

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Oksigen (O_2) merupakan salah satu komponen gas terpenting dalam proses metabolisme. Oksigen berperan sebagai akseptor elektron terakhir dalam reaksi rantai transport elektron. Rantai transport elektron menggunakan lebih dari 90% dari konsumsi oksigen total. Pada rantai transport elektron, oksigen mendapatkan donor elektron dari *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Hydrogen* (NADH) dan *Flavin Adenine Dinucleotide Dihydrogen* FAD(2H). Selain itu oksigen yang dikonsumsi digunakan pada reaksi yang dikatalisis oleh enzim-enzim yang menggunakan oksigen sebagai substrat, seperti oksidase dan oksigenase.¹ Pada kondisi normal (normoksia), $PaO_2 \sim 160\text{mmHg}$, saturasi oksigen (SaO_2) $\sim 93\%$, fraksi inspirasi O_2 ($Fi O_2$) ~ 0.21 . Jika kondisi terjadi dibawah nilai tersebut, dapat menyebabkan hipoksia, ataupun hiperoksia jika terjadi diatas nilai tersebut. Hipoksia patologis terjadi pada sel bila $PaO_2 \sim 8\text{mmHg}$ dan level oksigen pada jaringan $\sim 1\%$.²

Hipoksia merupakan suatu kondisi dimana oksigen dalam tubuh tidak tercukupi untuk melakukan fungsi fisiologis. Pada kondisi hipoksia, terjadi proses homeostatis oleh sel untuk beradaptasi terhadap stres, untuk mencegah ataupun memperbaiki kerusakan sel. Homeostatis yang terjadi banyak melibatkan mekanisme kompensasi pada regio sistemik, lokal, maupun tingkat seluler. Perubahan yang terjadi pada kondisi hipoksia, akan menimbulkan terjadinya perubahan seperti transkripsi gen, aktifitas protein, modifikasi pasca-translasi protein sebagai respon cepat untuk mengembalikan kondisi yang fisiologis, dan mendorong untuk terjadinya perbaikan pada sel atau jaringan yang rusak. Ketika proses homeostatis gagal, sel akan terpaan hipoksia terus-menerus sampai pada

akhirnya terjadi kematian sel.³ Hipoksia dapat memicu terbentuknya radikal bebas berlebihan pada mitokondria.⁴

Radikal bebas merupakan suatu atom atau molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan di orbital terluar. Senyawa ini sangat reaktif dan dapat mencetuskan reaksi berantai dengan mengekstrasi sebuah elektron dari molekul disekitarnya untuk melengkapi orbitalnya sendiri. Molekul radikal bebas hanya memiliki masa hidup yang singkat (sekitar 10^{-9} sampai 10^{-12} detik), sebelum molekul ini bergabung dengan molekul lain untuk mencapai suatu stabilitas.⁵ Sifat molekul radikal yang dapat mengekstrasi elektron dari molekul lain disekitarnya untuk mencapai stabilitas, dapat memicu terjadinya kerusakan pada biomolekul seperti protein, karbohidrat, asam nukleat dan lipid yang berada disekitar molekul radikal tersebut dengan cara mengambil elektron pada molekul tersebut.

Salah satu molekul radikal yang paling merusak dalam sistem biologis adalah golongan *Reactive Oxygen Species* (ROS), seperti hidroksil ($\text{OH}\cdot$), anion superoksida (O_2^-), dan hidrogen peroksida (H_2O_2).¹ Terbentuknya ROS didalam tubuh, dapat disebabkan oleh proses fisiologis, kondisi hipoksia dan hiperoksia. Normalnya, elektron yang di transfer melalui rantai transport elektron untuk mereduksi oksigen (O_2) menjadi air (H_2O) bocor sekitar 1-3% dari sistem tersebut dan memicu terbentuknya superoksida.⁶

Reactive oxygen species (ROS) dalam kadar tertentu berguna untuk adaptasi sel terhadap xenobiotik ataupun infeksi bakteri atau parasit.⁷ Dalam hal lain, ROS juga berguna sebagai vasodilator, dimana sel endotel mengeluarkan nitrit oksida ($\text{NO}\cdot$), selain itu $\text{NO}\cdot$ berperan sebagai *intercellular messenger* yang dapat menginduksi pelepasan berbagai neurotransmitter seperti asetilkolin, katekolamin, dan lain-lain.⁸ Kelebihan *Reactive oxygen species* (ROS) dalam kadar tertentu dapat dinetralkan oleh antioksidan melalui beberapa mekanisme. Namun, ketika suatu oksidan melebihi antioksidan didalam tubuh, akan memicu terjadinya stres oksidatif.⁶

Pengertian secara umum dari stres oksidatif pada tahun 1985 adalah sebuah gangguan dalam keseimbangan prooksidan-antioksidan, yang lebih mendukung

terhadap oksidan. Prooksidan dapat termasuk radikal bebas maupun non-radikal yang dihasilkan oleh enzim ataupun non-enzimatik. Perlu dicatat bahwa persepsi mengenai reaksi reduksi-oksidasi (redoks) pada sel hidup digunakan dalam proses mendasar regulasi redoks, secara kolektif disebut '*redox signaling*' dan '*redox control*.' Sehingga, pada tahun 2007 konsep dari stres oksidatif diperbaharui menjadi ketidak-simbangan antara oksidan dengan antioksidan yang mengarah kepada oksidan, yang menyebabkan gangguan pada '*redox signaling and control*' atau kerusakan pada tingkat molekuler.⁹

Stres oksidatif mengarah pada peningkatan oksidan seperti *reactive oxygen species* (ROS) yang dapat menyebabkan kerusakan pada lipid, protein maupun *deoxyribonucleic acid* (DNA).¹⁰ Indikasi terjadinya kerusakan oksidatif adalah terdapat peningkatan hasil oksidasi atau penurunan dari antioksidan. Beberapa hasil reaksi oksidasi dapat dijadikan biomarker dari stress oksidatif antara lain *malondialdehyde* (MDA), *4-hydroxynonenal* (4HNE), *8-iso-Prostaglandin F2alpha* (8-isoprostan), *Protein carbonyl content* (PCC), *8-hydroxdeoxyguanosine* (8-OHG), dan lain-lain.¹¹

Stres oksidatif berperan penting sebagai salah satu penyebab timbulnya berbagai penyakit, seperti neurodegeneratif yang merupakan suatu kondisi dimana sel saraf dari otak dan medulla spinalis mengarah pada kehilangan fungsinya (*ataxia*) atau disfungsi sensorik (*dementia*).¹² Pada paru-paru, keadaan stres oksidatif dapat menyebabkan terjadinya hipertensi pulmonal, dengan memicu terjadinya *remodeling* pada vaskular paru dan menyebabkan peningkatan tekanan pulmonal.⁹ Stres oksidatif dapat menjadi salah satu penyebab terjadinya *chronic obstructive pulmonary disease* (COPD), yakni suatu obstruksi pada paru-paru dengan karakteristik berupa pembatasan jumlah aliran udara persisten yang biasanya progresif dan berhubungan dengan respon inflamasi kronis yang meningkat pada saluran pernapasan dan paru-paru karena partikel asing ataupun gas.¹³ Ketidakseimbangan antara oksidan – antioksidan menjadi faktor yang signifikan pada *chronic obstructive pulmonary disease* (COPD).¹⁴ *Chronic obstructive pulmonary disease* (COPD) berhubungan juga dengan terjadinya hipertensi dari arteri pulmonal, hipoksemia, ataupun hiperkapnea.¹⁵

Untuk menghindari efek oksidan yang berbahaya bagi sel, tubuh mempunyai strategi untuk mencegah dan memperbaiki kerusakan oksidatif, yakni suatu sistem mekanisme pertahanan oleh antioksidan.¹⁶ Antioksidan sangat diperlukan tubuh untuk menyeimbangkan efek oksidan agar tidak terjadi stres oksidatif.⁶

Antioksidan dapat dibagi menjadi 2 golongan, yakni endogen dan eksogen. Antioksidan endogen sendiri dibagi menjadi 2, enzimatik dan non-enzimatik. Antioksidan endogen enzimatik seperti *superoxide dismutase* (EC.1.15.1.11), katalase (EC 1.11.1.6) dan glutathion peroksidase (EC 1.11.1.9), dan lain-lain. Antioksidan endogen non-enzimatik merupakan antioksidan seperti asam urat, dan glutathion (GSH) yang merupakan tripeptida (l- γ -glutamil-l-sisteinil-l-glisin) yang memiliki gugus Tiol (sulfhidril). Antioksidan eksogen seperti asam askorbat (vitamin C), α -tokoferol (vitamin E), *carotenoid*, fenolik, dan lain-lain. Antioksidan eksogen dapat diperoleh dalam bentuk sintetik maupun natural. Antioksidan natural diperoleh dari makanan seperti buah-buahan, ataupun sayuran.^{17,18}

Antioksidan eksogen dapat berupa produk dari '*secondary metabolites*' pada tanaman. Metabolit sekunder merupakan senyawa yang di sintesis oleh tumbuhan, mikrobia atau hewan melalui proses biosintesis yang digunakan untuk menunjang kehidupan tetapi tidak esensial.¹⁹ Metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan ini dapat ditemukan diberbagai macam tanaman, termasuk pada buah Maja.²⁰

Buah maja memiliki bahasa latin *Aegle marmelos*. Berasal dari divisi Spermatophyta, dengan kelas Dicotyledoneae, Ordo Sapindales, Family Rutaceae, Genus *Aegle*, dengan nama Spesies *Aegle marmelos* (L.) Correa.^{21,22} *Aegle marmelos* tumbuh luas di beberapa wilayah negara Asia Tenggara dan Asia Selatan seperti Indonesia, India, Sri Lanka, Malaysia, dan Vietnam.²³

Diketahui bahwa pada hewan coba yang di induksi diabetes, menunjukkan tingkat peroksid lipid (LOO \cdot), hidrogen peroksida (H₂O₂), *thiobarbituric acid reactive substance* (TBARS), dan creatinin kinase (CK), serta laktat dehidrogenase (LDH) meningkat lalu kemudian menurun setelah diberikan ekstrak dari daun dan buah *Aegle marmelos*. Antioksidan seperti glutathion peroksidase (GSH-PX),

katalase (CAT), *superoxide dismutase* (SOD) menunjukkan peningkatan yang bergantung dosis dan penurunan peroksida lipid (LOO \cdot) karena pemberian dari ekstrak daun *Aegle marmelos*.²³

Melihat berbagai manfaat dari *Aegle marmelos*, maka peneliti ingin mengetahui pengaruh hipoksia terhadap antioksidan dengan mengukur aktivitas spesifik enzim katalase yang terdapat di darah dan paru hewan coba setelah pemberian ekstrak buah *Aegle marmelos*.

1.2 Rumusan Masalah

1.2.1 Pernyataan masalah

Belum diketahuinya efek dari buah Maja terhadap enzim antioksidan pada organ paru tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik.

1.2.2 Pertanyaan Masalah

1. Apakah kandungan metabolit sekunder ekstrak buah Maja ?
2. Berapakah kapasitas antioksidan total ekstrak buah Maja?
3. Berapakah kadar fenolik ekstrak buah Maja ?
4. Berapakah kadar flavonoid ekstrak buah Maja ?
5. Bagaimanakah toksisitas ekstrak buah Maja ?
6. Bagaimanakah aktivitas spesifik enzim katalase pada darah dan paru tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik dengan diberikan ekstrak buah Maja ?
7. Bagaimanakah aktivitas spesifik enzim katalase pada darah dan organ paru tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik tanpa diberikan ekstrak buah Maja ?
8. Bagaimanakah aktivitas spesifik enzim katalase darah dan paru yang diinduksi hipoksia sistemik kronik pada kelompok yang diberikan ekstrak buah dibandingkan dengan tidak diberikan ekstrak buah Maja ?
9. Bagaimana hubungan antara aktivitas spesifik enzim katalase darah dengan organ paru tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik setelah diberikan ekstrak buah Maja ?

10. Bagaimana hubungan antara aktivitas spesifik enzim katalase darah dengan organ paru tikus yang di induksi hipoksia sistemik kronik tanpa diberikan ekstrak buah Maja ?
11. Bagaimana gambaran patologi anatomi organ paru pada tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik setelah diberikan ekstrak buah Maja ?

1.3 Hipotesis Penelitian

1. Terdapat penurunan aktivitas spesifik enzim katalase pada darah dan organ paru tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik dengan diberikan ekstrak maupun tidak diberikan ekstrak buah Maja.
2. Terdapat perbedaan penurunan aktivitas spesifik enzim katalase darah dan organ paru tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik pada kelompok yang diberikan ekstrak dibandingkan dengan tidak diberikan ekstrak buah Maja.
3. Terdapat korelasi antara aktivitas spesifik enzim katalase pada darah dengan organ paru tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik yang diberikan ekstrak maupun tidak diberikan ekstrak buah Maja.

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Diketuainya efek dari buah Maja terhadap enzim antioksidan pada darah dan organ paru tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik.

1.4.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui kandungan metabolit sekunder ekstrak buah Maja.
2. Mengetahui kapasitas antioksidan total ekstrak buah Maja.
3. Mengetahui kadar fenolik ekstrak buah Maja.
4. Mengetahui kadar flavonoid ekstrak buah Maja.
5. Mengetahui toksisitas ekstrak buah Maja.
6. Mengetahui aktivitas spesifik enzim katalase pada darah dan paru tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik dengan diberikan ekstrak buah Maja.

7. Mengetahui aktivitas spesifik enzim katalase pada darah dan organ paru tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik tanpa diberikan ekstrak buah Maja.
8. Mengetahui aktivitas spesifik enzim katalase darah dengan paru yang diinduksi hipoksia sistemik kronik pada kelompok yang diberikan ekstrak buah dibanding dengan tidak diberikan ekstrak buah Maja.
9. Mengetahui hubungan antara aktivitas spesifik enzim katalase darah dan organ paru tikus yang diinduksi hipoksia sistemik setelah diberikan ekstrak buah Maja.
10. Mengetahui hubungan antara aktivitas spesifik enzim katalase darah dan organ paru tikus yang di induksi hipoksia sistemik tanpa diberikan ekstrak buah Maja.
11. Mengetahui gambaran histopatologi organ paru pada tikus tikus yang di induksi hipoksia sistemik kronik dengan diberikan dan tidak diberikan ekstrak buah Maja.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat bagi peneliti

1. Hasil penelitian dapat dijadikan bahan untuk penelitian lebih lanjut.
2. Dapat mengaplikasikannya ilmu yang didapat mengenai penelitian, terutama yang berkaitan dengan efek antioksidan buah maja (*Aegle marmelos*) untuk mengatasi stres oksidatif yang dipicu hipoksia.
3. Tanaman buah maja (*Aegle marmelos*) dapat diaplikasikan oleh masyarakat sebagai tanaman obat khususnya sebagai antioksidan alami.