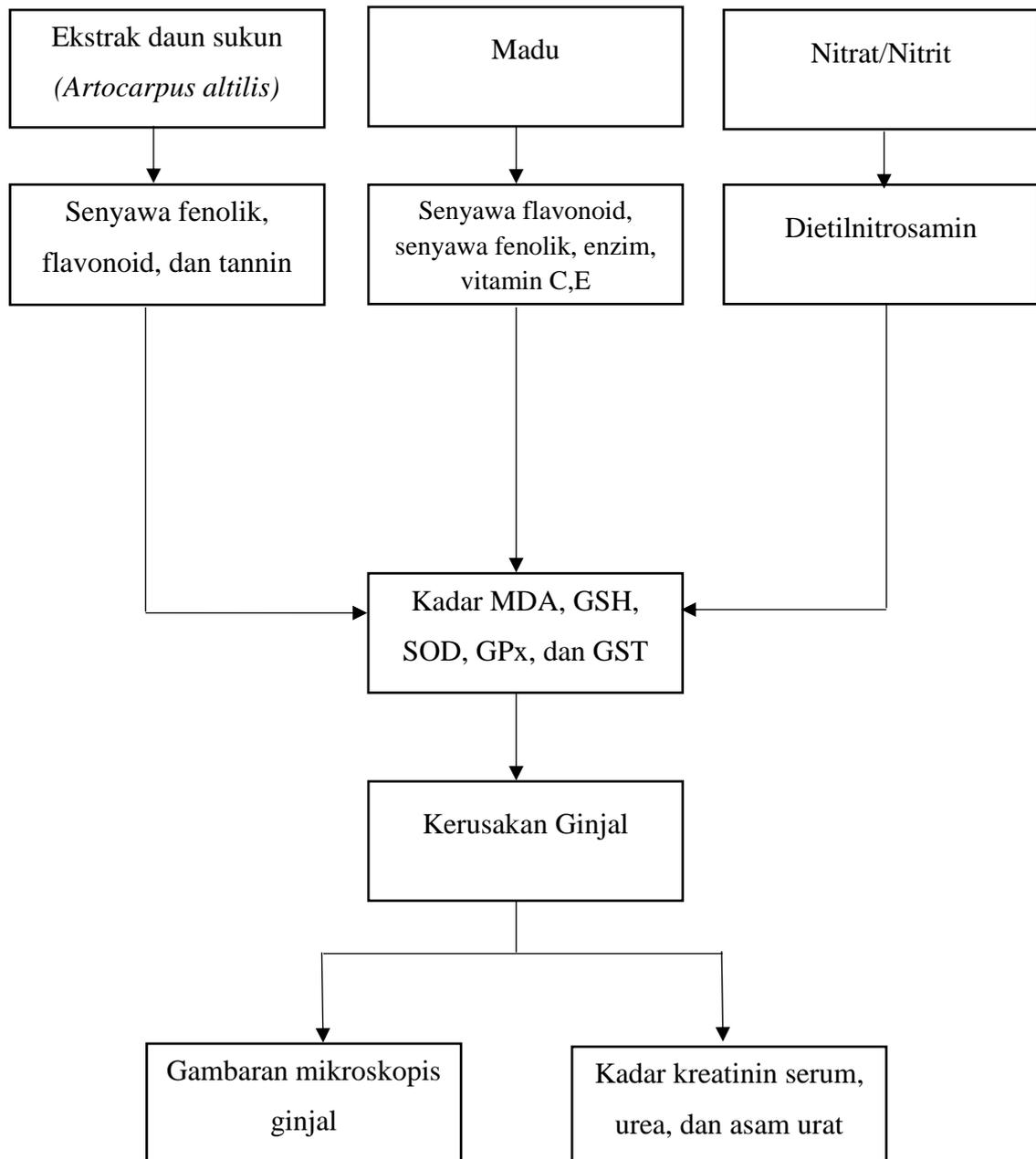
Bouayed dan Bohn (2010) menyatakan bahwa sangat penting menjaga keseimbangan antara oksidan dan antioksidan untuk dapat mempertahankan sistem biologis yang sehat. Aktivitas prooksidan dan antioksidan sangat tergantung dari konsentrasinya.¹³ Kadar antioksidan yang rendah mungkin menguntungkan bagi sistem biologi, namun dalam jumlah yang tinggi antioksidan mungkin akan mengacaukan keseimbangannya.^{13,50} Flavonoid (quersetin dan fisetin) dapat dijadikan sebagai contoh. Zat ini dalam konsentrasi rendah (10–25 μM) melindungi tikus H4IIE dari sitotoksitas, pemutusan rantai DNA dan apoptosis akibat induksi H_2O_2 , namun dalam konsentrasi tinggi (50–250 μM) zat ini justru bersifat sitotoksik

dan dapat menghasilkan ROS dengan autooksidasi (contohnya, mirisetin dan quercetagin) dan *redox-cycling* (contohnya, quersetin).^{13,52}

Toksisitas antioksidan yang paling jelas adalah menghilangnya peran protektif oksidan terhadap kesehatan, seperti fagositosis antimikroba, detoksifikasi oleh sitokrom p-450 dan peran apoptosis sel-sel yang tidak diinginkan. Beberapa antioksidan, seperti vitamin C dapat mengambil peran oksidan yang mungkin bersifat toksik, seperti reaksi Fenton. Beberapa percobaan klinis memperlihatkan bahwa antioksidan, seperti beta-karoten yang merupakan prekursor vitamin A, dapat meningkatkan resiko kanker ketika diberikan sebagai suplemen terisolasi.⁵³

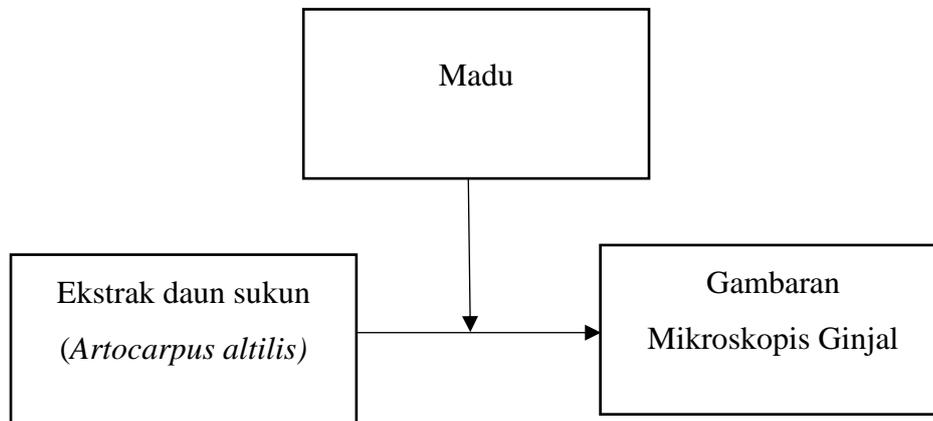
Manfaat kesehatan dari antioksidan nutrisi dan zat-zat bioaktif yang terdapat dalam tumbuhan terutama teramati ketika dikonsumsi dalam matriks makanan alaminya (buah-buahan, sayuran, biji-bijian, dll). Senyawa-senyawa dalam tumbuhan tersebut lebih sehat dan lebih aman dibandingkan dalam bentuk terisolasi dan berdosisi tinggi seperti yang ada dalam suplemen. Hal ini mungkin dikarenakan : (1) konsentrasi nutrisi dan non-nutrisi yang secara umum rendah dalam matriks makanan alami dan (2) sinergisitas aksi dari campuran kompleks nutrisi dan zat-zat bioaktif yang terdapat dalam tumbuhan.¹³

2.6 Kerangka Teori



Gambar 6. Kerangka teori

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 7. Kerangka konsep

2.8 Hipotesis

2.8.1 Hipotesis Mayor

Pemberian ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dan madu berpengaruh terhadap gambaran mikroskopis ginjal tikus wistar yang diinduksi DEN.

2.8.2 Hipotesis Minor

1. Terdapat perbedaan gambaran mikroskopis ginjal antara kelompok tikus wistar yang diinduksi DEN dengan kelompok tikus wistar yang tidak diinduksi DEN.
2. Terdapat perbedaan gambaran mikroskopis ginjal kelompok tikus wistar yang diinduksi DEN dan diberikan daun sukun dengan kelompok tikus wistar yang diinduksi DEN namun tidak diberikan daun sukun.

3. Terdapat perbedaan gambaran mikroskopis ginjal kelompok tikus wistar yang diinduksi DEN dan diberikan madu dengan kelompok tikus wistar yang diinduksi DEN namun tidak diberikan madu.
4. Terdapat perbedaan gambaran mikroskopis ginjal antara kelompok tikus wistar yang diinduksi DEN dan diberikan ekstrak daun sukun serta madu dibanding dengan kelompok tikus wistar lainnya.