

EFEK NEFROPROTEKTIF INFUS DAUN SUKUN (*Artocarpus altilis* (Park.) Fsb.) PADA TIKUS JANTAN YANG DIINDUKSI KARBON TETRAKLORIDA

Rianti Adi Cahyaningsih, Azizahwati, Dadang Kusmana
Universitas Indonesia FMIPA, Departemen Farmasi

ABSTRACT

*Renal dysfunction can be caused by several factors, including hypertension, urinary tract obstruction, autoimmune disorders, urinary tract infection, diabetes mellitus, consumption of drugs that affect nephrotoxic and antibiotic from aminoglycoside class. Breadfruit leaves (*Artocarpus altilis* (Park.) Fsb.) is a traditional plant that has been used empirically to treat kidney diseases. The research has been done to figure out the nephroprotective effect of breadfruit leaves infusion on white male rats strain Sprague-Dawley previously induced by carbon tetrachloride. There were 25 rats which were divided randomly into five groups. Group I which was the normal control group received CMC 0,5%. Group II which was the carbon tetrachloride control group was induced with carbon tetrachloride that was dissolved in the coconut oil 0,4 mL/kg bw rat. Group III, IV and V were administered doses of infusion 13,5 g/kg bw/day; 27 g/kg bw/day and 54 g/kg bw/day for 7 days. Two hours later, the animals were given carbon tetrachloride induction. At the 8th day, the blood was collected from the orbital sinus and then the rats were performed a surgery to collect the kidney. The urea and creatinine plasma level measurement has been done by colorimetric method and histology of kidney was observed. One way ANOVA ($\alpha=0,1$) of the study showed that nephroprotective effect of breadfruit leaves infusion were significantly different among groups and dose of 54 g/kg bw/day has the best nephroprotective effect.*

Keywords: breadfruit leaves, creatinine, histological, kidney, urea

ABSTRAK

*Gangguan fungsi ginjal dapat disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya penyakit hipertensi, adanya sumbatan pada saluran kemih, kelainan autoimun, infeksi saluran kemih, diabetes mellitus, konsumsi obat-obatan yang berefek nefrotoksik dan obat antibiotik golongan aminoglikosida. Daun sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fsb.) merupakan tanaman tradisional yang secara empiris digunakan untuk mengobati penyakit ginjal. Penelitian dilakukan untuk mengetahui efek nefroprotektif infus daun sukun pada tikus putih jantan galur Sprague-Dawley yang diinduksi dengan karbon tetraklorida. Hewan uji terdiri atas 25 ekor tikus yang dibagi atas lima kelompok secara acak, kelompok I*

merupakan kontrol normal yang diberi CMC 0,5%, kelompok II diinduksi dengan karbon tetraklorida dalam minyak kelapa dengan dosis 0,4 mL/kg bb tikus, kelompok III, IV dan V diberi sediaan uji selama 7 hari dengan dosis berturut-turut 13,5 g/kg bb tikus/hari; 27g/kg bb tikus/hari dan 54 g/kg bb tikus/hari. Dua jam setelah pemberian sediaan uji, hewan uji diinduksi karbon tetraklorida. Pada hari ke-8 dilakukan pengambilan darah melalui sinus orbital mata dan dibedah untuk diambil ginjalnya. Selanjutnya dilakukan pengukuran kadar urea dan kreatinin plasma secara kolorimetri serta pemeriksaan histologis ginjal. Hasil ANAVA satu arah ($\alpha=0,1$) menunjukkan bahwa efek nefroprotektif yang dihasilkan antar kelompok memiliki perbedaan yang bermakna dan dosis 54 g/kg bb tikus/hari memiliki efek nefroprotektif paling baik.

Kata kunci: daun sukun, gambaran histologis, ginjal, kreatinin, urea

PENDAHULUAN

Gangguan fungsi ginjal dapat disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya dapat disebabkan oleh penyakit hipertensi, adanya sumbatan padasaluran kemih, kelainan autoimun, infeksi saluran kemih, dan diabetes mellitus (Corwin, 1997). Konsumsi obat-obatan yang memiliki efek nefrotoksik juga dapat menjadi penyebab terjadinya gangguan fungsi ginjal. Obat-obatan seperti antibiotik golongan aminoglikosida, asiklovir, dan kaptopril dengan konsentrasi besar dapat menyebabkan kerusakan tubulus karena bersifat toksik dan menyebabkan dilatasi pembuluh darah di ginjal sehingga laju filtrasi glomerular menurun (Ganiswarna, 2005).

Metode yang digunakan untuk mengobati gangguan pada ginjal diantaranya adalah metode hemodialisis, dialisis peritoneal dan pencangkokan ginjal (Corwin, 1997). Namun, metode terbaik dalam melawan penyakit ginjal tentu saja melalui pencegahan. Pencegahan yang umum dilakukan oleh masyarakat antara lain dengan melakukan gaya hidup sehat. Gaya hidup sehat yang dilakukan seperti

minum air yang banyak setiap hari, berolah raga, pola makan sehat dan yang sedang populer saat ini dimasyarakat adalah dengan mengonsumsi suplemen alami berupa tanaman tradisional. Tanaman-tanaman yang umum digunakan masyarakat untuk mengatasi penyakit ginjal antara lain daun meniran, daun tempuyung, daun keji beling, temulawak, lengkuas dan daun sukun (Wakidi, 2003; Noveriza & Rizal, 2008).

Daun sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fsb.) merupakan salah satu tanaman yang dipercaya masyarakat dapat mengobati hepatitis, sakit gigi, menurunkan kadar kolesterol darah dan dapat mengatasi penyakit ginjal (Noveriza & Rizal, 2008). Masyarakat menggunakan daun sukun untuk mengatasi gangguan fungsi ginjal dengan cara meminum air rebusan daun sukun tua dengan dosis 15 g setiap harinya (Adiraga, 2007). Penelitian sebelumnya menyebutkan senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etil asetat daun sukun berguna untuk mengatasi penyakit kardiovaskular (P2 Kimia, 2009). Namun penelitian mengenai efek terhadap ginjal masih belum diteliti.

Penelitian bertujuan untuk melihat efek nefroprotektif infus daun sukun dengan dosis 13,5 g/kg bb tikus/hari; 27 g/kg bb tikus/hari dan 54 g/kg bb tikus/hari pada tikus putih jantan yang diinduksi karbon tetraklorida ditinjau dari kadar urea dan kreatinin plasma serta gambaran histologis ginjal.

METODE

Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah sonde lambung, spuit(Terumo), timbangan analitik (Ohaus), sentrifugator (TGL-16 Zhengji), tabung sentrifugasi, mikropipet (Socorex), mikrohematokrit, microtube, spektrofotometer single beam (Thermo Spectronic Genesys 20), mikro proyektor (Ken A-Vision), mikroskop cahaya (Nikon Eclipse E200), mikrotom putar (Spencer), paraffin oven (Sakura), paraffin stretcher (Sakura), vortex mixer (H-VM-300, Health*), seperangkat alat bedah dan alat-alat gelas.

Bahan

Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah infus daun sukun yang telah dikeringkan. Daun sukun yang dikumpulkan berasal dari kawasan kampus Universitas Indonesia, Depok yang sudah dideterminasi. Daun yang digunakan merupakan daun tua yang terdapat pada dahan ke-3 dari pucuk sampai dahan ke-7 dari pucuk dan telah dideterminasi oleh Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor.

Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan dalam

penelitian ini antara lain tiosemikarbazid (Sigma), minyak kelapa (Barco*), heparin sodium (Inviclot*), karbon tetraklorida (Merck), asam trikloro asetat (Merck), asam fosfat pekat(Merck), ferri klorida (Merck), asam klorida (Merck), diasetilmonoksim (Merck), standar urea (Merck), standar kreatinin (Merck), asam asetat glasial (Merck), benzil benzoat (Merck), asam pikrat (Merck), benzol (Merck), parafin (Merck), alkohol absolut (Merck), xilol (Merck), albumin mayer (Merck), natriumhidroksida (Merck), larutan hematoksilin (Merck), dietil eter (Merck), asam sulfat(Merck), CMC (PT. Brataco Chemika), alkohol 70%, eosin, formalin, natrium klorida 0,9%, dan aquadest.

Hewan Uji

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley, berat badan 150-200 g sebanyak 25 ekor. (Parmar, 2006; Silbernagl, 2007). Tikus diperoleh dari Fakultas Peternakan Bagian Non Ruminansia dan Satwa Harapan Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor. Perlakuan terhadap seluruh hewan coba telah sesuai dengan etik yang berlaku.

Cara Kerja

Persiapan Hewan Uji

Tikus sebanyak 35 ekor diaklimatisasi selama 14 hari dalam kandang dengan kondisi temperatur standar ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$). Pada waktu tersebut, dilakukan pengamatan terhadap keadaan umum seperti kondisi mata yang jernih dan bulu yang tidak berdiri. Selain itu dilakukan penimbangan berat badan setiap 3

hari sekali. Kemudian setelah 14 hari dilakukan pemilihan 25 ekor tikus yang sehat untuk selanjutnya dibagi secara acak ke dalam 5 kelompok.

Penetapan Dosis

Dosis yang digunakan merupakan dosis empiris yaitu dosis yang biasa digunakan masyarakat untuk mengobati penyakit ginjal sebesar 15 g/hari daun sukun tua yang telah dikeringkan (Adiraga, 2007). Dosis tersebut dijadikan dosis pertama dan dosis lainnya merupakan kelipatan dua dari dosis ini yaitu 30 g/hari dan 60 g/hari. Dosis yang digunakan untuk hewan coba didapat dengan mengalikan dosis-dosis tersebut dengan faktor konversi 0,018 dan faktor farmakokinetik 10 sehingga didapatkan dosis untuk hewan coba sebesar 13,5 g/kgBB tikus/hari; 27 g/kg BB tikus/hari dan 54 g/kg BB tikus/hari (Paget & Barnes, 1964; Williams, 1979).

Pembuatan Sediaan Uji

Daun sukun dipisahkan dari pengotor, kemudian dibersihkan dengan air mengalir, dikeringkan pada udara terbuka dan terlindung dari sinar matahari langsung selama 7 hari. Pengeringan dilanjutkan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 1 jam, kemudian daun tersebut diserbukkan menggunakan blender (Standard of ASEAN Herbal Medicine, 1993).

Pembuatan Infus

Serbuk daun sukun ditimbang sebanyak 1800 g kemudian direbus dalam 18 L aquadest (1:10) selama 15 menit dihitung sejak suhu mencapai 90°C,

saring dengan kain flanel dan cukupkan volume menggunakan aquadest panas yang dituang dari atas ampas sampai mencapai volume awal (FI III, 1979). Infus kemudian dipekatkan hingga diperoleh ekstrak kental dengan cara diuapkan di atas penangas air dengan suhu tidak lebih dari 50°C. ekstrak kental tersebut, kemudian dimasukkan ke dalam freezer agar tidak terjadi reaksi enzimatis. Sediaan uji yang akan diberikan pada tikus dibuat setiap hari dengan mensuspensikan ekstrak kental dalam CMC 0,5%.

Pembuatan Larutan Karbon Tetraklorida

Dosis karbon tetraklorida yang digunakan ialah 0,4 mL/kg bb tikus. Larutan karbon tetraklorida dibuat dengan cara pengenceran menggunakan minyak kelapa untuk meningkatkan absorpsi. Sebanyak 4,24 g karbon tetraklorida dilarutkan dalam minyak kelapa dan dicukupkan volumenya hingga 100 mL. Larutan standar Urea serta larutan Asam Trikloroasetat (TCA) 5% dan larutan pereaksi urea, larutan katalisator, larutan Diasetil monoksim (DAM) dibuat berdasarkan metode yang dikeluarkan oleh Diagnostic MERCK (1976), sedangkan larutan standar kreatinin dibuat dengan konsentrasi 0,010 mg/mL (Lutsgarten & Wenk, 1972).

Pelaksanaan Penelitian

Penelitian kali ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan lima kelompok perlakuan. Penelitian yang akan dilakukan menggunakan 25 ekor tikus putih kemudian dibagi secara acak ke dalam lima kelompok perlakuan

(Olagunju et al, 2009). Pada pemeriksaan efek nefroprotektif ini, jumlah ulangan yang dibutuhkan untuk tiap kelompok berdasarkan rumus Federer, yaitu (Federer, 1963):

Tabel 1. Pembagian kelompok hewan uji

No.	Kelompok	Perlakuan
I	Kontrol normal (5 ekor)	Diberi CMC 0,5% selama 7 hari tanpa pemberian sediaan uji secara oral dan larutan karbon tetraklorida secara oral.
II	Kontrol induksi (5 ekor)	Diberi CMC 0,5% tanpa sediaan uji dan pada hari ke-7 diberi larutan karbon tetraklorida secara oral.
III	Dosis 1 (5 ekor)	Diberi sediaan uji dosis 13,5 g/kg bb tikus secara oral selama 7 hari dan 2 jam setelah pemberian dosis akhir diberi larutan karbon tetraklorida secara oral.
IV	Dosis 2 (5 ekor)	Diberi sediaan uji dosis 27 g/kg bb tikus secara oral selama 7 hari dan 2 jam setelah pemberian dosis akhir diberi larutan karbon tetraklorida secara oral.
V	Dosis 3 (5 ekor)	Diberi sediaan uji dosis 54 g/kg bb tikus secara oral selama 7 hari dan 2 jam setelah pemberian dosis akhir diberi larutan karbon tetraklorida secara oral.

Setelah 24 jam pemberian larutan karbon tetraklorida dilakukan pengambilan sampel darah dan organ ginjal untuk pengukuran kadar urea dan kreatinin plasma serta histologi ginjal.

Pengambilan Plasma Darah

Pengambilan darah dilakukan melalui sinus orbital mata. Tikus terlebih dahulu dibius dengan menggunakan eter, dengan menggunakan mikro hematokrit, mata ditusuk pada bagian sinus orbital, yaitu pada sudut bolamata dengan mengarah ke daerah belakang bola mata, digerakkan masuk sambil diputar-putar sehingga darah akan keluar karena kapilaritas. Darah yang keluar ditampung dalam microtube yang telah diberi heparin (Hoff, 2000).

Pengambilan Organ Ginjal

Pengambilan organ ginjal dilakukan dengan cara pembedahan. Sebelum pembedahan, tikus dibius terlebih dahulu dengan eter lalu diletakkan telentang pada papan bedah. Keempat kaki tikus diikat, bagian dadadan perut dibasahi dengan alkohol 70% kemudian dilakukan pembedahan. Ginjal diambil dan dimasukkan ke dalam gelas kimia berisi natrium klorida 0,9% untuk menghilangkan darah yang menempel pada jaringan ginjal, dan kemudian dilakukan pembuatan preparat histologis dengan pewarnaan.

Pengukuran Kadar Urea Plasma

Pengukuran kadar urea plasma dilakukan secara kolorimetri dengan

menggunakan diasetil monoksim (DAM) ke dalam masing-masing tabung reaksi (Diagnostic MERCK, 1976). Kemudian ditambahkan larutan sebagai berikut:

Tabel 2. Tahap pengukuran kadar urea plasma

	Sampel	Standar	Blanko
Larutan TCA 5%	1,0 ml	1,0 ml	-
Darah	50 µL	-	-
Standar urea	-	50 µL	-

Disentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm selama 5 menit.

Kemudian dipipet ke dalam tabung baru

Supernatan atau campuran standar	100 µL	100 µL	-
Larutan DAM	2,0 µL	2,0 µL	2,0 µL
Larutan katalisator	2,0 µL	2,0 µL	2,0 µL

Masing-masing larutan sampel, standar, dan blanko dicampur dengan baik dan disentrifugasi dalam tabung yang terpisah, kemudian tabung reaksi diletakkan di dalam penangas air mendidih dengan suhu 99-100,5°C selama 6 menit. Setelah tabung reaksi dikeluarkan dari penangas air, diamkan selama 10 menit pada suhu kamar. Serapan diukur pada panjang gelombang 525 nm.

Pengukuran Kadar Kreatinin Plasma

Pengukuran kadar kreatinin plasma dilakukan dengan menggunakan metode Jaffe (Diagnostic MERCK, 1976; Lutsgarten & Wenk, 1972). Kreatinin standar dan sampel plasma ditambah dengan larutan pikrat alkalis dengan perbandingan sebagai berikut:

Tabel 3. Tahap pengukuran kadar kreatinin plasma

	Sampel	Standar	Blanko
Sampel darah	1,5 ml	-	-

Disentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm selama 5 menit.

Kemudian dipipet ke dalam tabung baru

Supernatan	100 µL	-	-
Standar kreatinin	100 µL	-	-
Aquadest	100 µL	-	-
Larutan asam pikrat jenuh	1,0 µL	1,0 µL	1,0 µL
Larutan NaOH	1,0 µL	1,0 µL	1,0 µL

Larutan pereaksi, standar, dan sampel diinkubasi pada suhu 30°C. Masing-masing larutan sampel, standar dan blanko dicampur dengan baik dalam tabung yang terpisah dan diukur serapannya pada detik ke-30 ($A_t = 30$) dan serapannya pada detik ke-90 ($A_t = 90$). Pengukuran serapan dilakukan pada panjang gelombang 515 nm.

Pembuatan Preparat Histologis (Tanzil, 1996; Suntoro, 1983)

Pembuatan preparat histologis dilakukan setelah ginjal dibersihkan dan dicuci dengan larutan fisiologis natrium klorida 0,9%. Pertama kali dilakukan fiksasi organ ginjal dalam larutan Bouin dan direndam selama 24 jam dalam tempat tertutup rapat. Larutan Bouin terdiri atas asam pikrat jenuh 75 mL, formalin 4% 25 mL dan asam asetat glasial 5 mL. Selanjutnya dilakukan dehidrasi dan penjernihan, kemudian dilakukan infiltrasi dan embedding. Setelah itu dilakukan penyayatan (sectioning) dan penempelan pada gelas objek (mounting) yang bertujuan untuk merentangkan sayatan jaringan dan merekatkannya pada gelas objek.

Tahap berikutnya adalah deparafinisasi dan hidrasi dengan memasukkan gelas objek ke dalam larutan alkohol dan dipindah-pindahkan masing-masing selama 3 menit pada alkohol absolut, kemudian alkohol 96% dan alkohol 70%. Pada tahap pewarnaan (staining), gelas objek yang telah dihidrasi direndam dalam larutan hematoxilin selama 4 menit, selanjutnya didehidrasi dan direndam dalam larutan xylol sebanyak tiga kali, masing-masing selama 2 menit.

Tahap terakhir adalah menutup gelas objek yang sebelumnya ditetesi dengan larutan xilol dan sebelum xilol mengering, segera ditutup dengan gelas penutup yang sebelumnya telah ditetesi dengan canada balsam.

Pengamatan Mikroskopis Preparat Histologis Ginjal

Pengamatan secara mikroskopis dilakukan dengan membandingkan preparat histologis ginjal antar kelompok kontrol normal, kontrol induksi dan kelompok dosis dengan menggunakan mikroskop cahaya. Pengukuran terhadap diameter kapsula Bowman dan jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus (ruang Bowman) dilakukan untuk mengamati besarnya kerusakan yang terjadi. Pengamatan terhadap sampel dilakukan dengan menggunakan mikro proyektor yang dipasang pada lensa mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali.

Pengukuran Preparat Histologis Ginjal

Pengukuran dilakukan dengan mengukur diameter kapsula Bowman yang terpanjang. Dari 10 irisan ginjal tiap preparat, dipilih secara acak 50 buah diameter kapsula Bowman yang selanjutnya akan diukur dan dihitung nilai rata-ratanya. Pada pengukuran jarak ruang Bowman, dihitung jarak terjauh dari bagian tepi kapsula Bowman sampai bagian tepi glomerulus. Hasil pengukuran dari 50 buah jarak ruang Bowman yang dipilih tersebut kemudian dihitung rata-ratanya.

Pengolahan Data

Data diolah menggunakan SPSS 15.0. Analisis statistik yang digunakan adalah uji distribusi normal (uji Shapiro-Wilk), uji homogenitas (uji Levene), lalu dilanjutkan dengan analisis varian (ANAVA) (Dahlan, 2009).

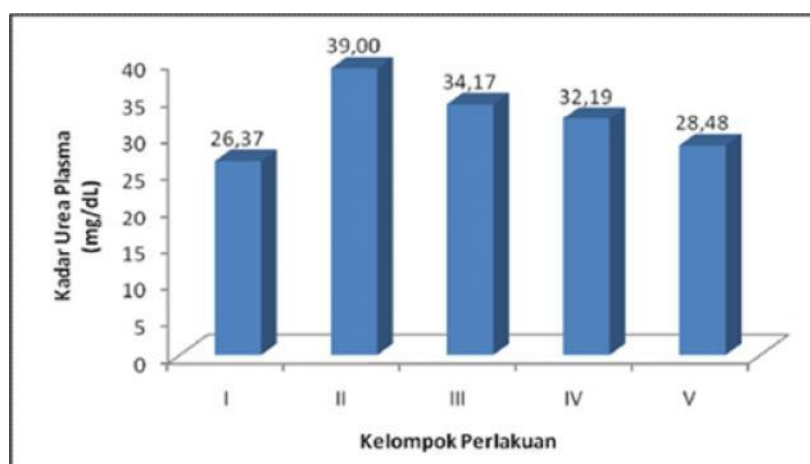
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian dilakukan pemeriksaan terhadap organ ekskresi yaitu ginjal. Kelainan pada filtrasi glomerulus menyebabkan berkurangnya pengeluaran terhadap urea dan kreatinin, sehingga kadar senyawa tersebut tinggi di dalam plasma (Silbernagl, 2007). Oleh karena itu, pengukuran kadar urea dan kreatinin plasma digunakan sebagai parameter

analisis terhadap fungsi ginjal. Selain itu, dilakukan pengamatan terhadap histologis ginjal secara mikroskopis untuk melihat perubahan yang terjadi pada jaringan ginjal.

Pengukuran Kadar Urea Plasma

Pengukuran kadar urea dalam darah dilakukan secara kolorimetri berdasarkan metode Fearon dengan diasetilmonoksim (DAM) sebagai pereaksi. Metode tersebut dipilih karena spesifik, presisi dan akurasi yang baik serta sensitifitasnya tinggi. Selain itu, metode Fearon lebih sederhana dalam pelaksanaannya dibandingkan metode enzimatik (Beale & Croft, 1961; Burtis & Ashwood, 1999; Butler, et al., 1981).



Keterangan: I = Kelompok kontrol normal; II = Kelompok kontrol induksi; III = Kelompok dosis 13,5 g/kg bb tikus; IV = Kelompok dosis 27 g/kg bb tikus; V = Kelompok dosis 54 g/kg bb tikus

Gambar 1. Diag batang kadar rata-rata urea plasma (n=5)

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa kadar urea plasma pada hewan uji terdistribusi normal dan bervariasi homogen. Kadar urea plasma pada

kelompok dosis 1, 2 dan 3 menurun mendekati normal seiring peningkatan dosis sediaan uji yang diberikan dibanding dengan kontrol induksi. Hal tersebut

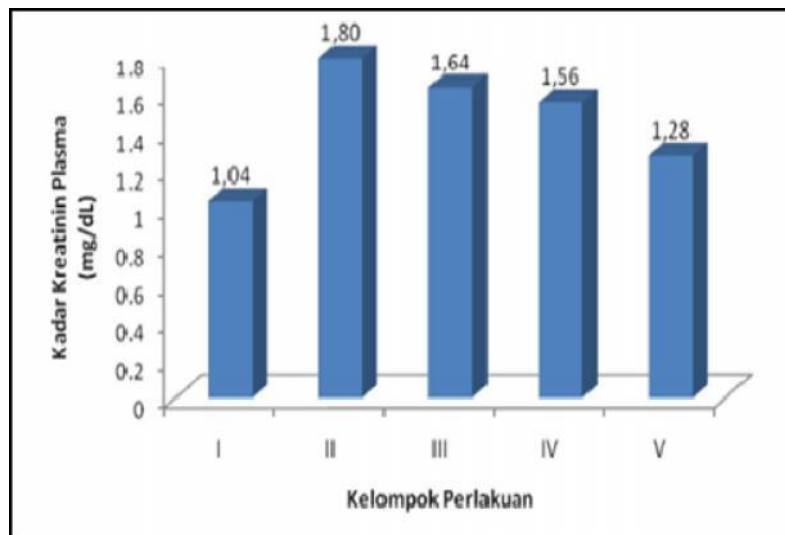
ditunjukkan dengan efektivitas dosis 1, 2 dan 3 terhadap kadar urea plasma yang besarnya secara berurutan adalah 38,24%; 54,92%; dan 83,29%. Kadar rata-rata urea plasma pada kelompok dosis 3 mendekati kadar rata-rata urea plasma pada kelompok normal.

Berdasarkan uji ANAVA satu arah ($\alpha=0,1$) diperoleh hasil bahwa terdapat perbedaan kadar urea plasma yang bermakna antar kelompok. Setelah itu, pengujian dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil yang menunjukkan hasil bahwa kadar urea plasma pada kelompok dosis 1 memiliki perbedaan yang bermakna terhadap kelompok kontrol normal, tetapi tidak memiliki perbedaan yang bermakna dengan kelompok kontrol induksi.

Pengukuran Kadar Kreatinin Plasma

Pengukuran kadar kreatinin dalam darah dilakukan secara kolorimetri dengan metode Jaffe. Metode tersebut dipilih karena sederhana, akurat, dan cepat (Kaplan & Pesce, 1996; Lutsgarten & Wenk, 1972).

Prinsip metode Jaffe didasarkan pada reaksi kreatinin dengan asam pikrat dalam suasana basa membentuk kompleks berwarna kuning-jingga yang diukur serapannya pada panjang gelombang optimum 515 nm (Burtis & Ashwood, 1999; Lutsgarten & Wenk, 1972). Kadar kreatinin plasma rata-rata tikus putih jantan setelah perlakuan selama 7 hari adalah:



Keterangan: I = Kelompok kontrol normal; II = Kelompok kontrol induksi; III = Kelompok dosis 13,5 g/kg bb tikus; IV = Kelompok dosis 27 g/kg bb tikus; V = Kelompok dosis 54 g/kg bb tikus

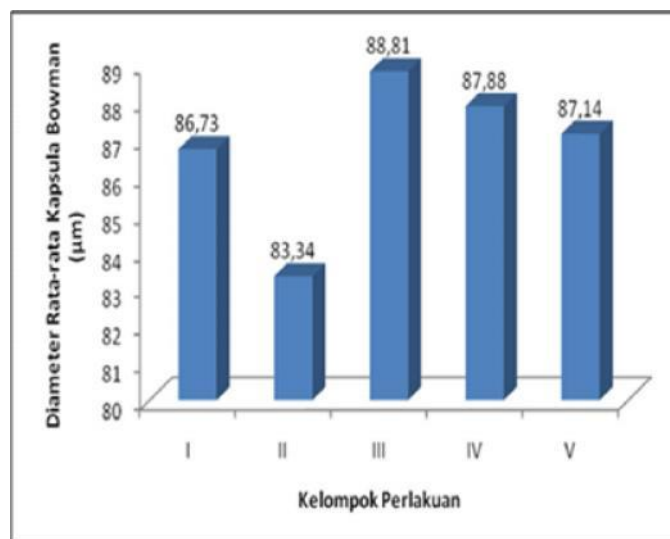
Gambar 2. Diag batang kadar rata-rata kreatinin plasma (n=5)

Berdasarkan hasil uji ANAVA satu arah ($\alpha=0,1$) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok. Berdasarkan uji Beda Nyata Terkecil, kadar kreatinin plasma pada kelompok dosis 1 dan dosis 2 berbeda secara bermakna dengan kelompok kontrol normal, tetapi tidak terdapat perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol induksi. Kelompok dosis 3 menunjukkan kadar kreatinin plasma yang tidak berbeda bermakna terhadap kelompok kontrol normal, tetapi memiliki perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol induksi. Kelompok dosis 3 juga berbeda bermakna dengan kelompok dosis 1 maupun kelompok dosis 2.

Efektivitas dari dosis yang diberikan terhadap kadar kreatinin plasma meningkat seiring dengan peningkatan dosis yang diberikan. Dosis 1 memiliki efektivitas sebesar 21,05%; efektivitas dosis 2 adalah 31,58%; dan efektivitas dosis 3 adalah 68,42%.

Pemeriksaan Histologis Ginjal

Berdasarkan uji normalitas Shapiro-Wilk dan uji homogenitas Levene diperoleh hasil bahwa jarak ruang Bowman pada hewan uji terdistribusi normal dan bervariasi homogen. Diameter rata-rata kapsula Bowman tikus putih jantan setelah perlakuan selama 7 hari adalah:



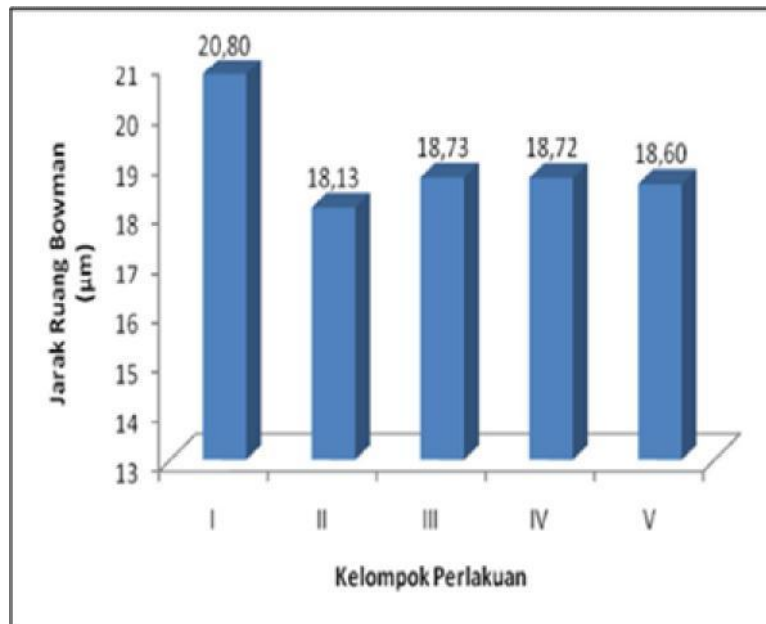
Keterangan: I = Kelompok kontrol normal; II = Kelompok kontrol induksi; III = Kelompok dosis 13,5 g/kg bb tikus; IV = Kelompok dosis 27 g/kg bb tikus; V = Kelompok dosis 54 g/kg bb tikus

Gambar 3. Diagram batang diameter rata-rata kapsula Bowman

Pengamatan terhadap gambaran diameter rata-rata kapsula Bowman histologis ginjal menunjukkan bahwa melebihi normal, tetapi pada kelompok pada kelompok dosis 1 terjadi perbesaran induksi terjadi penurunan diameter

rata-rata kapsula Bowman. Hal tersebut diduga karena kandungan dalam daun sukun bekerja sinergis dengan karbon

tetraklorida menyebabkan pembesaran pada sel kapsula Bowman.



Keterangan: I = Kelompok kontrol normal; II = Kelompok kontrol induksi; III = Kelompok dosis 13,5 g/kg bb tikus; IV = Kelompok dosis 27 g/kg bb tikus; V = Kelompok dosis 54 g/kg bb tikus

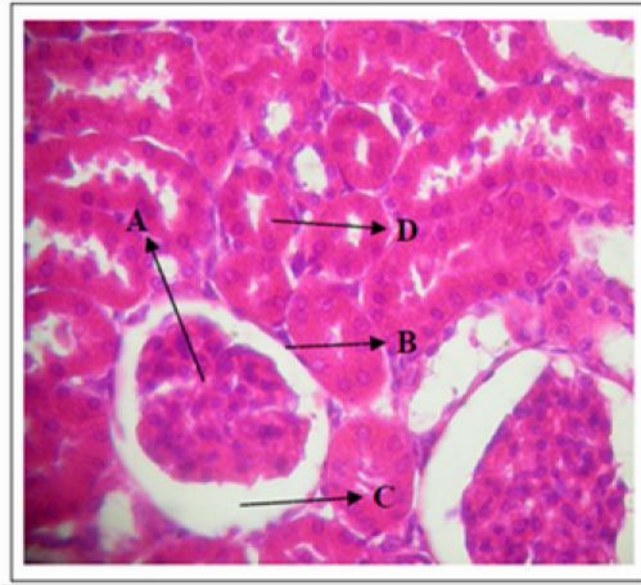
Gambar 4. Diag batang jarak rata-rata ruang Bowman

Berdasarkan uji ANAVA satu arah ($\alpha=0,1$) menunjukkan jarak ruang Bowman antar kelompok tidak terdapat perbedaan bermakna. Berdasarkan hasil statistik, terlihat bahwa peningkatan dosis sediaan uji yang diberikan tidak menunjukkan perbaikan diameter kapsula Bowman maupun jarak ruang Bowman ke arah normal.

Selain itu, glomerulus pada kelompok dosis 1, 2 dan 3 serta kelompok induksi mengalami pembengkakan yang menyebabkan ruang Bowman mengecil dibandingkan dengan kelompok normal.

Akan tetapi, jaringan ikat pada sel-sel tubulus dan jaringan ikat pada sel-sel epitel penyusun membran kapsula Bowman mengalami perbaikan seiring dengan peningkatan dosis sediaan uji yang diberikan.

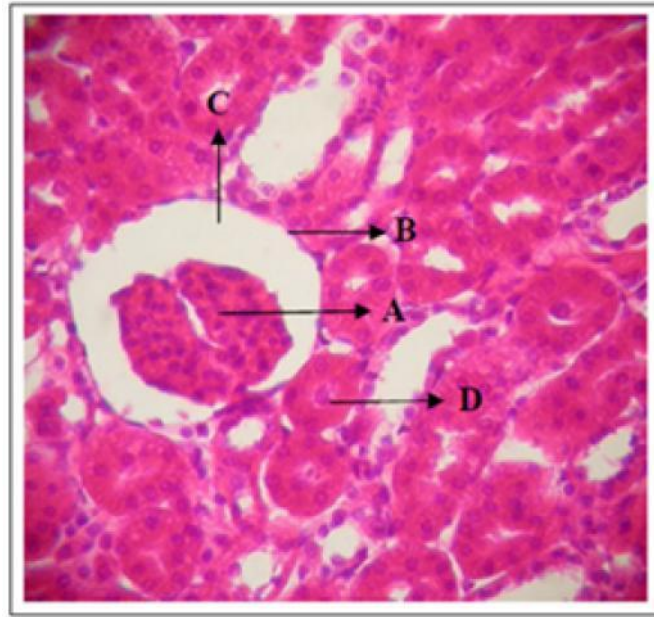
Karbon tetraklorida yang digunakan sebagai penginduksi bersifat nefrotoksik terutama pada bagian tubulus proksimal (Lu, 1995). Oleh karena itu, pengamatan sebaiknya dilakukan pada bagian tubulus dengan cara membandingkan gambaran pada kelompok dosis, normal, dan induksi.



Keterangan: A = Glomerulus; B = Kapsula Bowman;
C = Ruang Bowman; D = Tubulus proksimal. Perbesaran 400×
Gambar 5. Histologis ginjal kelompok kontrol normal

Efek nefroprotektif yang dimiliki daun sukun diduga disebabkan oleh kandungan flavonoidnya (Syah, et al. 2006; Wang, et al. 2007). Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang memiliki efek sebagai antioksidan (Iannitti, 2009). Flavonoid sebagai antioksidan di dalam sistem biologis memiliki keuntungan yaitu toksisitasnya yang rendah. Antioksidan akan teroksidasi dengan adanya radikal bebas dengan cara memberikan elektronnya pada radikal bebas tersebut.

Radikal bebas yang dimaksud disini adalah radikal triklorometil dan radikal triklorometilperoksi yang dihasilkan dari metabolisme karbon tetraklorida di hati. Radikal triklorometil dan radikal triklorometilperoksi dapat menginduksi kerusakan sel dalam waktu yang singkat. Dengan adanya flavonoid sebagai antioksidan ini, maka efek kerusakan sel yang ditimbulkan oleh radikal bebas dapat dihambat (Havsteen, 2002).



Keterangan:

A = Glomerulus; B = Kapsula Bowman;

C = Ruang Bowman; D = Tubulus proksimal. Perbesaran 400×

Gambar 6. Histologis ginjal kelompok dosis 54 g/kg bb tikus/hari

Berdasarkan hasil analisis darah baik pengukuran kadar urea maupun kreatinin plasma dan hasil pengamatan terhadap gambaran histologis ginjal menunjukkan bahwa efektivitas nefroprotektif infus daun sukun (*Artocarpus altilis* (Park.)) meningkat seiring dengan peningkatan dosis yang diberikan. Efek nefroprotektif yang tidak terlihat nyata secara statistik pada pengukuran diameter rata-rata kapsula Bowman dan jarak ruang Bowman tersebut diduga disebabkan oleh waktu pemberian infus daun sukun yang kurang lama atau dosis sediaan uji yang belum optimum, sehingga belum melindungi ginjal dari serangan radikal bebas dengan baik. Pada penelitian ini diperoleh hasil bahwa dosis 54 g/kg bb

tikus/hari (Gambar 6) memiliki efek nefroprotektif paling baik.

KESIMPULAN

Efektivitas infus daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Park.)) meningkat seiring dengan peningkatan dosis yang diberikan ditinjau dari kadar urea dan kreatinin plasma. Perbaikan pada jaringan ikat sel-sel epitel kapsula Bowman dan jaringan ikat sel-sel tubulus meningkat seiring dengan peningkatan dosis yang diberikan. Akan tetapi, tidak terlihat perbaikan yang nyata terhadap diameter rata-rata kapsula Bowman dan jarak ruang Bowman pada kelompok dosis. Dosis 54 g/kg bb tikus/hari memiliki efek nefroprotektif paling baik.

DAFTAR ACUAN

- Adiraga.2007. *Daun Sukun Penyelamat Ginjal*. 1 hlm. <http://www.CBNPortal.com>: 1 Januari 2010, pk. 09.00 WIB.
- Beale RN, Croft D. 1961. A Sensitive Method for The Colorimetric Determination of Urea. *J. Clin. Path.*, 14: 418.
- Burtis CA, Ashwood ER. 1999. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. (Ed. ke-3). W.B. Saunders Company. Philadelphia.1239-1244.
- Corwin EJ. 1997. Buku Saku Patofisiologi. Terjemahan dari *Handbook of Pathophysiology* oleh Brahm U. Pendit. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 442-492.
- Dahlan M. 2009. *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan: Deskriptif, Bivariat, dan Multivariat Dilengkapi Prog SPSS*. Salemba Medika. Jakarta. 83-105.
- Diagnostic MERCK: *Direction for Use Clinical Chemistry*. 1976. MERCK. Darmstadt. 30-31, 163-174.
- Farmakope Indonesia Edisi III*. 1979. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 12, 695.
- Federer WY. 1963. *Experimental Design, Theory and Application*. New York, Mac. Millan, 544.
- Ganiswarna, Sulistia G. 2005. *Farmakologi dan Terapi*. (Ed. ke-4). Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 339, 617, 669.
- Havsteen, Bent H. 2002. The Biochemistry and Medical Significance of The Flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, 96: 101-103.
- Hoff S. 2000. Methods of Blood Collection in The Mouse. *Lab Animal*, 29(10): 50-51.
- Kaplan A, Pesce A. 1996. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Corelation 3rd Edition*. Mosby-Year Book Company. USA. 490, 497-501.
- Lu FC. 1995. Toksikologi Dasar: Asas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko. (Ed. ke-2). Terjemahan dari *Basic Toxicology: Fundamentals, Target Organs, and Risk Assesment*, oleh Edi Nugroho. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press). Jakarta. 231.
- Lutsgarten JA, Wenk RE. 1972. Simple, Rapid, Kinetic Method for Serum Creatinine Measurement. *Clinical Chemistry*, 18(11): 1419-1422.
- Noveriza NNK, M Rizal, Balittro. 2008. Peluang Tanaman Obat sebagai Alternatif Bahan Obat Flu Burung. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*, 14(1): 20.
- Olagunju JA, AA Adeneye, BS Fagbohunka. 2009. Nephroprotective Activities of the Aqueous Seed Extract of *Carica papaya* Linn. In Carbon Tetrachloride Induced Renal Injured Wistar Rats: A Dose-and Time-Dependent Study. *Biology and Medicine*, 1(1): 11-19.
- Paget GE, Barnes JM. 1964. In Evaluation of drug activities: Pharmacometrics. Lawrence DR, Bacharach AL (eds.) Vol 1. Academic Press. New York.
- Parmar N, Prakash S. 2006. *Screening Methods in Pharmacology*. Oxford UK: Alpha Science International Ltd, 39-47.
- Silbernagl S, Lang F. 2007. Teks & Atlas Berwarna Patofisiologi. Terjemahan

- dari *Color Atlas of Pathophysiology*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 92-133
- Standard of ASEAN Herbal Medicine*. 1993. Jakarta: ASEAN Countries, 1:521.
- Syah YM, SA Achmad, E Bakhtiar. 2006. Dua Flavonoid Tergeranilasi dari Daun Sukun (*Artocarpus altilis*). *Jurnal Matematika dan Sains*,11(3): 100-104.