

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penyakit ginjal kronik (PGK) merupakan masalah kesehatan masyarakat yang utama di seluruh dunia di mana prevalensinya terus meningkat sepanjang tahun. Prevalensi PGK meningkat seiring dengan bertambahnya usia harapan hidup dan kejadian penyakit diabetes melitus serta hipertensi. Sekitar 1 dari 10 populasi global mengalami PGK pada stadium tertentu (Hill et al., 2016).

Prevalensi PGK secara global memberikan gambaran stadium 1 sampai 5 adalah 13,4% dan 10,6% pada stadium 3 sampai 5. Prevalensi ini menunjukkan bahwa PGK lebih tinggi daripada diabetes, yang memiliki perkiraan prevalensi 8,2%. Prevalensi PGK yang dilaporkan bervariasi secara luas di antara penelitian dan memiliki heterogenitas yang tinggi (Hill et al., 2016). Hasil stratifikasi geografis menunjukkan bahwa negara maju seperti Eropa, Amerika Serikat, Kanada dan Australia memiliki tingkat prevalensi PGK yang lebih tinggi dibandingkan dengan negara berkembang seperti sub Sahara Afrika, India dan lain-lain. Meskipun persentase prevalensi lebih tinggi di negara yang lebih maju, perubahan populasi di seluruh dunia akan meningkatkan jumlah absolut orang-orang di negara berkembang dimana populasi lansia meningkat. Kenaikan ini akan memperburuk beban ganda penanganan penyakit menular dan tidak menular dalam pertumbuhan ekonomi (Vos et al., 2015).

Di Indonesia jumlah pasien baru dan pasien aktif PGK tahap akhir terus meningkat dari tahun ke tahun. Pasien baru adalah pasien yang pertama kali menjalani dialisis, sedangkan pasien aktif adalah seluruh pasien baik pasien baru pada tahun itu

maupun pasien lama dari tahun sebelumnya yang masih menjalani hemodialisis rutin dan masih hidup. Pada tahun 2015 pasien aktif lebih banyak dari jumlah pasien baru dimana terdapat 21.050 pasien baru yang menjalani hemodialisis dan 30.554 pasien aktif. Jumlah pasien ini belum menunjukkan data keseluruhan pasien di Indonesia tetapi dapat dijadikan representasi dari kondisi saat ini, dimana data diambil dari 249 renal unit (IRR, 2015).

Persentase diagnosis utama kelainan ginjal yang menyebabkan pasien menjalani dialisis adalah PGK tahap akhir sejumlah 18.613 pasien (89%). Penyebab PGK pada pasien baru yang menjalani hemodialisis tahun 2015 sebagai berikut : hipertensi 44%, diabetes 22%, glomerulopati primer/GNC 8%, pielonefritis kronik 7%, nefropati obstruksi 5%, nefropati lupus/SLE 1%, penyakit ginjal polikistik 1%, nefropati asam urat 1%, lain-lain 8%, serta tidak diketahui sebanyak 3% (IRR, 2015).

PGK merupakan suatu istilah umum untuk suatu kelainan heterogen yang mempengaruhi struktur ginjal atau fungsinya dengan berbagai manifestasi klinis yang beragam, berbagai macam penyebab, derajat keparahan dan proses penyakitnya yang berakhir dengan penyakit ginjal tahap akhir (*end state renal disease*). Keluhan terjadi karena suatu komplikasi akibat menurunnya fungsi ginjal yang akan semakin memberat sesuai dengan derajat keparahan penyakitnya dan pada tahap akhir memerlukan terapi pengganti ginjal berupa dialisis atau tranplantasi. Tahap paling awal dari penyakit ginjal sering asimtomatik dan terdeteksi pada saat evaluasi penyakit penyerta lainnya dan dapat reversibel. Penyakit dapat berkembang secara cepat dan progresif serta mengakibatkan kegagalan ginjal dalam hitungan bulan (National Kidney Foundation, 2013).

Progresifitas PGK ditandai dengan hilangnya sel ginjal dan digantikan dengan matriks ekstraseluler (ECM), terlepas dari apapun penyebabnya. Salah satu konsekuensi PGK adalah glomerulosklerosis dan fibrosis tubulointerstisial yang disebabkan oleh karena ketidakseimbangan antara sintesis dan pengurangan kerusakan matriks ekstraseluler (Nogueira et al., 2017).

Berbagai macam penyakit dapat menjadi penyebab fibrosis ginjal yang dapat berakhir menjadi gagal ginjal tahap akhir, di antaranya adalah: diabetes, hipertensi, glomerulonephritis infeksius, vaskulitis ginjal, sumbatan ureter, perubahan genetik, penyakit autoimun dan obat-obatan (Nogueira et al., 2017).

Kehadiran fibrosis pada PGK sangat terkait dengan manifestasi kegagalan ginjal di masa depan dan juga berhubungan dengan prognosis jangka panjang yang buruk. Fibrosis ginjal merupakan konsekuensi dari cedera ginjal dan berhubungan dengan disfungsi ginjal yang dapat berakhir pada kerusakan ginjal. Fibrosis ginjal terutama yang berhubungan dengan glomerulosklerosis dan fibrosis interstisial ditandai dengan atrofi tubulus, dilatasi tubulus, peningkatan fibrogenesis dan pengendapan kolagen serta matriks ekstraseluler dapat terjadi sebagai akibat dari infeksi kronis, penyumbatan ureter, hipertensi, diabetes, dan paparan kronis logam berat (Nogueira et al., 2017).

Sumbatan ureter merupakan penyebab utama PGK stadium akhir pada anak-anak di Amerika Serikat. Sumbatan saluran kemih yang dapat terjadi pada penyumbatan satu atau dua ureter akan memicu kerusakan struktur ginjal yang progresif dan menyebabkan disfungsi ginjal kronis (Chevalier et al., 2016; Nogueira et al., 2017). Sumbatan ureter akan menyebabkan perubahan hemodinamik dan terjadi penurunan aliran darah ke ginjal secara progresif, penurunan laju filtrasi glomerulus, serta

kerusakan parenkim ginjal yang cepat, terjadi peningkatan tekanan intratubulus, perpanjangan dinding tubulus, kerusakan sel epitel tubulus dan kemudian terjadi peningkatan fibrosis ginjal (Nogueira et al., 2017).

Hipertensi merupakan salah satu faktor penyebab maupun konsekuensi dari PGK. Bukti klinis dan epidemiologi telah menunjukkan pentingnya pengendalian tekanan darah untuk mencegah dan mengurangi progresifitas PGK. Bukti eksperimental dan klinis menegaskan bahwa sistem imunitas memainkan peran penting dalam hipertensi. Berdasarkan hasil beberapa penelitian yang telah ada menunjukkan peningkatan tekanan darah pada manusia berkaitan dengan peningkatan mediator pro-inflamasi yang diproduksi oleh sel imun seperti TNF- α , IFN- γ , IL-6, IL-17 dan penurunan sitokin antiinflamasi seperti IL-10. Hal ini juga didukung oleh fakta bahwa polimorfisme TNF- α dan IL-6 dikaitkan dengan hipertensi (Nosalski et al., 2016).

Kerusakan progresif fungsi ginjal pada PGK, akan menginduksi beberapa disfungsi biologis dan klinis termasuk perubahan dalam metabolisme energi seluler, perubahan input/output nitrogen, malnutrisi protein, resistensi insulin dan peningkatan sintesis mediator inflamasi/stres oksidatif. Stres oksidatif dan inflamasi mendorong cedera ginjal melalui kerusakan komponen molekuler ginjal. Cedera di ginjal diawali oleh akibat aktivitas radikal turunan oksigen intra maupun ekstraseluler dan respon inflamasi yang dihasilkan. Radikal seperti superoksida dan radikal hidroksil mudah berinteraksi dengan komponen molekuler di nefron (Kao et al., 2010), yang menghasilkan respon inflamasi. Respon inflamasi yang berlebihan akan merangsang pembentukan radikal bebas tambahan. Neutrofil dan sel fagosit lainnya yang direkrut akan merusak nefron, menghasilkan superoksida melalui sistem oksidase *nicotinamide*

adenine dinucleotide phosphate (NADPH) di membran, di mana elektron ditransfer dari NADPH dalam sel melintasi membran dan digabungkan ke molekul oksigen, sehingga terbentuk superoksida. Superoksida dan radikal lainnya, terus meningkatkan cedera ginjal atau bertindak sebagai molekul *messenger* menghasilkan respon inflamasi lokal di ginjal secara berkelanjutan. Respons imun radikal ini mendorong pelepasan sinyal proinflamasi tambahan yang mengakibatkan pembentukan radikal tambahan dan/atau *reactive oxygen species* (ROS) dan kerusakan terus komponen molekul nefron (Tucker et al., 2015).

Kelebihan ROS membangkitkan transduksi sinyal yang tidak normal, disfungsi seluler, infiltrasi monosit/makrofag inflamasi dan kaskade kematian sel ginjal. Jejas reperfusi iskemi akan menyebabkan apoptosis sel tubulus proksimal yang akhirnya menyebabkan atropi tubulus ginjal, keadaan ini disebabkan oleh stres oksidatif sebagai faktor perantara terjadinya disfungsi mitokondria (Small et al., 2014). Keadaan ini akan menimbulkan *damage-associated molecular pattern* (DAMP), termasuk alarmin, yang menengahi sinyal 'bahaya', yang mengarah ke penyebaran reaksi inflamasi dan respons imun adaptif dilepaskan oleh sel-sel yang telah rusak saat terjadi jejas reperfusi iskemia. Prototipe DAMP protein non histon terkait kromatin yang dikenal sebagai *high-mobility group box 1* (HMGB-1) berfungsi sebagai faktor nuklear dan sitokin proinflamasi yang dilepaskan sel nekrotik (Thierry et al., 2014). *Toll-like receptor 2* (TLR2) dan TLR4 merupakan reseptor multi-ligan yang mengikat HMGB-1, diekspresikan oleh sel epitel tubular dibawah pengaruh hipoksia dan stres oksidatif (Wu et al., 2010).

Stres oksidatif meningkatkan produksi sitokin proinflamasi yaitu IL-6 dan *C-reactive protein* (CRP) melalui aktivasi transkripsi *nucleus factor κ - β* (NF κ B). Aktivasi

NF κ B menyebabkan sintesis IL-1 β , *tumor necrosis factor α* (TNF- α), IL-6 dan CRP. Berbagai macam rangsangan inflamasi termasuk ROS dapat mengaktivasi pelepasan IL-1, IL-6 dan TNF- α yang kemudian merangsang pelepasan CRP dan berbagai mediator inflamasi seperti *monocyte derived macrophage*, sel endotel, *tissue factor* dan berbagai molekul adesi yang berperan dalam pembentukan plak aterosklerosis (Purwanto, 2012; Tucker et al., 2015). Selain itu, ROS akan merusak sel baik sel tubulus proksimal, endotel, membran basalis, maupun sel mesangial dan viseral glomerulus sehingga terbentuk debris. Kerusakan endotel dan membran basalis, *fenestra*, *neprin* pada glomerulus menyebabkan rusaknya sistem filtrasi sehingga terjadi mikroalbuminuria. Sel-sel yang rusak (debris) akan mengaktifkan makrofag, lewat *Toll-Like Reseptor4* (TLR4). Makrofag yang teraktivasi akan mengekspresikan sitokin-sitokin, antara lain TGF- β 1, TNF- α 1, IL-1 β , IL-6, IL-8. TGF- β 1 merupakan sitokin yang dominan terlibat dalam patogenesis terjadinya fibrosis interstisial dan glomerulosklerosis serta mikroalbuminuria pada penyakit ginjal kronik (Kao et al., 2010; Purwanto, 2012; Tucker et al., 2015).

Penelitian menunjukkan bahwa mengurangi stres oksidatif dan inflamasi merupakan dua pendekatan yang bisa digunakan untuk memperlambat perkembangan PGK. Berbagai studi telah menunjukkan bahwa penanda stres oksidatif dan inflamasi secara signifikan meningkat pada pasien PGK dibanding pasien sehat. Stres oksidatif dan inflamasi memiliki korelasi negatif yang signifikan dengan perkiraan laju filtrasi glomerulus (eGFR), sehingga agen biologi yang memiliki aktivitas antiinflamasi dan antioksidatif bisa dikembangkan dalam penatalaksanaan PGK (Sundaram, et al., 2014).

Propolis sebagai produk alami yang berasal dari resin tanaman yang dikumpulkan oleh lebah madu memiliki sejumlah aktivitas biologis, seperti antiinflamasi maupun antioksidan. Aktivitas antioksidan propolis terutama kandungan flavonoidnya (*caffeic acid phenethyl ester/CAPE*) (Aygün et al., 2012), mampu melindungi sel ginjal dari radikal bebas dan peroksidasi lipid (Akyol et al., 2014). Aktivitas biologis propolis ditentukan oleh zat tanaman itu berasal. Oleh karena itu, meskipun propolis merupakan produk binatang, proporsi yang cukup besar dari komponen – komponen yang berperan dalam menentukan aktivitas biologisnya berasal dari tanaman (Salatino et al., 2005). Faktor – faktor biologi, zona geografi dan lingkungan dapat mempengaruhi jumlah dan kualitas produksi propolis (Pereira et al., 2009). CAPE dan kuersetin merupakan zat aktif utama dalam propolis. Hasil identifikasi kandungan zat aktif utama dalam ekstrak etanol isolat propolis gunung Lawu didapatkan CAPE $30,24 \pm 3,53 \times 10^{-6}$ gram dan kuersetin $4,42 \pm 0,50 \times 10^{-6}$ gram sebagai dasar dalam penentuan dosis (Sarsono et al., 2012). Sebagai antiinflamasi ditunjukkan hasil penelitian lain yang didapatkan ekstrak etanol isolat propolis gunung Lawu menurunkan *High-Mobility Group Box 1* (HMGB-1) mencit model infertilitas jantan (Indrayanto et al., 2013), sedangkan sebagai antioksidan isolat propolis gunung Lawu didapatkan hasil dosis 200mg/kgBB/hari selama 30 hari, menurunkan kadar Malondialdehid (MDA), meningkatkan kadar sRAGE, dan memperbaiki luka pada mencit Balb/C model kaki diabetik yang induksi *streptozotocin* (STZ) (Diding et al., 2013a,b). Dengan demikian diharapkan propolis dapat memberikan efek penghambatan progresifitas kerusakan PGK di tingkat molekuler, jaringan dan klinis.

1.2. Rumusan masalah

Permasalahan penelitian ini adalah bagaimana mekanisme ekstrak etanol isolat propolis gunung Lawu dalam menghambat terjadinya fibrosis interstisial dan glomerulosklerosis pada *Unilateral ureteral obstruction* (UUO) tikus putih jantan sebagai model PGK di tingkat molekuler, jaringan dan klinis.

- 1.2.1. Bagaimana pengaruh UUO terhadap ekspresi HMGB-1, Caspase-1, E-Selektin, TGF- β 1 di jaringan ginjal, kadar MDA serum, fibrosis interstisial, glomerulosklerosis serta tekanan darah?
- 1.2.2. Bagaimana peran ekstrak etanol isolat propolis gunung Lawu terhadap ekspresi HMGB-1, Caspase-1, E-Selektin dan TGF- β 1 di jaringan ginjal serta kadar MDA serum?
- 1.2.3. Bagaimana peran ekstrak etanol isolat propolis gunung Lawu terhadap fibrosis interstisial dan glomerulosklerosis?
- 1.2.4. Bagaimana peran ekstrak etanol isolat propolis gunung Lawu terhadap peningkatan tekanan darah?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan umum penelitian:

Menjelaskan mekanisme ekstrak etanol isolat propolis gunung Lawu dalam menghambat terjadinya fibrosis interstisial dan glomerulosklerosis pada *Unilateral ureteral obstruction* (UUO) tikus putih jantan sebagai model PGK di tingkat molekuler, jaringan dan klinis.

1.3.2. Tujuan khusus penelitian:

- a. Mengetahui pengaruh UUO terhadap ekspresi HMGB-1, Caspase-1, E-Selektin, TGF- β 1 di jaringan ginjal, kadar MDA serum, fibrosis interstisial, glomerulosklerosis serta tekanan darah.
- b. Mengetahui peran ekstrak etanol isolat propolis gunung Lawu terhadap ekspresi HMGB-1, Caspase-1, E-Selektin dan TGF- β 1 di jaringan ginjal, serta kadar MDA serum.
- c. Mengetahui peran ekstrak etanol isolat propolis gunung Lawu terhadap fibrosis interstisial dan glomerulosklerosis.
- d. Mengetahui peran ekstrak etanol isolat propolis gunung Lawu terhadap peningkatan tekanan darah.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat teoritis

Memberikan bukti ilmiah mekanisme pengaruh pemberian ekstrak etanol isolat propolis gunung Lawu terhadap ekspresi HMGB-1, Caspase-1, E-selektin, TGF β -1, kadar MDA, fibrosis interstisial, glomerulosklerosis serta tekanan darah pada UUO tikus putih jantan sebagai model PGK.

1.4.2. Manfaat terapan

Memiliki manfaat praktis yang bisa digunakan sebagai dasar pengembangan dan pemanfaatan ekstrak etanol isolat propolis gunung Lawu sebagai terapi komplementer dalam penghambatan progresifitas PGK.