



MATA KULIAH PENUNJANG DISERTASI (MKPD)

**PENGARUH STRES OKSIDATIF TERHADAP
PERUBAHAN MUKOSA NASOFARING**

DOSEN PENGAMPU MATA KULIAH:

Prof. Dr. dr. Sri Maliawan, Sp.BS(K), FICS

MAHASISWA:

Ni Ketut Susilawati

PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN

FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS UDAYANA

2020

PENDAHULUAN

Stress oksidatif merupakan ketidak seimbangan antara manifestasi sistemik dari radikal bebas berupa ROS terhadap kemampuan sistem tubuh dalam menetralkan dan memperbaiki kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas. Sebagian besar kerusakan pada sel tidak terjadi secara langsung, namun disebabkan oleh ROS yang dihasilkan seperti O_2^- (radikal superoksida), OH (radikal hidroksil) dan H_2O_2 (hidrogen peroksida)(Suryadinata, 2018).

Senyawa radikal bebas merupakan salah satu faktor penyebab kerusakan DNA di samping penyebab lain seperti virus. Bila kerusakan tidak terlalu parah, masih dapat diperbaiki oleh sistem perbaikan DNA. Namun, bila sudah terputus di berbagai tempat, kerusakan ini tidak dapat diperbaiki lagi sehingga pembelahan sel akan terganggu. Bahkan terjadi perubahan abnormal yang mengenai gen tertentu dalam tubuh yang menimbulkan penyakit kanker. Pada penyakit kanker, ROS dapat berperan pada semua tahap karsinogenesis, baik pada tahap inisiasi, promosi, maupun progresi. Radikal bebas diketahui bereaksi dengan komponen DNA yang menyebabkan mutasi gen dan memicu terjadinya kanker (Krisdiantari, 2018).

Struktur mukosa nasofaring merupakan peralihan antara epitel skuamous dan kolumnar. Pada peralihan ini sering terjadi metaplasia skuamosa akibat inflamasi kronis. Inflamasi ini terjadi akibat rangsangan zat-zat kimia yang berlangsung lama yang merupakan radikal bebas bagi tubuh. Kelebihan radikal bebas di dalam tubuh yang tidak seimbang dengan antioksidan menimbulkan

stres oksidatif. Stres oksidatif bisa menimbulkan perubahan mukosa seperti hiperplasia (pembesaran mukosa akibat bertambahnya jumlah sel), metaplasia (perubahan bentuk dari satu jenis sel ke jenis yang lain yang serupa diferensiasinya dan masih bersifat reversibel) atau displasia (Heritage *et al.*, 1997 ; Kumar, 2003).

Apabila produksi ROS melebihi kapasitas antioksidan yang ada, mengarahkan sel menuju stres oksidatif. Stres oksidatif dapat mengakibatkan cedera pada semua komponen seluler yang penting seperti protein, DNA dan membran lemak, yang dapat menyebabkan kematian sel. Stres oksidatif telah terbukti terlibat dalam berbagai proses fisiologi dan patologis, termasuk pada kerusakan DNA, proliferasi, adhesi dan kelangsungan hidup sel. Bahkan terdapat beberapa penelitian yang memberikan bukti kuat terhadap keterlibatan stres oksidatif pada proses karsinogenesis (Krisdiantari, 2018).

PENGERTIAN STRES OKSIDATIF

Radikal bebas adalah molekul, atom atau gugus yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada kulit terluarnya sehingga sangat reaktif seperti radikal bebas turunan oksigen reaktif (*ReactiveOxygenSpecies*). Radikal bebas cukup banyak jenisnya tapi yang keberadaannya paling banyak dalam sistem biologis tubuh adalah radikal bebas turunan oksigen atau *reactive oxygen species*(ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS). Radikal bebas ini merupakan hasil pemecahan homolitik dari ikatan kovalen suatu molekul atau pasangan elektron bebas suatu atom. *Reactive Oxygen Species* sebagian besar merupakan hasil metabolisme sel normal di dalam tubuh (ROS Endogen) dan sebagian kecil merupakan paparan dari zat-zat lain atau radikal-radikal dari luar tubuh (ROS eksogen) yang dapat menyebabkan terjadinya inflamasi atau peradangan. ROS endogen merupakan respon fisiologis dari hasil metabolisme sel-sel normal tubuh seperti misalnya metabolisme karbohidrat dan protein. Paparan dari luar tubuh merupakan oksigen reaktif yang berasal dari polutan lingkungan, radiasi, infeksi bakteri, jamur dan virus. *Reactive Oxygen* terdiri dari superoksida ($*O_2$), hidroksil ($*OH$), peroksil ($ROO*$), hidrogen peroksida (H_2O_2), singlet oksigen ($1O_2$), oksida nitrit ($NO*$), peroksinitrit ($ONOO*$) dan asam hipoklorit ($HOCl$). Radikal bebas yang paling banyak terbentuk di dalam tubuh adalah superoksida. Superoksida ini akan diubah menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) Hidrogen ini akan diubah menjadi radikal hidroksil ($*OH$).

Radikal hidroksil inilah yang menyebabkan terjadinya peroksidasi lemak pada membran sel sehingga sel mengalami kerusakan (Parwata, 2015).

Stres oksidatif merupakan ketidak seimbangan antara manifestasi sistemik dari radikal bebas berupa ROS terhadap kemampuan sistem tubuh dalam menetralkan dan memperbaiki kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas. Sebagian besar kerusakan pada sel tidak terjadi secara langsung, namun disebabkan oleh ROS yang dihasilkan seperti O_2^- (radikal superoksida), OH (radikal hidroksil) dan H_2O_2 (hidrogen peroksida). Pada manusia, peningkatan stress oksidatif dapat menyebabkan gangguan metabolisme normal dan memicu terjadinya berbagai macam penyakit seperti kanker, parkinson, alzheimer, aterosklerosis, gagal jantung dan infarkmiokard. Pada jumlah yang tidak berlebih, radikal bebas berguna sebagai sistem pertahanan tubuh dengan cara menyerang dan membunuh patogen (Suryadinata, 2018).

EFEK STRES OKSIDATIF

Radikal bebas di dalam tubuh merupakan hasil samping dari proses oksidasi dan pembakaran sel yang berlangsung pada waktu bernafas, metabolisme sel, olahraga yang berlebihan, peradangan, dan terpapar polusi (asap kendaraan, asap rokok, makanan, logam berat, dan radiasi matahari). Radikal bebas akan bereaksi dengan molekul sel di sekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron sehingga menjadi lebih stabil, tetapi molekul sel tubuh yang diambil elektronnya akan berubah menjadi radikal bebas. Reaksi ini akan berlangsung terus menerus dalam tubuh dan bila tidak dihentikan akan menimbulkan stress oksidatif yang menyebabkan suatu peradangan, kerusakan DNA atau sel dan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya seperti yang ditunjukkan dalam gambar berikut ini :

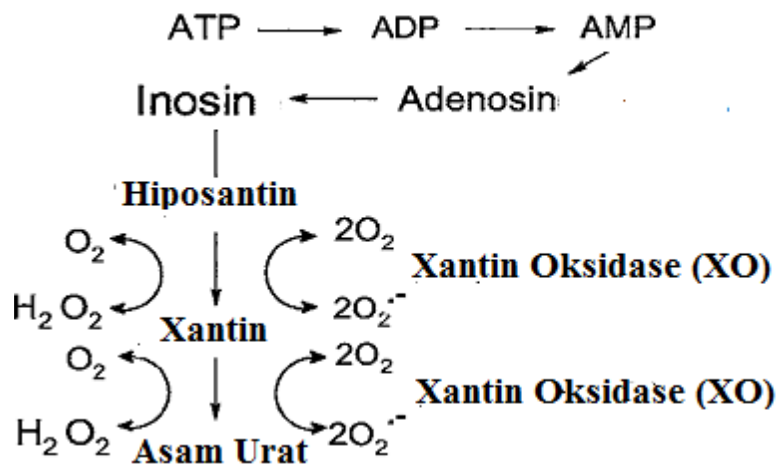


Gambar 1. Pengaruh ROS dan RNS terhadap kesehatan manusia

(Akhlaghi, 2009)

Radikal bebas dapat dihasilkan pada proses terbentuknya asam urat yang dikatalisis oleh enzim xantinoksidase. Dalam proses ini akan dihasilkan radikal superoksida (*O₂). Proses metabolisme ini biasanya terjadi pada mitokondria, seperti yang ditunjukkan dalam gambar berikut ini :

JALUR DEGRADASI DARI PURIN

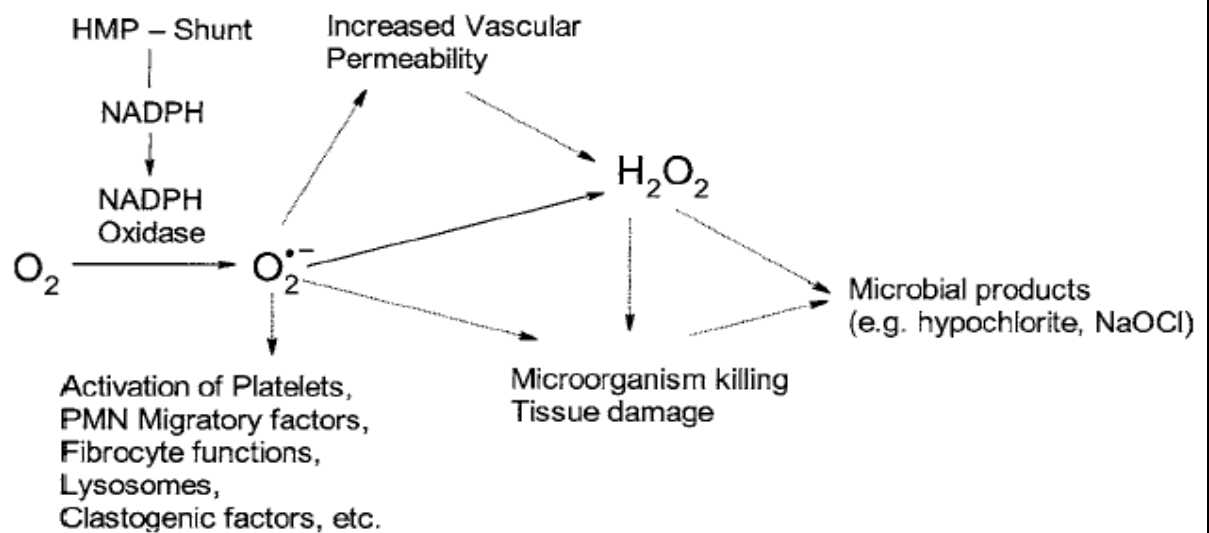
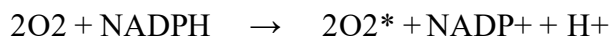


Gambar 2. Mekanisme Degradasi purin

(Valko, 2004)

Radikal bebas juga dapat dihasilkan pada proses inflamasi yaitu pada proses perubahan NADPH menjadi NADP dengan katalis NADPH oksidase. Dalam proses ini terjadi kebocoran O₂ yang selanjutnya berubah menjadi radikal superoksida (*O₂) yang dapat merangsang terbentuknya sitokin pro inflamasi seperti TNF- α dan IL-6. Proses metabolisme ini biasanya terjadi pada sitoplasma

Adapun reaksi kebocoran tersebut dapat terlihat dalam reaksi dan gambar berikut ini :



Gambar 3. Peran ROS dalam proses inflamasi

(Valko, 2004)

Akibat begitu besarnya pengaruh radikal bebas terhadap kesehatan manusia maka tubuh memerlukan suatu asupan yang mengandung suatu senyawa yaitu antioksidan yang mampu menangkap dan menetralkan radikal bebas tersebut sehingga reaksi-reaksi lanjutan yang menyebabkan terjadinya stres oksidatif dapat berhenti dan kerusakan sel dapat dihindari atau induksi suatu penyakit dapat dihentikan. Reaksi terminasi antioksidan biasanya menangkap radikal hidroksil (*OH) pada tahap reaksi peroksidasi lemak, protein atau molekul lainnya pada membran sel normal sehingga kerusakan sel dapat dihindari. Keberadaan radikal bebas tidak selamanya merugikan tubuh manusia akan tetapi ada juga yang mempunyai efek yang menguntungkan, seperti membantu destruksi sel-sel

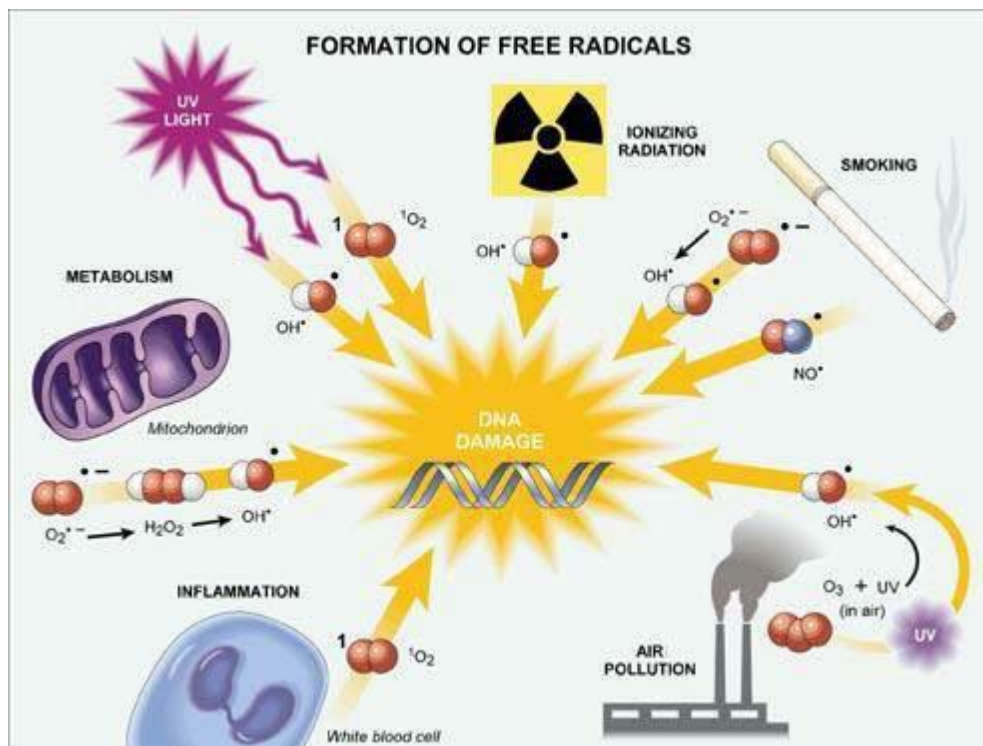
mikroorganisme, kanker dan proses pematangan sel-sel di dalam tubuh. Leukosit memproduksi radikal bebas untuk memusnahkan gingiva, ligamen periodontal dan tulang alveolar dengan cara merusak DNA, mengganggu produksi prostaglandin dan merangsang pembentukan sitokin pro inflamasi seperti IL-6 dan TNF- α . Akan tetapi produksi radikal bebas yang berlebihan dan produksi antioksidan yang tidak memadai dapat menyebabkan kerusakan sel-sel jaringan dan enzim-enzim. Kerusakan jaringan dapat terjadi akibat gangguan oksidatif yang disebabkan radikal bebas asam lemak atau dikenal sebagai peroksidasi lipid (Zheng dan Wang, 2009).

Reaksi – reaksi radikal di dalam tubuh merupakan penyebab atau mendasari berbagai keadaan patologis suatu penyakit. Diantara senyawa-senyawa ROS, radikal hidroksil (*OH) merupakan radikal bebas yang paling reaktif atau berbahaya karena mempunyai tingkat reaktivitas sangat tinggi. Radikal hidroksil (*OH) dapat merusak tiga jenis senyawa yang penting untuk mempertahankan ketahanan sel yaitu: asam lemak tak jenuh jamak (PUFA) yang merupakan komponen penting fosfolipid penyusun membran sel, DNA yang merupakan piranti genetik dari sel dan protein yang memegang berbagai peran penting seperti enzim, reseptor, antibodi, pembentuk matriks dan sitoskeleton. Regulasi jumlah radikal bebas secara normal dalam sistem biologis tubuh dilakukan oleh enzim-enzim antioksidan endogenous seperti enzim superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase (GPx). Pengukuran radikal bebas di dalam tubuh sangat sulit dilakukan karena radikal bebas bereaksi sangat cepat sehingga seringkali dilakukan pengukuran tidak langsung melalui produk turunannya

seperti malondialdehida (MDA) dan 4-hidroksinonenal. Kedua senyawa tersebut sering digunakan untuk pengukuran reaksi radikal bebas lipid (Murray, 2009).

Sumber-sumber Radikal Bebas

Sumber radikal bebas ada dua yaitu sumber eksogen dan sumber endogen. Sumber eksogen biasanya berasal dari luar tubuh seperti polutan udara, radiasi, zat-zat kimia karsinogenik, asap rokok, bakteri, virus dan efek obat (obat anastesi dan pestisida). Sumber endogen yaitu radikal bebas yang merupakan hasil metabolik normal dalam tubuh manusia seperti proses oksidasi makanan, proses oksidasi xantin dan olah raga yang berlebihan, seperti yang ditunjukkan dalam gambar berikut ini :



Gambar 4. Sumber-sumber Radikal bebas yang meyerang DNA

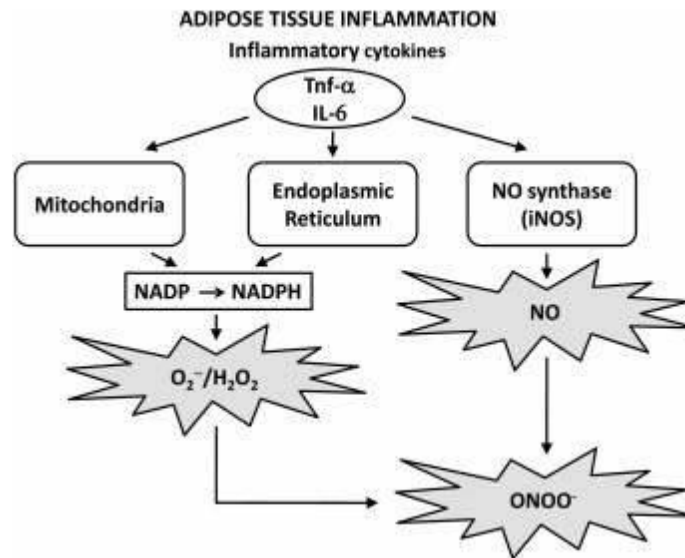
(Vasudevan, 2004)

Pada sumber endogen, metabolisme sel normal merupakan sumber utama untuk menghasilkan *Radical Oxygen Species*(ROS) dan memainkan peran penting dalam aktivasi jalur sinyal pada sel yang mempengaruhi metabolisme intra dan ekstra seluler. Sebagian besar ROS diproduksi dalam sel melalui mitokondria. Selama reaksi metabolisme endogen, ROS akan dihasilkan oleh sel aerobik (berupa anion superoksida, radikal hidroksil dan hidrogen peroksida) sebagai produk dari biologis oksigen molekuler. Dalam situasi hipoksia, mitokondria juga dapat menghasilkan nitrit oksida (NO) yang menghasilkan *Radical Nitrogen Species*(RNS). Radikal bebas akan memicu timbulnya spesies reaktif tambahan lainnya, misalnya reaktif aldehida-malondialdehida dan 4-hidroksinonenal, akibat dari menginduksi peroksidasi lipid yang berlebihan. Lipid dan protein adalah target penting untuk serangan oksidatif dan perubahan molekul-molekul ini dapat meningkatkan proses mutagenesis. Radikal bebas yang diperoleh dari sumber eksogen dapat berupa polusi lingkungan, asap kendaraan, dan asap rokok. Berbagai macam polusi lingkungan dapat menimbulkan resiko kesehatan, seperti pencemaran lingkungan yang berasal dari logam (arsenik, tembaga, dan timbal), senyawa halogenasi (kloroform dan karbon tetraklorida), polutan udara (ozon dan sulfur dioksida, sulfur trioksida, hidrazin) dan berbagai jenis obat (arsenik trioksida dan hydralazine) yang sering digunakan sebagai pengobatan kanker dan hipertensi. Arsenik anorganik sering didapatkan sebagai kontaminan pada tanah, air dan udara. Senyawa tersebut mudah diserap pada tubuh manusia dan terbukti dapat menginduksi pembentukan tumor di kandung kemih, prostat, hati dan kulit.

Senyawa haloalkana terbentuk dari reaksi klorin dengan alkana yang telah digunakan dalam industri sebagai pelarut, pembersih, anestesi, dan sebagai antiseptik. Beberapa haloalkana ditemukan sebagai kontaminan dalam air minum dan diklorinasi pada kolam renang. Haloalkana secara umum bersifat sangat hepatotoksik dan dikenal sebagai karsinogen. Sedangkan masalah utama polusi udara yang dapat memicu radikal bebas adalah *smog*. Senyawa tersebut berasal dari bentuk polusi udara yang dihasilkan oleh reaksi sinar matahari dengan hidrokarbon, senyawa nitrogen, ozon dan gas lainnya terutama dilepaskan dalam knalpot mobil. Berbagai senyawa berupa oksida nitrat, belerang dioksida dan ozon dikenal oksidan dan dapat menyebabkan kerusakan organ dan seluler melalui pembangkitan spesies radikal bebas. Nitrit oksida cepat bereaksi dengan molekul oksigen untuk menghasilkan peroksinitrit yang sangat reaktif serta dapat mengoksidasi DNA, protein dan lipid (Murray, 2009).

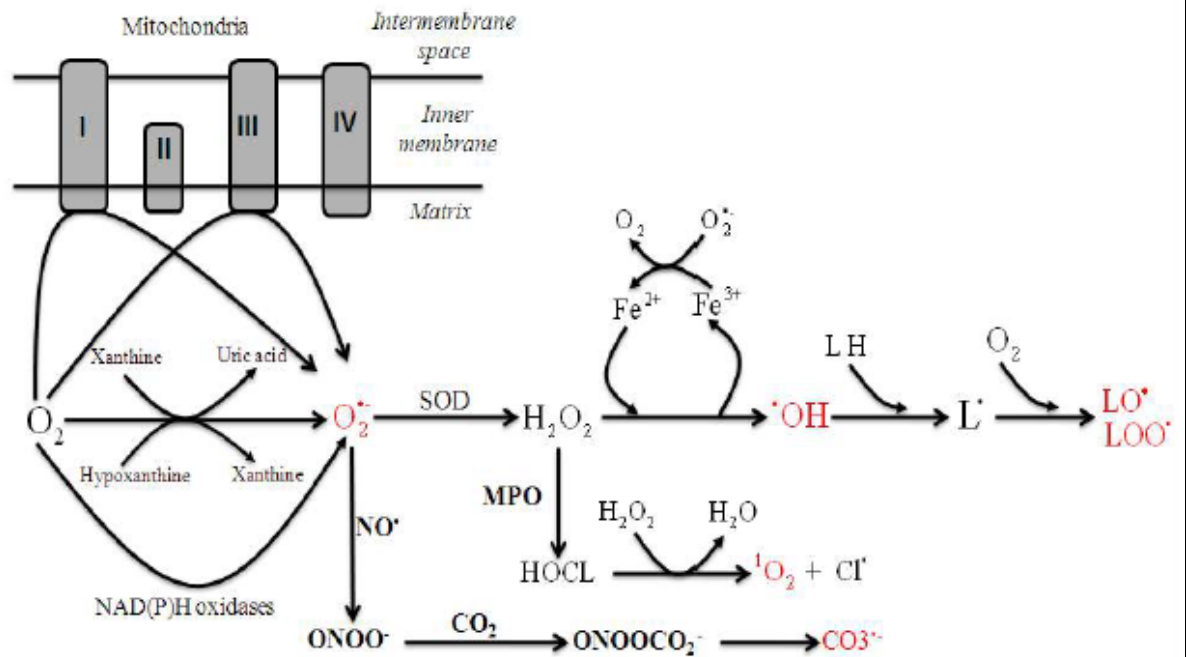
Asap rokok juga menjadi faktor utama yang paling berpengaruh terhadap peningkatan radikal bebas dalam tubuh. Secara alamiah radikal bebas akan dinetralkan oleh antioksidan sehingga menjadi stabil. Pada konsentrasi rendah sampai sedang mereka berfungsi dalam proses sel fisiologis, namun pada konsentrasi tinggi, mereka menghasilkan modifikasi yang merugikan pada komponen sel seperti lipid, protein dan DNA. Keadaan patologis terjadi ketika jumlah radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh terjadi ketidak seimbangan. Peningkatan jumlah radikal bebas dalam tubuh akan memicu terjadinya stress oksidatif dan merangsang peroksidasi pada sel, sehingga dapat menimbulkan kerusakan dan kematian pada sel tubuh (Franch, 2011).

Sumber lain dari ROS dan RNS dapat terbentuk dari proses inflamasi seperti yang ditunjukkan dalam berikut ini :



Gambar 5. Mekanisme Pembentukan ROS dan RNS pada proses inflamasi (Franch, 2011)

Pembentukan ROS atau RNS dapat terjadi pada proses metabolisme dimana terjadi kebocoran O_2 yang pada proses selanjutnya menjadi radikal O_2^* , radikal $ONOO^*$, *OH dan radikal yang lain. Radikal *OH akan memperoksidasi lemak sehingga menjadi radikal baru LO^* atau LOO^* seperti yang ditunjukkan dalam gambar berikut ini :

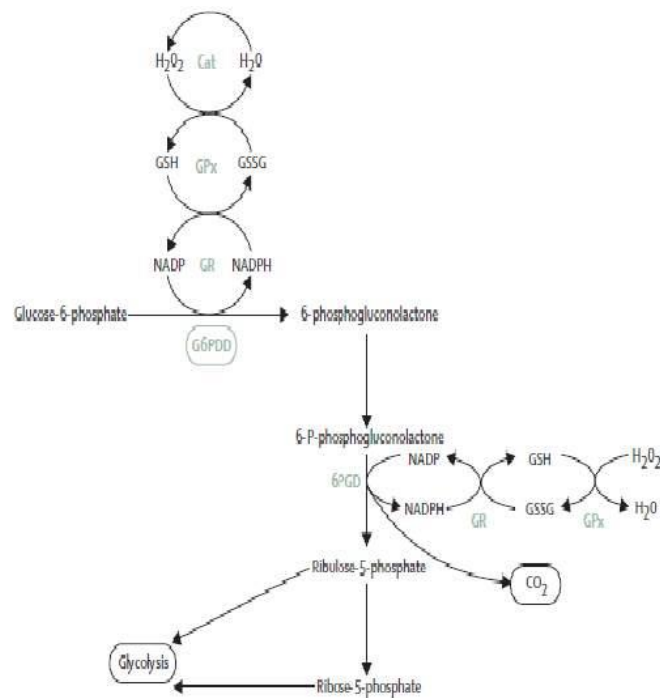


Gambar 6. Mekanisme pembentukan ROS/RNS pada proses Metabolisme

(Kunwar, 2011)

Pelatihan fisik memulai respon fisiologis dan biokimia yang kompleks. Setiap gerakan otot yang cepat dimulai dengan metabolisme anaerobik. Tenaganya berasal dari pemecahan ATP dengan hasil ADP atau AMP dan berlangsung di mitokondria. Pelepasan energi disertai dengan meningkatnya aliran elektron dalam rangkaian respirasi mitokondria sehingga pembentukan oksigen reaktif (O_2^-) dan H_2O_2 dan upaya pembentukan ATP. Pelatihan cenderung mengosongkan ATP dan meningkatkan jumlah ADP yang tentunya akan merangsang ADP katabolisme dan konversi *Xanthine dehydrogenase* menjadi *Xanthine oxidase*. *Xanthine oxidase* inilah akan membentuk radikal bebas (O_2^-) (Cappellini, 2008).

Terbentuknya radikal bebas akan menyebabkan ketidak seimbangan yang disebut sebagai stres oksidatif dengan hasil akhir rusaknya lemak, protein dan DNA. Terjadinya stres oksidatif akibat paparan radikal eksogen dan aktivitas berlebih dapat menyebabkan terjadinya defisiensi Glukosa-6-fosfat dehidrogenase (G6PD). Defisiensi G6PD akan mempengaruhi metabolisme karbohidrat yang pada akhirnya akan mengganggu kesehatan manusia. Metabolisme glukosa melalui jalur heksosa monofosfat meningkat beberapa kali ketika eritrosit terpapar dengan obat-obatan atau toksin yang membentuk radikal bebas (Cappellini, 2008). G6PD menginisiasi jalur ini dengan menjadi katalis oksidasi glukosa-6-fosfat menjadi 6-phosphogluconolactone oleh ko-enzim nikotin amida dinucleotide phosphate (NADP), yang dikurangi menjadi NADPH. 6-phosphogluconolactone menghidrolisis secara spontan untuk 6-phosphogluconate. Ini berfungsi sebagai substrat untuk 6-phosphogluconate dehidrogenase dan NADP. Langkah kedua dalam jalur enzimatik ini juga berhubungan dengan pengurangan NADP⁺ untuk NADPH. NADPH dihasilkan sebagai akibat dari reaksi mengurangi glutathione teroksidasi (GSSG) untuk mengurangi glutathione (GSH) dalam reaksi dikatalisis oleh glutathione reduktase. GSH kemudian mengurangi hidrogen peroksida, oksidan kuat yang dihasilkan dalam metabolisme sel dan sebagai konsekuensi dari respon inflamasi, dan oksidan endogen dan eksogen lainnya, pada reaksi katalis oleh glutathione peroksidase seperti yang ditunjukkan dalam gambar berikut ini :



Gambar 7. Metabolisme karbohidrat melalui jalur fosfat pentosa

(Cappellini,2008)

Senyawa radikal bebas merupakan salah satu faktor penyebab kerusakan DNA di samping penyebab lain seperti virus. Bila kerusakan tidak terlalu parah, masih dapat diperbaiki oleh sistem perbaikan DNA. Namun, bila sudah terputus di berbagai tempat, kerusakan ini tidak dapat diperbaiki lagi sehingga pembelahan sel akan terganggu. Bahkan terjadi perubahan abnormal yang mengenai gen tertentu dalam tubuh yang menimbulkan penyakit kanker. Pada penyakit kanker, ROS dapat berperan pada semua tahap karsinogenesis, baik pada tahap inisiasi, promosi, maupun progresi. Radikal bebas diketahui bereaksi dengan komponen DNA yang menyebabkan mutasi gen dan memicu terjadinya kanker (Krisdiantari, 2018).

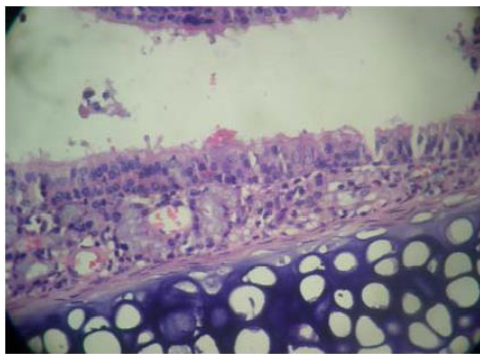
Berdasarkan hasil penelitian Perubahan Histopatologi Trakea Mencit Jantan Pasca paparan Asap Rokok Elektrik dapat disimpulkan bahwa perubahan histopatologi trakea mencit jantan pasca pemaparan asap rokok elektrik selama 21 hari berupa degenerasi dan nekrosis. Serta terjadi penebalan mukosa epitel trakea mencit pada perlakuan pascaterpapar asap rokok elektrik selama 21 hari (Wira, 2018).

PERUBAHAN MUKOSA NASOFARING

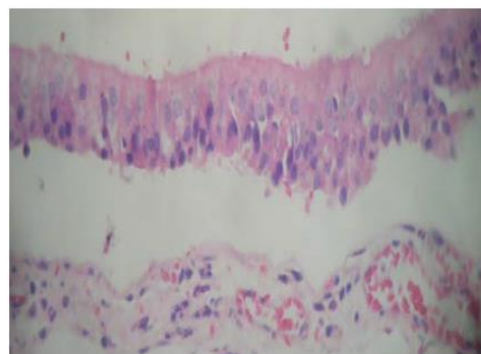
Struktur histologik mukosa dan jaringan limfoid sekitar nasofaring pada tikus wistar sama dengan manusia, sehingga proses perubahan ke arah karsinogenesis yang terjadi pun serupa. Rangsangan kronik mukosa nasofaring oleh formalin menyebabkan perubahan sel ke arah ireversibel. Struktur mukosa nasofaring yang merupakan peralihan antara epitel skuamous dan kolumnar, dapat mengalami hiperplasia yaitu pembesaran mukosa akibat bertambahnya jumlah sel. Perubahan bentuk dari satu jenis sel ke jenis yang lain yang serupa diferensiasinya dan masih bersifat reversibel, disebut metaplasia, juga bisa terjadi pada lapisan mukosa nasofaring yang terpapar formalin. Tahapan selanjutnya dari perubahan adaptif sel mukosa nasofaring akibat paparan formalin adalah displasia (Heritage *et al.*, 1997 ; Kumar, 2003).

Perubahan histologi mukosa nasofaring adalah sebagai berikut : hiperplasia menggambarkan peningkatan jumlah sel pada lapisan spinosus mengarah ke hiperplasia atau kantosis pada basal atau parabasal. Lapisan sel disebut hiperplasia sel basal, arsitektur memperlihatkan stratifikasi reguler dan tidak ada selular atipia. Displasia merupakan kelainan proliferasi non neoplastik dari sel epitel, dimana sel epitel akan kehilangan uniformitas dan orientasi arsitekturnya. Sel-sel displasia menunjukkan pleomorfisme (variasi bentuk dan ukuran) dan nukleus yang seringkali tercat lebih gelap (hiperkromatik), dengan ukuran abnormal lebih besar. Selain itu, sel displasia juga terdapat gambaran mitosis yang lebih banyak daripada biasanya. Mitosis sering terjadi di tempat abnormal dalam epitelium. Pada epitel skuamous kompleks yang displasia, miosis

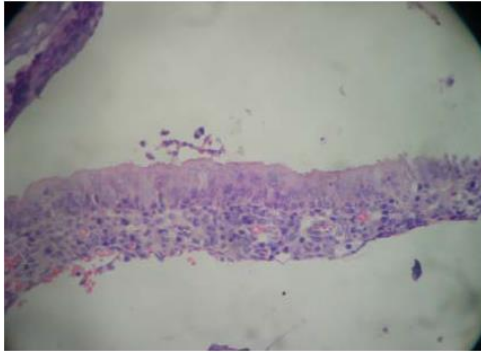
tidak hanya terbatas pada lamina basalis saja, namun juga terjadi pada sel-sel yang lebih superfisial. Perubahan displasia merupakan kondisi premaligna dengan tiga derajat diferensiasi yaitu ringan, sedang dan berat. Penentuan derajat diferensiasi epitel yang mengalami displasia didasarkan dengan penilaian terhadap: 1) adanya pertumbuhan jaringan berupa tonjolan atau permukaan yang berbenjol-benjol akibat dari penebalan lapisan epitel, disertai dengan bertambahnya mitosis, 2) ditemukannya sel atipik yang pleiomorfik, rasio inti-sitoplasma meningkat dan bertambahnya DNA inti dan kelainan diferensiasinya. Displasia ringan sampai sedang menampakkan perubahan tidak di seluruh ketebalan epitel dan bisa bersifat reversibel, dimana dengan menghilangkan penyebabnya maka epitel akan kembali normal. Sedangkan, displasia berat ditandai dengan perubahan nyata pada seluruh ketebalan epitel, sehingga disebut *carcinoma in situ* (Kumar, 2003).



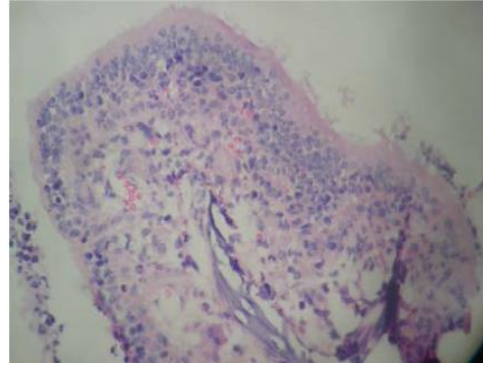
Epitel Mukosa Hiperplasia (HE 400X)



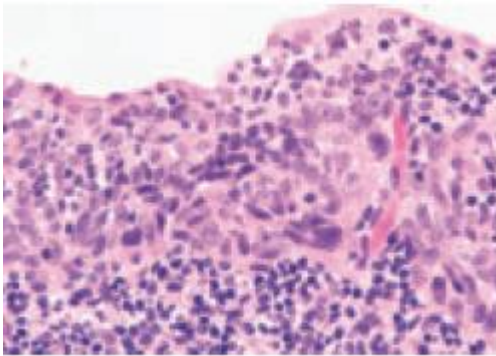
Displasia Ringan (HE 400X)



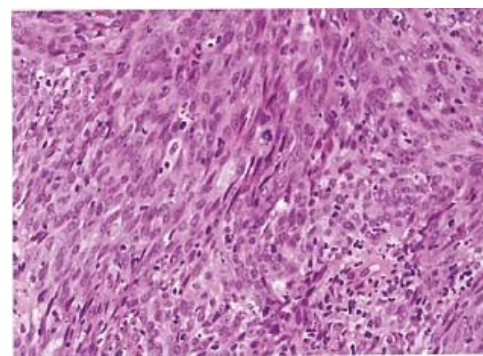
Displasia Sedang (HE 100X)



Displasia Berat (HE 100X).



Carcinoma In Situ



Squamous Sel Carcinoma

Gambar 8. Derajat kelainan histologi mukosa nasofaring (Sulistyo, 2008 ; Chan, 2005)

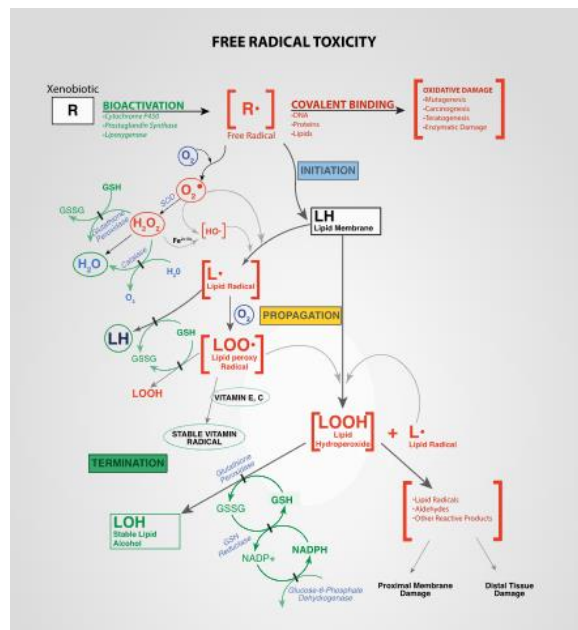
Displasia ringan adalah kelainan inti sel yang minimal lebih banyak terjadi pada ketebalan epitel sepertiga basal dan sedikit di lapisan atas, yang mana menunjukkan maturasi dan stratifikasi, mungkin terjadi sedikit mitosis yang normal. Umumnya gabungan dari keratosis dan inflamasi kronis. Displasia sedang adalah kelainan inti sel lebih banyak pada anak inti. Tampak dengan perubahan yang paling banyak pada basal dari epitel, kelainan inti sel dapat bertahan sampai permukaan, tetapi maturasi dan stratifikasi sel terlihat di lapisan atas. Mitosis

terjadi pada parabasal dan lapisan intermediat, tetapi tidak ada yang abnormal. Displasia berat adalah ditandai dengan kelainan inti sel dan hilangnya maturasi termasuk lebih dari dua pertiga epitel, dengan beberapa stratifikasi pada lapisan superfisial, mitosis kadang-kadang abnormal terjadi di lapisan atas. *Carsinoma in situ* ditemukan sebagai lesi dengan ketebalan penuh atau hamper penuh dari epitel skuamosa. Epitel memperlihatkan gambaran sel dan karsinoma tanpa invasi stroma, membutuhkan perubahan dari atas sampai kebawah dengan undifferentiated, sel primitive dari permukaan basal sampai lapisan di atasnya (Rastogi V dkk, 2013). Berdasarkan WHO *Head and Neck* 4th Ed. 2017 menetapkan 3 bentuk histopatologi karsinoma nasofaring, yaitu: 1. *Keratinizing Squamous Cell Carcinoma*. Dijumpai adanya diferensiasi dari sel skuamus dengan intercellular bridge atau keratinisasi. Tumor tumbuh dalam bentuk pulau-pulau yang dihubungkan dengan stroma yang desmoplastik dengan infiltrasi sel-sel radang limfosit, sel plasma, neutrofil dan eosinofil yang bervariasi. Sel-sel tumor berbentuk poligonal dan *stratified*. Batas antar sel jelas dan dipisahkan oleh intercellular bridge. Sel-sel pada bagian tengah pulau menunjukkan sitoplasma eosinofilik yang banyak mengindikasikan keratinisasi. Dijumpai adanya keratin pearls. 2. *Non Keratinizing Squamous Cell Carcinoma*. Sel-sel menunjukkan batas antar sel yang jelas dan terkadang dijumpai intercellular bridge yang samar-samar. Dibandingkan dengan *undifferentiated carcinoma* ukuran sel lebih kecil, rasio inti sitoplasma lebih kecil, inti lebih hiperkromatik dan anak inti tidak menonjol. 3. *Basaloid Squamous Cell Carcinoma*. Tipe ini memiliki dua komponen yaitu sel-sel basaloid dan sel-sel squamous. Sel-sel basaloid berukuran

kecil dengan inti hiperkromatin dan tidak dijumpai anak inti dan sitoplasma sedikit. Tumbuh dalam pola solid dengan konfigurasi lobular dan pada beberapa kasus dijumpai adanya periphera palisading. Komponen sel-sel skuamus dapat *in situ* atau invasif. Batas antara komponen basaloid dan skuamus jelas (Petersson *et al.*, 2017).

MEKANISME STRES OKSIDATIF MENIMBULKAN PERUBAHAN MUKOSA NASOFARING

Apabila produksi ROS melebihi kapasitas antioksidan yang ada, mengarahkan sel menuju stres oksidatif. Stres oksidatif dapat mengakibatkan cedera pada semua komponen seluler yang penting seperti protein, DNA dan membran lemak, yang dapat menyebabkan kematian sel. Stres oksidatif telah terbukti terlibat dalam berbagai proses fisiologi dan patologis, termasuk pada kerusakan DNA, proliferasi, adhesi dan kelangsungan hidup sel. Bahkan terdapat beberapa penelitian yang memberikan bukti kuat terhadap keterlibatan stres oksidatif pada proses karsinogenesis (Krisdiantari, 2018). Mekanisme toksik radikal bebas yang diinduksi xenobiotik dapat dilihat pada gambar di bawah ini



Gambar 9. Mekanisme toksik radikal bebas yang diinduksi xenobiotik (wikimedia commons, 2016)

Sebagai contoh beberapa penelitian di bawah ini memberikan hasil bahwa stres oksidatif menimbulkan perubahan mukosa. Pada penelitian eksperimental menggunakan 15 mencit C3H, dibagi menjadi tiga kelompok: kelompok kontrol (K) diinduksi dengan uap larutan formalin 10%, diberi diet standar AIN-93M mengandung 54 mg/kg BB formalin selama 9 minggu; kelompok P1 diinduksi uap formalin dan diet standar berformalin selama 6 minggu, lalu diberi 1,5 g/kgBB ekstrak SA selama 3 minggu; kelompok P2 diberi ekstrak SA selama 3 minggu, kemudian diinduksi uap formalin dan diet standar mengandung formalin selama 6 minggu. Di akhir penelitian dilakukan pemeriksaan histopatologik dan hitung AgNOR. Didapatkan kesimpulan ekstrak SA (*Scurulla Antropurpurea*) sebelum dan sesudah induksi formalin menimbulkan pengaruh berbeda bermakna pada perbaikan skor histopatologik dan aktivitas proliferasi sel epitel mukosa nasofaring mencit C3H (Sulistyo, 2010).

Pada penelitian hewan coba yang diberikan formalin per oral selama 4 minggu dengan dosis 20,40,80 ppm didapatkan. Semakin tinggi kadar formalin, perubahan mukosa semakin berat. Didapatkan dosis formalin yang dapat menyebabkan perubahan sel mukosa yeyunum tikus adalah 20 ppm, 40 ppm, dan 80 ppm. Dibuktikan ada pengaruh antara sel hiperplasia ($R^2=34.3$), hipertropi ($R^2=43.6$), atropi ($R^2=42.6$), dan radang ($R^2=63.6$) yaitu semakin besar dosis yang diberikan maka perubahan sel semakin banyak (Djauhari, 2011).

Pada penelitian hewan coba dengan sampel sebanyak 25 ekor tikus wistar jantan yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, diadaptasi selama 7 hari,

diberi pakan dan minum standar. Kelompok kontrol negatif tidak diberi perlakuan apapun, kontrol positif diberikan aquades selama 5 hari dan dilanjutkan formalin peroral 100 mg/kgBB/hari selama 21 hari. Kelompok P1, P2, dan P3 diberi ekstrak daun kelor pada 5 hari pertama, dengan dosis 200, 400, dan 800 mg/kgBB/hari. Selanjutnya diberi formalin 100 mg/kgBB/hari dan ekstrak daun kelor sesuai dengan dosis awal selama 21 hari. Setelah 26 hari, tikus wistar diterminasi, diambil organ gaster. Hasil pemeriksaan histopatologi mukosa gaster berupa ulserasi, erosi, dan deskuamasi. Dapat disimpulkan pemberian ekstrak daun kelor (*Moringaoleifera*) dosis bertingkat berpengaruh terhadap gambaran histopatologis mukosa gaster tikus wistar yang diinduksi formalin. Semakin tinggi dosis ekstrak daun kelor maka semakin rendah derajat kerusakan pada gambaran mikroskopis gaster tikus wistar jantan yang diinduksi formalin (Setiawan, 2018).

Pada penelitian eksperimental 32 ekor mencit (Balb/c), jantan, umur 5 bulan dapat disimpulkan bahwa pemberian PGL (Delima) dapat membunuh sel ganas pada rongga mulut mencit dengan jalan meningkatkan apoptosis, didapatkan lebih tinggi dibandingkan pemberian EA (Ellagicacid). Setiap sel akan merespon semua stres atau stimulus yang diterimanya melalui berbagai macam cara baik melalui aktivasi sinyal kehidupan sampai inisiasi kematian sel. Tujuan dari proses tersebut adalah menjaga homeostasis, sehingga sel yang tidak diperlukan akan dieliminasi. Mekanisme tersebut tergantung pada berbagai macam faktor dan kemampuan sel untuk mengatasi stres atau stimulus (Hernawati, 2014).

Pada penelitian hewan coba dapat disimpulkan, paparan asap rokok elektrik dapat menimbulkan degenerasi, nekrosis sel dan meningkatkan ketebalan mukosa

bronkiolus. Sistem vaskuler mengalami endotheliosis, nekrosis sel endotel serta thrombosis. Asap rokok yang masuk ke dalam tubuh secara inhalasi akan menyebabkan tanda-tanda iritasi paru-paru, selanjutnya partikel-partikel asap rokok dengan cepat diserap oleh paru-paru menuju ke peredaran darah. Akibat dari paparan yang terus menerus menyebabkan tingginya kadar radikal bebas di sirkulasi darah. Tingginya radikal bebas di dalam sirkulasi darah dapat menimbulkan stres oksidatif. Stres oksidatif dapat memicu meningkatnya kejadian apoptosis yang ditandai adanya sel nekrosis. Namun, sebelum terjadi nekrosis didahului oleh adanya pembengkakan pada sel yang disebut degenerasi. Nekrosis dapat terjadi karena adanya proses lanjutan dari degenerasi akibat paparan asap rokok yang terus menerus sehingga fragmentasi membran sel menyebabkan kematian sel. Nikotin, CO dan bahan lainnya dalam asap rokok terbukti merusak dinding pembuluh endotel (dinding dalam pembuluh darah). Apabila konsentrasi radikal bebas dalam darah terus meningkatkan karena paparan berlebihan dari faktor berbahaya seperti merokok, maka radikal bebas dalam darah tidak dapat diatur dan dapat menyebabkan mutasi berbahaya yang merusak sel-sel. Disamping itu jumlah besar radikal bebas yang terkandung dalam asap rokok dapat meningkatkan stres oksidatif, mengurangi bioavailabilitas nitrat oksida, gangguan vasodilatasi. Stres oksidatif menyebabkan berkurangnya nitrit oksida (NO) pada sel. Penurunan NO akan menyebabkan terjadinya disfungsi endotel. Disfungsi endotel dapat dipicu oleh dua hal utama yaitu stres fisik dan zat-zat iritan. Disfungsi endotel juga dapat terjadi akibat paparan zat-zat toksik, salah satunya akibat paparan asap rokok. Merokok memicu terbentuknya radikal bebas, yang

selanjutnya akan menimbulkan stres oksidatif, gangguan vasodilator dan pada gilirannya akan terjadi disfungsi endotel. Apabila terjadi kerusakan endotel maka endotel pembuluh darah yang tidak utuh akan memicu interaksi antara trombosit dengan dinding pembuluh darah sehingga menyebabkan trombosis (Monica, 2019).

Pada penelitian pemberian formalin peroral dosis 50-200 mg/kgBB/hari bertingkat selama 12 minggu menyebabkan terjadinya perubahan histopatologis esofagus tikus wistar. Perubahan yang terlihat berupa deskuamasi epitel, erosi epitel, dan ulserasi epitel. Perubahan-perubahan patologis tersebut dapat terjadi karena sifat formaldehid yang mudah larut dalam air sehingga formaldehid diserap dan dimetabolisme dengan cepat di traktus gastrointestinal (Sari, 2012)

Formalin dapat mencapai nasofaring melalui inhalasi, per oral, sub kutan dan intra vena, dan sebagai salah satu senyawa *xenobiotic*, maka formalin lebih sering dan banyak masuk ke dalam tubuh lewat inhalasi dan per oral. Senyawa *xenobiotic* ini akan dimetabolisme atau didetoksikasi oleh hepar melalui dua reaksi; 1) reaksi metabolisme *xenobiotic* fase-1 (fase hidroksilasi), dimana senyawa *xenobiotic* diubah menjadi derivat *xenobiotic* terhidroksilasi yang lebih mudah larut air dengan dikatalisis oleh kelompok enzim monooksigenase atau sitokrom P450, dan 2) reaksi metabolisme *xenobiotic* fase-2 (fase konjugasi), dimana derivat *xenobiotic* terhidroksilasi (hasil metabolisme fase-1) akan terkonjugasi dengan molekul asam glukuronat dan glutation menjadi lebih mudah larut dalam air, selanjutnya diekskresi lewat urin atau asam empedu. Reaksi *xenobiotic* ini tidak akan menimbulkan paparan ke sel tubuh, namun apabila gagal

maka senyawa *xenobiotic* ini akan bereaksi dengan sel tubuh melalui ikatan kovalen makromolekul sel (DNA, RNA dan protein). Ikatan kovalen dengan DNA akan mengawali fase inisiasi karsinogenesis, yang dimulai dengan terjadinya mutasi DNA, dilanjutkan dengan aktivasi proliferasi sel yang terjadi pada awal progresifitas sel normal menjadi sel kanker (Sulistyo, 2008).

SIMPULAN

Berdasarkan uraian di atas dapat diambil simpulan bahwa stres oksidatif merupakan ketidak seimbangan antara manifestasi sistemik dari radikal bebas berupa ROS terhadap kemampuan sistem tubuh dalam menetralkan dan memperbaiki kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas. Sebagian besar kerusakan pada sel tidak terjadi secara langsung, namun disebabkan oleh ROS yang dihasilkan seperti O_2^- (radikal superoksida), OH (radikal hidroksil) dan H_2O_2 (hidrogen peroksida). Efek stres oksidatif sangat banyak, dapat mengenai seluruh organ tubuh melalui mekanisme toksik radikal bebas yang diinduksi xenobiotik sehingga terjadi perubahan mukosa. Perubahan mukosa akibat stres oksidatif ini sudah dibuktikan pada berbagai penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Akhlaghi, M., Brian, B. 2009. Mechanisms of flavonoid protection against myocardial ischemia–reperfusion injury. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 46 :309–17.

Cojocari D. 2016. Mechanism of free radical toxicity induced by xenobiotics. http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Free_Radical_Toxicity.svg. Diakses 21 January 2016.

Chan, J.K.C., Pilch, B.Z., Kuo, T.T., Wenig, B.M., Lee, A.W.M. 2005. Tumours of the nasopharynx. In : Barnes, L., Eveson J.W., Reichart, P., Sidransky, D., editors. *WHO Pathology & Genetics Head and Neck Tumours*. Lyon: IARC Press. p. 81- 106.

Djauhari T NS, Andari D, Nurmasari. 2011. Pengaruh formalin terhadap mukosa yeyunum tikus putih (*Rattus norvegicus strain wistar*). *E journal umm* 7 (15) : 94-103.

Franch PC., Belles, V.V., Codoner, A.A. and Iglesias, E.A., 2011. Oxidant mechanisms in childhood obesity : the link between inflammation and oxidative stress. *Translational Research*. 158 : 369-84.

Heritage, P.L., Underdown, B.J., Arsenault, A.L., Snider, D.P., McDermott, M.R. 1997. Comparison of murine nasal-associated lymphoid tissue and Peyer's patches. *Am J Respir Crit Care Med* (156): 1256-1262.

Hernawati S. 2014. Pengaruh pemberian ekstrak buah delima tersandar 40% Ellagic acid terhadap sel mukosa rongga mulut mencit yang Mengalami transformasi ke karsinoma sel skuamosa akibat Induksi benzopirene. *Repository Universitas Jember*. 1-13.

Khaira K. Menangkap Radikal Bebas Dengan Anti-oksidan. 2010. *Jurnal Saintek* 11(2) : 183-187

Krisdiantari N. 2018. Pengaruh kemoterapi fase induksi terhadap malondialdehid sebagai biomarker stres oksidatif pada leukimia limfoblastik akut. Tesis. Konsentrasi pendidikan dokter spesialis terpadu program studi biomedik program pascasarjana Universitas Hasanudin Makassar.

Kumar, S. 2003. Epidemiological and Etiological Factors Associated with Nasopharyngeal Carcinoma. *ICMR Bulletin* 33(9): 1-9.

Kunwar, A. and Priyadarsini K.I. 2011. Free Radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. *J, Med Allied Sci*. 1(2): 53-60.

India. Cappellini, M.D. and Fiorelli, G. 2008 Glucosa-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. *Lancet* 371: 64-74.

Monica M, Adi AAAM, Winaya IBO. 2019. Histopatologi bronkiolus dan pembuluh darah paru mencit jantan pasca terpapar asap rokok elektrik. *Buletin Veteriner Udayana* 11 (2) : 157-165

Murray R.K., Granner D.K., Rodwell V.W., 2009. *Biokimia Harper*, (Andri Hartono). Edisi 27. Penerbit Buku Kedokteran, EGC. Jakarta
Parwata IMO. Bahan Ajar Uji Bioaktivitas Antioksidan. Kimia Terapan Program Pascasarjana Universitas Udayana. 2015

Petersson, B.F., Bell D., El-Mofty, S.K., Gillison, M., Lewis, J.S., Nadal, A., Nicolai, P., Wenig, B.M. 2017. Nasopharyngeal Carcinoma In: El-Naggar, A.K., Chan, J.K.C., Grandis, J.R., Takata, T., Slootweg, P.J., editors. *WHO Classification of Head and Neck Tumours*. 4th. Ed. Lyon: IARC Press. p.65-69.

Rastogi V, Puri N, Mishra S, Arora S, Kaur G, Yadav L. 2013. An insight to oral epithelial dysplasia. *International journal of head and neck surgery* 4 (2): 74-82

Sari ND, Suharto G, Margawati A. 2012. Pengaruh formalin peroral dosis bertingkat selama 12 minggu terhadap gambaran histopatologis esofagus tikus wistar. *Jurnal media medika muda*. 1-16

Setiawan T, Susilaningsih N, Saktini F. 2018. Pengaruh pemberian ekstrak daun kelor (*moringaoleifera* l.) Dosis bertingkat terhadap gambaran mikroskopis gaster tikus wistar jantan yang diinduksi formalin. *Jurnal Kedokteran Diponegoro* 7 (2) : 1358-1368.

Sulistyo, H. 2008. "Inhibisi aktivitas proliferasi sel dan perubahan Histopatologik Epitelial Mukosa nasofaring mencit C3H Dengan Pemberian Ekstrak Benalu Teh" (*tesis*). Semarang: Universitas Diponegoro.

Sulistyo H, Prasetyo A, Tjahjono. 2010. Penghambatan aktivitas proliferasi sel dan perubahan histopatologik epitel mukosa nasofaring mencit C3H dengan pemberian ekstrak benalu teh. *Majalah Patologi* 19 (1):1-9.

Suryadinata R V. 2018. Pengaruh radikal bebas terhadap proses inflamasi pada penyakit paru obstruktif kronis (PPOK). SA license 317-324.

Valko, M., Mario I., Milan M., Christopher J.R. and Joshua T. 2004. *Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. Molecular and Cellular Biochemistry*. 266 : 36-37

Vasudevan DM. and Sreekumari S. 2004. *Textbook of Biochemistry for Medical Student*. Jaypee. 4thed. p. 338-40.

Wira A, Winaya IBO, Adi AAAM. 2018. Perubahan Histopatologi Trakea Mencit Jantan Pascapaparan Asap Rokok Elektrik. *Indonesia Medicus Veterinus*. 7(4): 422-433

Zheng W. and Wang S.Y., 2009. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. *J.Agric.FoodChem.*, 49 (11) : 5165-70, ACS Publications, Washington D.C.