BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. GGA yang Disebabkan Oleh NTA

GGA merupakan kondisi penurunan fungsi ginjal secara mendadak dalam periode jam sampai hari yang mengakibatkan akumulasi produk buangan nitrogen (azotemia) dan ketidakmampuan ginjal dalam mengatur cairan, elektrolit, dan keseimbangan asam basa. GGA juga didefinisikan sebagai kondisi adanya peningkatan Kreatinin serum lebih dari 0,3 mg/dL selama 48 jam atau peningkatan Kreatinin serum lebih dari 1,5 kali nilai normal selama tujuh hari atau volume urin kurang dari 0,5 ml/kg/ jam selama 6 jam (KDIGO, 2012). GGA yang dikarenakan NTA (Nekrosis Tubular Akut) adalah salah satu jenis dari GGA intrinsik yaitu GGA yang terjadi akibat kerusakan pada struktur ginjal, utamanya kerusakan pada sel-sel tubulus (Dipiro et al., 2008). NTA merupakan kondisi yang secara patologis ditandai dengan adanya sel tubulus ginjal yang rusak dan mati akibat kondisi iskemia atau agen nefrotoksik (Rinawati dan Diana, 2011). Tidak ada aturan yang baku untuk diagnosis NTA namun kondisi NTA dapat dilihat dengan adanya sel yang nekrosis dan hilangnya lumen sel tubulus (Atlas of Pathology, 2009). Selain itu secara klinis biasanya NTA ditandai dengan turunnya GFR hingga 50% dan meningkatnya kadar kreatinin di darah sebesar 0,5 mg/dL (Rinawati dan Diana, 2011).

Sebanyak 85% kasus GGA intrinsik disebabkan oleh NTA. Sebanyak 50% merupakan akibat dari kondisi iskemia pada ginjal dan 35% akibat dari paparan toksin secara langsung pada tubulus ginjal. Paparan toksin ini bisa berupa toksin endogen yang meliputi mioglobin, hemoglobin, atau asam urat atau toksin eksogen yang meliputi agen kontras dan obat yang bersifat nefrotoksik

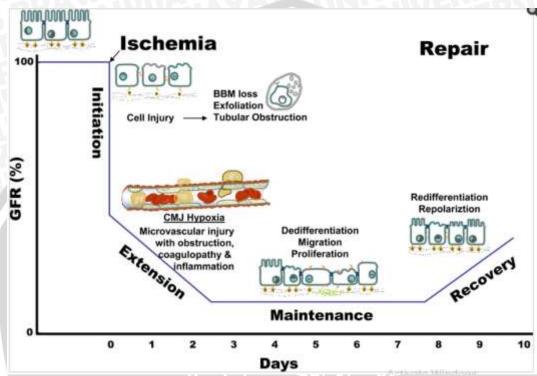
seperti golongan aminoglikosida (Dipiro *et al.*, 2008). Prevalensi terjadinya NTA di Amerika sebesar 1% saat pasien masuk rumah sakit dan meningkat menjadi 2-5% saat pasien dirawat di rumah sakit. NTA menjadi penyebab GGA pada pasien yang dirawat di rumah sakit dengan prevalensi sebesar 38% dan pada pasien perawatan intensif dengan prevalensi sebesar 76%. Mortalitas NTA pada pasien yang dirawat di rumah sakit sebesar 37,1% sedangkan pada pasien yang dirawat di unit perawatan intensif sebesar 78,6% (Rinawati dan Diana, 2011).

Gejala yang mengawali diagnosis GGA bervariasi, diantaranya meningkatnya kreatinin serum, penurunan pengeluaran urin, darah dalam urin, nyeri ketika buang air kecil, dan nyeri abdomen sampai ke pinggang (Dipiro *et al.*, 2008). Adanya edema menunjukkan adanya tanda sindroma nefrotik. Selain itu kondisi GGA juga dapat dievaluasi melalui hasil laboratorium. Salah satu pengukuran yang paling sering digunakan untuk memonitor kondisi penyakit ginjal adalah estimasi GFR dan kadar Kreatinin serum. Kondisi GGA akan menurunkan nilai GFR dan meningkatkan kadar Kreatinin serum. Selain itu untuk kondisi GGA sedimen urin bisa mengandung sel darah merah, sel darah putih, eosinofil, kristal, mioglobin, dan sisa sel tubular (Kimble, 2013).

Penyebab dari NTA dibagi menjadi dua yaitu kondisi iskemia dan paparan agen nefrotoksik. Kondisi iskemia dikarenakan adanya sepsis, syok, dan trauma dikarenakan terjadinya hipoperfusi pada kondisi sepsis dan syok dan kondisi hipovolemia pada kondisi trauma. Agen nefrotoksik dapat berasal dari endogen seperti myoglobin dan eksogen seperti obat golongan NSAID, aminoglikosida, siklosporin, anti neoplasma (cisplastin dan metotreksat), dan bahan kontras radioaktif (Rinawati dan Diana, 2011).

Penyakit NTA memiliki 3 fase perjalanan yaitu inisiasi, kerusakan menetap, dan penyembuhan. Pada fase inisiasi mulai terjadi kerusakan sel epitel tubulus, penurunan GFR, dan penurunan jumlah urin. Untuk fase kerusakan

menetap kerusakan sel tubulus berlanjut, nilai GFR di bawah normal, dan jumlah urin sedikit atau bahkan terjadi anuri. Fase ini berlangsung selama 1-2 minggu atau berlanjut sampai beberapa bulan. Pada fase penyembuhan terjadi polyuria dan peningatan GFR (Rinawati dan Diana, 2011).



Gambar 2.1. Fase-Fase NTA dan Hubungan dengan GFR

Untuk patofisiologi dari NTA yang memicu GGA dibagi menjadi dua yaitu akibat kondisi iskemia dan paparan nefrotoksin. Pada kondisi iskemia terjadi deplesi ATP secara cepat. Kondisi ini menyebabkan gangguan sitoskeletal epitel tubulus dan hilangnya microvilli dengan adanya perpindahan molekul integrin dari basal menuju apikal. Akibatnya adesi epitel terhadap tubulus terlepas dan dinding tubulus menjadi bocor. Selain itu kerusakan pada tubulus menyebabkan jumlah natrium di lumen meningkat karena tidak bisa direabsorpsi oleh tubulus dan terjadi peningkatan protein Tamm-Horsfall yang membentuk jel polimerik dan mengakibatkan buntuan di tubulus distal. Selain itu deplesi ATP juga menyebabkan pembentukan ROS. Kerusakan akibat ROS yang disertai dengan

vasokonstriktor seperti endotelin mengakibatkan terjadinya vasokonstriksi, kongesti, hipoperfusi, dan ekspresi molekul adesin yang sitokin yang mengakibatkan obstruksi mikrovaskular. Selain itu peningkatan ROS dan pelepasan sitokin dapat merusak epitel tubulus dan mengakibatkan terjadinya NTA (Rinawati dan Diana, 2011). Onset dari NTA bisa terjadi selama beberapa jam atau bahkan sampai beberapa hari. Ketika toksin dan kodisi iskemia telah hilang fase perbaikan terjadi selama beberapa minggu sampai beberapa bulan. Fase perbaikan ini terjadi dengan terjadinya regenerasi sel tubulus yang baru. Namun jika kondisi iskemia dan paparan zat nefrotoksik terjadi lebih lama maka nekrosis dapat terjadi dan terjadi pembatasan kemampuan tubulus untuk regenerasi. Kerusakan sel tubulus ini akan menurunkan fungsi tubulus dan juga dapat mengakibatkan obstruksi tubulus. Kondisi ini akan memicu kondisi GGA (Dipiro et al., 2008).

Paparan agen nefrotoksik seperti obat golongan aminoglikosida dapat merusak sel tubulus ginjal. Hal ini dikarenakan obat tersebut banyak terakumulasi di korteks ginjal karena muatan dari obat ini menyebabkan ikatan dengan membran sel di jaringan lain tidak bagus dan akibatnya jaringan kosteks ginjal bertanggung jawab secara tunggal untuk akumulasi obat tersebut. Obat golongan aminoglikosida akan berikatan dengan membran pospolipid sel yang anionik dan kemudian masuk ke dalam sel dan berikatan dengan organel sub seluler atau dikarenakan diambil oleh lisosom. Interaksi obat nefrotoksik ini dengan membran sel, mitokondria, dan mikrosom mengakibatkan kerusakan sel tubulus. Agen nefrotoksik ini dapat merubah fungsi mitokondria dan terjadi peningkatan radikal bebas. Produksi dari radikal bebas ini mengakibatkan sel mengalami kerusakan (Erdem et al., 2000).

Pencegahan NTA biasanya dilakukan dengan penurunan paparan yang menjadi faktor risiko, misalnya menggunakan kontras dengan volume yang

rendah, menurunkan dosis obat yang bersifat nefrotoksik, dan mencegah kondisi iskemia. Untuk manajemen kondisi ATN biasanya dilakukan dengan penghentian paparan zat nefrotoksik, penggunaan agen vasoaktif seperti dopamin dan fenoldopam, furosemide dan mannitol, *Atrial Natriuretic Peptide*, faktor pertumbuhan, *fenotoxifulline*, dan dialisis. Namun terapi-terapi ini belum menunjukkan perbedaan secara signifikan terhadap lama tinggal pasien di rumah sakit dan tingkat mortalitas pasien. Selain itu peran terapi-terapi ini juga belum terlalu jelas untuk kondi NTA (Gill, 2005).

Tata laksana GGA oleh karena paparan agen nefrotoksik maka dilakukan penghentian penggunaan zat nefrotoksik. Terapi farmakologi yang biasa digunakan untuk kondisi GGA adalah diuretik, mannitol, dan dopamin. Obat diuretik seperti furosemid memiliki mekanisme berupa penghambatan terhadap Na+/K+-ATPase pada sisi luminal sel sehingga terjadi penurunan kebutuhan energi pada sel *thick limb* pada lengkung Henle. Kondisi GGA oligouria memiliki prognosis yang lebih buruk jika dibandingkan dengan non-oligouria sehingga para klinisi memberikan diuretik untuk merubah kondisi oligouria menjadi non-oligouria dan diharapkan bisa mencegah kebutuhan dialisis. Namun, terapi ini masih kontroversi karena berdasarkan studi meta-analisis, terapi ini tidak terbukti dapat menurunkan angka kematian, kebutuhan dialisis dan lama rawat inap di rumah sakit. Terapi ini justru memiliki efek samping ototoksik pada dosis tinggi (Ho dan David, 2006).

Manitol diduga dapat meningkatkan translokasi cairan ke intravaskuler sehingga dapat memperbaiki kondisi GGA, khususnya pada kondisi oligouria. Namun mannitol ini justru bersifat nefrotoksik dan menyebabkan agregasi eritrosit dan menurunkan aliran darah. Efek ini muncul ketika pemberian lebih dari 250 mg/kg tiap 4 jam. Berdasarkan penelitian lain manitol memang dapat meningkatkan produksi urin namun tidak dapat memperbaiki prognosis pasien.

Dopamin biasanya digunakan dengan dosis rendah yaitu 0,5-3 µg/kgBB/menit yang bekerja pada reseptor DA1 dan DA2 di ginjal. Dopamin ini dapat membuat pembuluh darah vasodilatasi dengan efek akhir peningkatan aliran darah ke ginjal. Berdasarkan penelitian meta-analisis, terapi dopamin ini tidak terbukti bermanfaat dan memiliki banyak efek samping seperti iskemia miokard, gangren, iskemia mukosa saluran cerna dan takiaritmia (Sinto et al., 2010). Selain terapi ini biasanya untuk kondisi yang lebih parah maka dilakukan terapi RRT yang meliputi hemodialisis dan hemofiltrasi. Namun klinisi cenderung menunda terapi ini karena terapi ini memiliki banyak risiko seperti hipotensi, aritmia, bio-inkompatibel pada membran, dan komplikasi pembuluh darah pada jalur masuk. Selain RRT dianggap dapat memperbaiki kondisi GGA terdapat kemungkinan lain bahwa RRT dapat meningkatkan progresi GGA menjadi gagal ginjal kronis. RRT diinisiasi pada kondisi darurat dan mengancam jiwa karena perubahan cairan, elektrolit dan ketidakseimbangan asam-basa (KDIGO, 2012).

2.2. ROS Pada NTA

ROS memiliki peranan yang sangat penting pada potensi terjadinya NTA. ROS pada NTA terjadi karena adanya kondisi iskemik, paparan zat nefrotoksik seperti cisplatin, gentamisin, merkuri, endotoksin, dan gliserol yang dapat mengakibatkan inflamasi dan gangguan hemodinamik. Jenis ROS yang menyebabkan kondisi NTA biasanya meliputi anion superoksida, hidrogen peroksida, radikal hidroksi nitrit oksida dan peroksinitrit. Superoksida dibentuk dari oksigen yang menerima satu elektron yang bersifat radikal dan sangat reaktif yang mengalami dismutasi menjadi hidrogen peroksida dengan adanya superoksida dismutasi (SOD). Pada kondisi iskemik ginjal terjadi perubahan D-xantin oksidasi (xantin dehidrogenase) menjadi O-xantin oksidasi yang

BRAWIJAYA

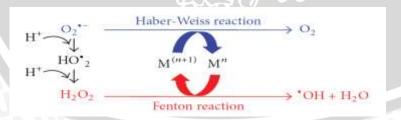
menggunakan oksigen dibandingkan NAD sebagai penerima elektron yang memicu kerusakan ginjal (Basile *et al.*, 2012).

Sumber primer dari produksi ROS endogen adalah mitokondria, membran plasma, retikulum endoplasma, dan peroksisom melalui mekanisme reaksi enzimatik atau auto oksidasi pada beberapa senyawa seperti katekolamin dan hidrokuinon, sedangkan stimulus dari eksogen bisa berupa asap rokok, infeksi patogen, toksin, dan paparan herbisida atau insektisida (Ayala et al., 2014). Perubahan rantai transport elektron mitokondria merupakan sumber ROS yang potensial terhadap terjadinya NTA yang mengakibatkan kondisi GGA. ROS diproduksi pada NADH dehidrogenase dan sisi ubisemikuinon karena kegagalan aliran elektron pada suksinat-sitokrom C. Blokade rantai transpor elektron mitokondria juga dapat meningkatkan superoksida yang merupakan salah satu jenis ROS. Selain itu infiltrasi leukosit dengan kadar NADPH yang tinggi juga merupakan sumber superoksida pada NTA. Besi bebas juga dapat berkontribusi dalam pembentukan stress oksidatif melalui katalisasi reaksi Fenton. Besi biasanya terdapat pada sisi protein plasma dan gugus heme, namun karena adanya luka maka besi dibebaskan dan berinteraksi dengan hidrogen peroksida membentuk radikal hidroksil yang lebih membahayakan (Basile et al., 2012).

2.3. Peroksidasi Lipid

Pada kondisi NTA terjadi peningkatan ROS akibat gangguan pada mitokondria di tubulus .Salah satu akibat dari ROS pada NTA adalah kerusakan sel tubulus, jaringan epitel tubulus, dan organ ginjal yang dikarenakan kerusakan oksidatif (Basile *et al.*, 2012). Tingginya kadar ROS dapat secara langsung merusak lipid. Jenis ROS yang paling merusak lipid adalah radikal hidroksil (HO') dan hidroperoksil (HO'2). Radikal hidroksil berukuran kecil, bergerak bebas, larut air dan secara kimia merupakan senyawa oksigen yang paling reaktif. Molekul ini

bisa diproduksi dari O2 pada metabolisme sel dan di bawah berbagai kondisi stres. Setiap satu sel memproduksi sekitar 50 radikal hidroksil setiap detik, dalam satu hari maka satu sel dapat memproduksi 4 juta radikal hidroksil yang dapat dinetralkan atau dapat menyerang biomolekul. Radikal hidroksil dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada sel tubulus karena menyerang biomolekul yang terletak kurang dari beberapa nanometer dari tempatnya secara tidak spesifik dan berperan dalam gangguan seluler. Umumnya, radikal hidroksil pada sistem biologis dibentuk melalui siklus redoks oleh reaksi Fenton yaitu besi bebas (Fe²⁺) bereaksi dengan hidrogen peroksida (H₂O₂) dan reaksi Haber-Weiss yang menghasilkan pembentukan Fe²⁺ ketika superoksida bereaksi dengan Fe³⁺. Selain itu sejumlah logam transisi seperti Cu, Ni, Co, dan V dapat bertanggung jawab atas pembentukan radikal hidroksil pada sel hidup. Hidroksil peroksida memainkan peran yang penting dalam peroksidasi lipid secara kimia. Bentuk dari superoksida dari hidrogen peroksida yang terprotonasi dapat bereaksi dengan logam aktif redoks termasuk besi atau tembaga yang lebih menghasilkan radikal hidroksil melalui reaksi Fenton atau Haber-Weiss. Hidroksil peroksida ini merupakan oksidan yang lebih kuat jika dibandingkan dengan radikal anion superoksida dan bisa mengoksidasi rantai fosfolipid tak jenuh ganda, sehingga mengarah pada gangguan fungsi membran (Ayala et al., 2014).



Gambar 2.2. Reaksi Fenton dan Haber-Weiss (Ayala et al., 2014)

Keterangan:

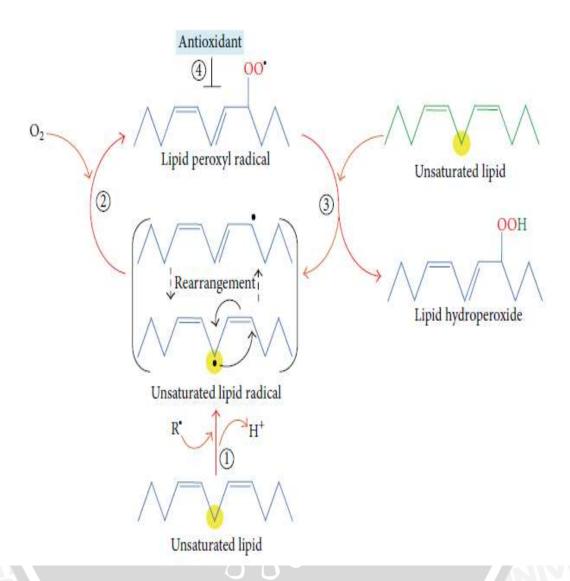
Pembentukan logam transisi (Mⁿ) yang bereaksi dengan reaksi Fenton dengan hidrogen peroksida yang memicu pembentukan radikal hidroksil. Radikal superoksida (O2·−) dapat bereaksi dengan logam teroksidasi (M⁽ⁿ⁺¹⁾) dengan reaksi Haber-Weiss yang menghasilkan produksi Mⁿ yang mengakibatkan siklus redoks kembali (Ayala *et al.*, 2014).

Lipid dibagi menjadi dua jenis yaitu lipid apolar (trigliserida) yang disimpan dalam berbagai sel terutama di jaringan adiposa dan lipid polar yang merupakan komponen struktur membran sel yang berperan dalam *barier* permeabilitas sel dan organel subseluler dalam bentuk lipid bilayer. Pentingnya membran lipid ini adalah untuk mengontrol keadaan fisiologis dan membran organel dengan memodifikasi aspek biofisika, seperti polaritas dan permeabilitas. Lipid juga memiliki peran dalam penghantaran sinyal tingkat molekul (Ayala *et al.*, 2014).

Peroksidasi lipid merupakan proses oksidan seperti radikal bebas atau spesies non radikal menyerang lipid yang mengandung karbon dengan ikatan rangkap terutama asam lemak tak jenuh yang melibatkan pemisahan hidrogen dari karbon dengan penyisipan oksigen yang menghasilkan radikal lipid peroksidasi. Lipid juga dapat dioksidasi oleh enzim seperti lipoksigenase, siklooksigenase, dan sitokrom P450. Respon dari peroksidasi membran lipid menurut metabolik sel spesifik dan kapasitas perbaikan maka dapat memicu pertahanan hidup sel atau menginduksi kematian sel. Kondisi peroksidasi lipid yang medium atau tinggi maka kerusakan oksidatif mengalahkan mekanisme perbaikan dan pertahanan sel dan menginduksi apoptosis atau nekrosis yang memprogram kematian sel. Tahapan peroksidasi lipid meliputi inisiasi, propagasi, dan terminasi. Tahap inisiasi adalah ketika prooksidan seperti radikal hidroksil memisahkan ikatan hidrogen dan membentuk radikal lipid carbon-centered (L.). fase propagasi (L·) bereaksi secara cepat dengan oksigen dan membentuk radikal lipid peroksi (LOO·) yang memisahkan hidrogen dan membentuk molekul lipid lainnya yang bersifat radikal (L·) (berlanjut seterusnya) dan lipid hidroperoksida (LOOH). Reaksi terminasi, antioksidan seperti vitamin E memberikan atom hidrogen pada LOO dan membentuk produk non-radikal.

BRAWIJAYA

Ketika terjadi proses inisiasi maka akan terjadi proses propagasi terus menerus sampai adanya reaksi terminasi (Ayala *et al.*, 2014).



Gambar 2.3. Proses Peroksidasi Lipid (Ayala et al., 2014)

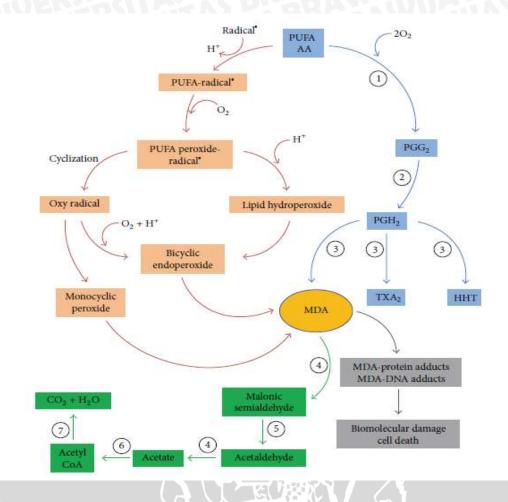
Keterangan:

Tahap inisiasi, prooksidan memisahkan hidrogen dan membentuk radikal lipid *carbon centered*; radikal karbon cenderung distabilkan oleh molekul pengatur kembali membentuk diena terkonjugasi (langkah1). Fase propagasi, radikal lipid dengan cepat bereaksi dengan oksigen dan membentuk radikal lipid peroksi (langkah 2) yang memisahkan hidrogen dari molekul lipid lainnya membentuk radikal lipid yang baru dan lipid hidroperoksida (langkah 3). Reaksi terminasi, antioksidan memberikan hidrogen pada radikal peroksi lipid menghasilkan pembentukan produk tidak radikal (langkah4) (Ayala *et al.*, 2014).

2.4. MDA Pada Peroksidasi Lipid Sel Tubulus

MDA merupakan tiga karbon dialdehida yang sangat reaktif yang terbentuk dari proses peroksidase asam lemak tak jenuh dan juga metabolisme asam arakidonat untuk sintesis prostaglandin melalui proses enzimatik maupun tidak. MDA dapat bergabung dengan beberapa gugus fungsi pada molekul seperti protein, lipoprotein, RNA, dan DNA. Pemantauan kadar MDA dapat digunakan sebagai indikator yang penting untuk peroksidase lipid pada beberapa penyakit (Jetawattana, 2005).

MDA hasil peroksidase lipid pada NTA termasuk dalam jenis MDA nonenzimatik. Radikal peroksil dari hidroperoksida dengan ikatan cis-ganda homoallylic kelompok peroksil memungkinkan siklisasi dengan penambahan radikal intramolekuler untuk ikatan ganda dan pembentukan radikal baru. Radikal bebas yang terbentuk setelah siklisasi dapat melakukan siklisasi lagi membentuk endoperoksida yang terkait dengan prostaglandin dan menjalani proses turunan membentuk MDA (Ayala et al., 2014).



Gambar 2.4. Pembentukan dan metabolisme MDA (Ayala et al., 2014)

Keterangan:

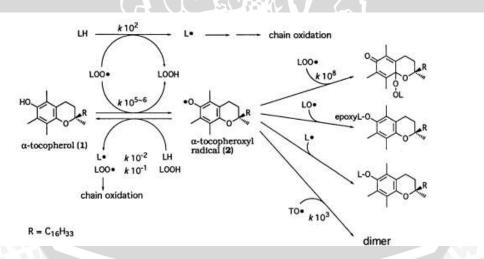
MDA dapat terbentuk dari dekomposisi asam arakidonat (AA) dan lebih luas PUFA sebagai produk sampingan dari proses enzimatik selama proses biosintesis tromboxan A2 (TXA2) dan asam 12-l-hidroksi-5,8,10,-heptadekatrienoik (HHT) (jalur biru), atau melalui proses non-enzimatik dengan siklus endoperoxida yang diproduksi selama peroksidasi lipid (jalur merah). MDA yang terbentuk dapat dimetabolisme secara enzimatik (jalur hijau). Enzim kunci yang terlibat dalam pembentukan MDA: siklooksigenase (1), prostasiklin hidroperoksidasi (2), tromboksan sintase (3), aldehid dehidrogenase (4), dekarboksilasi (5), asetil CoA sintase (6), dan asam trikarbosilik (7) (Ayala *et al.*, 2014).

Pengukuran MDA yang paling umum adalah berdasarkan reaksi dengan asam tiobarbiturat (TBA). Substansi reaktif TBA (TBARS) menggunakan metode kolorimetri yang digunakan untuk mengukur peroksidasi lipid. MDA direaksikan dengan TBA di bawah suhu 90-100°C dan kondisi asam. Reaksi akan menghasilkan warna merah muda (2 mol TBA dan 1 mol MDA). Kompleks warna dapat diekstraksi menggunakan pelarut organik seperti butanol dan diukur

menggunakan fluorometri atau spektrofotometri dengan panjang gelombang 532 nm dengan koefisien $\epsilon_{532} = 1,53 \times 10^5 \,\mathrm{M}^{-1} \,\mathrm{cm}^{-1}$ (Jetawattana, 2005).

2.5. Minyak Kelapa Sawit

Proses peroksidasi lipid yang memicu NTA terjadi melalui tiga tahapan yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Proses produksi radikal baru pada tahap propagasi tidak akan berhenti sampai rantai yang membawa radikal peroksil bertemu dengan senyawa antioksidan yang membentuk fase inaktif. Salah satu antioksidan dalam vitamin E adalah tokoferol. Tokoferol memutus rantai dan menghambat proses propagasi dengan memberikan atom hidrogen pada gugus fenoliknya pada radikal peroksil dan mengubahnya menjadi hidroperoksida. Radikal tokoferol yang terbentuk bersifat stabil dan tidak melanjutkan rantai propagasi. Senyawa ini justru dibuang dari siklus dengan reaksi bersama radikal peroksil lainnya dan membentuk senyawa inaktif dan tidak radikal (Yamauchi, 1997).



Gambar 2.5. Reaksi Antioksidan Dengan Peroksidasi Lipid (Yamauchi, 1997)

Keterangan:

Tokoferol memutus rantai dan menghambat proses propagasi dengan memberikan atom hidrogen pada gugus fenoliknya pada radikal peroksil dan merubahnya menjadi hidroperoksida. Radikal tokoferol yang terbentuk bersifat stabil dan tidak melanjutkan rantai propagasi. Senyawa ini justru dibuang dari siklus dengan reaksi bersama radikal peroksil lainnya dan membentuk senyawa inaktif dan tidak radikal (Yamauchi, 1997).

BRAWIUAL

BRAWIJAYA

Salah satu dari sumber vitamin E adalah minyak kelapa sawit. Minyak kelapa sawit adalah minyak yang berasal dari tanaman kelapa sawit yang memiliki sistem klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Subkingdom: Traceobionta

Superdivision: Spermatophyta

Division : Magliophyta

Class : Liliopsida

Subclass : Arecidae

Order : Arecales

Family : Arecaceae

Genus : Cocos L

Species : Cocos nucifera L.

Minyak kelapa sawit banyak tumbuh pada daerah tropis dan merupakan minyak yang banyak dikonsumsi kedua setelah minyak kedelai. Ekstrak minyak kelapa sawit mengandung trigliserida dan beberapa senyawa fitokimia yaitu karoten, tokoferol, tokotrienol, squalene, sterol, dan koenzim Q (Saifudin *et al.*, 2014). Senyawa-senyawa ini merupakan jenis senyawa fenolik yang memiliki kadar cukup tinggi pada kelapa sawit jika dibandingkan dengan the hijau. Senyawa fenolik ini memiliki fungsi sebagai antioksidan yang sangat poten, utamanya adalah senyawa vitamin E. Vitamin E dalam minyak kelapa sawit meliputi tokoferol, tokomonoenol, dan tokotrienol. Senyawa tokotrienol memiliki cincin tak jenuh sehingga lebih mudah berinteraksi dengan sel dan semakin mudah mengoptimalkan fungsi antioksidan pada jaringan. Tokotrienol paling banyak terdapat pada minyak kelapa sawit dari total vitamin E mencapai 60%, sedangkan kandungan tokoferol sebesar 36% (Han *et al.*, 2004).

Pada penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa minyak kelapa sawit yang berasal dari daun kelapa sawit dapat berperan sebagai antioksidan yang menurunkan peroksidasi lipid sehingga dapat melindungi ginjal dari kerusakan akibat kondisi diabetes melitus. Pada penelitian tersebut disebutkan bahwa minyak kelapa sawit dengan dosis 100 mg/kgBB tikus terbukti memiliki efek proteksi terhadap ginjal. Namun dengan dosis di atas 200 mg/kgBB efek yang diberikan tidak terlalu baik. Sehingga ada dosis optimum untuk penggunaan minyak kelapa sawit sebagai agen yang melindungi ginjal dari kerusakan (Tan et al., 2011)

2.6. Mikrosfer Kitosan Sebagai Pembawa Minyak Kelapa Sawit Menuju Ginjal

Minyak kelapa sawit merupakan senyawa non polar. Senyawa non polar memiliki kekurangan di dalam mempertahankan bioavabilitasnya dikarenakan senyawa ini akan mengalami kesulitan ketika menembus bagian membran sel yang bersifat hidrofolik. Selain itu pada dosis yang lebih dari dosis yang dapat ditoleransi, vitamin E yang terkandung dalam minyak kelapa sawit dapat memiliki efek berupa perdarahan. Perdarahan yang terjadi memiliki mekanisme yaitu vitamin E memiliki sifat anti agregasi platelet dan vitamin E dapat mengganggu fungsi hati dalam mensintesis faktor pembekuan darah sehingga mengakibatkan perpanjangan waktu protrombin dan terjadi perdarahan (*National Institutes of Health*, 2016). Untuk mengurangi efek samping sistemik dan meningkatkan bioavaibilitas minyak kelapa sawit dalam tubuh maka diperlukan sistem pembawa yang bisa membawa minyak kelapa sawit menuju ginjal.

Salah satu polimer yang dapat digunakan untuk menghantarkan minyak kelapa sawit menuju ginjal adalah kitosan. Kitosan merupakan polisakarida yang tersusun atas N-asetil glukosamin dan glukosamin. Kitosan tidak ditemukan

secara langsung di alam, namun kitosan diturunkan dari deasetilasi sebagian dari polimer kitin. Dikatakan sebagai kitosan apabila kitin yang dideasetilasi mengandung paling tidak 60% residu glukosamin yang dinyatakan dalam derajat deasetilasi sebesar 60. Derajat deasetilasi ini juga mempresentasikan jumlah asam amino sepanjang rantai kitosan. Berbeda dengan kitin yang tidak memiliki gugus amino, kitosan memiliki gugus amino yang memungkinkan untuk menjadi proton ketika dilarutkan dalam larutan asam (pH < 6). Dengan demikian maka kitosan mudah larut dalam larutan asam (pH < 6). Selain itu, dikarenakan kitosan memiliki muatan positif maka kitosan bisa berinteraksi dengan bagian sel membran yang bersifat negatif dan membuka *tight junction* dan meningkatkan permeasi (Croisier dan Christine, 2013).

Kitosan memiliki sifat *biodegradable* dan biokompatibel sehingga polimer ini relatif aman untuk sistem penghantar. Kitosan bersifat *biodegradable* dikarenakan kitosan dapat terdegradasi oleh enzim dalam tubuh, khususnya enzim lisozim, sedangkan bersifat biokompatibel karena kitosan tidak bersifat toksik pada jaringan tubuh dan tidak menimbulkan interaksi tertentu yang membahayakan tubuh. Kitosan dapat memiliki banyak fungsi seperti sebagai agen penyalut, pembentuk gel, matriks pelepasan terkontrol, dan penghantar obat secara spesifik (Mitra dan Baishakhi, 2011).

Rata-rata berat molekul kitosan sebesar 3.800-2.000.000 kDa dengan derajat deasetilasi 66-95. LMWC merupakan kitosan dengan berat molekul sebesar 19-31 kDa yang diperoleh dari hasil hidrolisis kitosan. LMWC memiliki kemampuan untuk membawa obat menuju ke ginjal karena secara spesifik akan terambil oleh sel tubulus ginjal dan akan melepaskan obat dengan mekanisme enzimatik atau hidrolisis (Zhou *et al.*, 2013). Selain itu kitosan dengan berat molekul kurang dari 70 kDa dapat meningkatkan akumulasi obat di ginjal karena kitosan ini dapat membawa obat menuju ginjal dengan menghindari pengambilan

obat oleh organ hati dan limfa. Selain itu setelah obat sudah sampai di glomerulus kitosan ini akan membawa obat berpindah dari sirkulasi menuju tubulus dengan mudah dan kitosan dengan berat molekul rendah ini akan berikatan dengan reseptor megalin di tubulus sehingga obat dapat dibawa menuju tubulus (Yuan et al., 2011). Salah satu formulasi bentuk sediaan kitosan adalah dalam bentuk mikrosfer kitosan. Mikrosfer merupakan sistem pembawa solid dengan ukuran 1-1000 µm yang dapat diaplikasikan pada jaringan tertentu yang sudah ditargetkan agar bisa masuk karena ukurannya yang kecil. Mikrosfer dibuat dengan polimer, lilin, dan material pelindung lainnya (Manjula et al., 2011). Mikrosfer kitosan merupakan sistem pembawa obat dengan polimer kitosan dalam bentuk mikrosfer yang bisa membawa obat menuju ke ginjal (Zhou et al., 2013). Terdapat banyak metode dalam pembuatan mikrosfer. Salah satu metode pembuatan mikrosfer adalah emulsi mikrosfer cross linking. Metode pembuatan ini dapat digunakan untuk bahan aktif yang bersifat non polar seperti minyak kelapa sawit (Mitra dan Baisakhi, 2011).

2.7. Gentamisin Sebagai Agen Nefrotoksik

Gentamisin merupakan obat antibiotik yang memiliki efek samping nefrotoksik. Efek samping yang sering terjadi dari penggunaan gentamisin adalah ototoksik dan nefrotoksik. Efek ini biasanya muncul setelah penggunaan lebih dari 5 hari (Katzung, 2004). Nefrotoksik akibat golongan aminoglikosida ditandai dengan penurunan kapasitas konsentrasi urin, proteinuria tubulus, glukosuria ringan, penurunan ekskresi amonium dan penurunan GFR. Berdasarkan studi *in vitro* telah ditunjukkan bahwa aminoglikosida meningkatkan peroksidasi membran fosfolipid dan dilaporkan bahwa ada peningkatan peroksidasi lipid kortikal pada tikus yang diberi gentamisin. Peningkatan peroksidase lipid ini dapat mengakibatkan kerusakan sel tubulus (Badwi *et al.*, 2012).

Gentamisin dieksresi dalam urin dalam bentuk tidak berubah di ginjal. Gentamisin yang sampai di ginjal akan menuju tubulus proksimal yang banyak mengandung mitokondria, gentamisin ini akan diambil oleh reseptor megalin dan mengakibatkan gangguan pada mitokondria. Gangguan pada mitokondria ini mengakibatkan peningkatan ROS dan peroksidase lipid sehingga terjadi NTA (Leung et al., 2004). Kerusakan ginjal akibat agen nefrotoksik seperti gentamisin ini sebesar 35% (Dipiro et al., 2008). Pada beberapa penelitian disebutkan bahwa pemberian gentamisisn dengan dosis 40-200 mg/KgBB tikus dengan durasi 4-10 hari dapat mengakibatkan tikus mengalami GGA. Durasi induksi yang sering digunakan adalah selama 5 hari dengan dosis sebesar 100 mg/KgBB secara intraperitonial (ip) (Singh et al., 2012).