

NASKAH PUBLIKASI SKRIPSI

**UJI EFEK RENOPROTEKTIF FRAKSI *n*-HEKSAN DAUN KESUM
(*Polygonum minus* Huds.) SEBAGAI KO-KEMOTERAPI PADA TIKUS
PUTIH JANTAN GALUR WISTAR PASCA INDUKSI CIS-
DIAMMINEDICHLORIDOPLATINUM(II)**



Oleh

**TOMMY
I 211 09 042**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK
2013**

**UJI EFEK RENOPROTEKTIF FRAKSI *n*-HEKSAN DAUN KESUM
(*Polygonum minus* Huds.) SEBAGAI KO-KEMOTERAPI PADA TIKUS
PUTIH JANTAN GALUR WISTAR PASCA INDUKSI CIS-
DIAMMINEDICHLORIDOPLATINUM(II)**

NASKAH PUBLIKASI SKRIPSI

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi
(S.Farm) pada Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura Pontianak**



**OLEH
TOMMY
I 211 09 042**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK
2013**

UJI EFEK RENOPROTEKTIF FRAKSI *n*-HEKSAN DAUN KESUM (*Polygonum minus* Huds.) SEBAGAI KO-KEMOTERAPI PADA TIKUS JANTAN GALUR WISTAR PASCA INDUKSI CIS-DIAMMINEDICHLORIDOPLATINUM(II)

ABSTRAK

Cis-diamminedichloridoplatinum(II) (CDDP) merupakan obat kemoterapi yang mengandung unsur platinum yang biasanya digunakan untuk terapi bermacam-macam kanker. Pengobatan kemoterapi dengan CDDP sering tidak efektif dan menimbulkan efek kerusakan ginjal (*nephrotoxicity*). Daun kesum (*Polygonum minus* Huds.) merupakan tanaman endemik khas Kalimantan Barat yang memiliki kandungan antioksidan kuat yang diduga dapat mengurangi efek samping nefrotoksik agen kemoterapi CDDP. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui informasi kandungan senyawa metabolit sekunder pada fraksi *n*-heksan daun kesum, mengetahui informasi efek penurunan kerusakan ginjal dan kadar ureum serta kreatinin dengan pemberian ekstrak *n*-heksan pasca induksi CDDP.

Simplisia di maserasi menggunakan pelarut metanol teknis kemudian difraksi menggunakan *n*-heksan *p.a.* Skrining fitokimia dilakukan dengan metode uji tabung dimana ekstrak diuji kandungan alkaloid, polifenol, tanin, flavonoid, steroid-triterpenoid dan saponin. Aktivitas renoprotektif diukur berdasarkan kadar ureum dan kreatinin darah serta gambaran histopatologi kerusakan sel tubulus proksimal ginjal yang berupa penjumlahan sel nekrosis, *cast*, dilatasi, vakuolisasi dan hilangnya *brush border*. Tikus (*Rattus norvegicus*) yang digunakan dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kontrol CDDP, kontrol CMC, perlakuan dosis 1(1,308mg/200grBB), 2(2,616mg/200grBB), dan 3(5,233mg/200grBB) dengan masing – masing kelompok terdiri dari 3 ekor tikus. Teknik analisis data menggunakan *One way ANOVA* dan *Post Hoc Multiple Comparisons (Tukey HD)*.

Hasil skrining fitokimia menunjukkan fraksi *n*-heksan mengandung polifenol dan triterpenoid. Hasil analisis menunjukkan ekstrak *n*-heksan daun kesum dosis 1 memiliki efek menurunkan persen kerusakan ginjal serta mampu menurunkan kadar ureum dan kreatinin sehingga berpotensi untuk mencegah efek samping kemoterapi dengan agen kemoterapi CDDP.

Kata kunci : daun kesum, fraksi *n*-heksan, renoprotektif

**RENOPROTECTIVE EFFECT OF KESUM LEAVES (*Polygonum minus* Huds.) N-
HEXANE FRACTION AS CO-CHEMOTHERAPY ON MALE WISTAR RAT INDUCED
BY CIS-DIAMMINE DICHLORIDOPLATINUM(II)**

ABSTRACT

Cis-diamminedichloridoplatinum(II) (CDDP) a chemotherapy drug that consist of platinum which commonly used to heal many kinds of cancer. Chemotherapy with CDDP mostly ineffective and cause a major side effect such as kidney damage (nephrotoxicity). Kesum Leaves (*Polygonum minus* Huds.) is one of endemic herbs that grow in West Borneo which had high antioxidant activities that might be used to reduce nephrotoxicity induced by chemotherapy agent CDDP. The purpose of this research were to find out the information whether kesum Leaves n-hexane fraction had the ability to reduce kidney damage also to decrease urea and creatinine concentration after induction of CDDP, this research also want to find out the secondary metabolite contents of kesum Leaves n-hexane extract.

Simplisia were macerated using technical methanol and fractionated with p.a n-hexane. Phytochemistry screening consist of alkaloid, polyphenol, tannin, flavonoid, steroid-triterpenoids, and saponin test. Renoprotective activity were measured by the concentration of urea, and creatinine in serum, also histopathology imaging of proximal tubule damage. Rat (*Rattus norvegicus*) were divided to 5 groups that consist of 3 rats. The groups were CMC control group, CDDP control group and extract group dose 1(1,308mg/200grBW), 2(2,616mg/200grBW), and 3(5,233mg/200grBW). Data were analyzed with One way ANOVA and Post Hoc Multiple Comparisons (Tukey HD) test. Phytochemistry screening shows that n-hexane fraction contain polyphenol and triterpenoid.

The results shows that dose 1 of kesum Leaves n-hexane ekstract decrease kidney damage, and also urea and creatinine level which indicate that it has the potency to reduce the side effect of chemotherapy agent cisplatin.

Keywords : kesum leaves, n-hexane fraction, renoprotective

1. Pendahuluan

Cis-diamminedichloridoplatinum (II) (CDDP) merupakan obat kemoterapi yang mengandung unsur platinum yang biasanya digunakan untuk terapi bermacam-macam kanker termasuk *sarcoma*, *carcinoma*, dan *lymphoma*. Pengobatan kemoterapi dengan CDDP sering tidak efektif dan menimbulkan efek samping yang merugikan. Dalam penggunaannya tanpa pendamping CDDP tidak efektif menekan pertumbuhan kanker dan memiliki efek samping berupa kerusakan ginjal (*nephrotoxicity*) dan kerusakan neuron (*neurotoxicity*). Pencarian suatu cara pengobatan kanker yang lebih efektif terus dilakukan, diantaranya adalah dengan pemberian kombinasi obat kemoterapi dengan agen yang dapat meningkatkan efektivitas dan menekan efek sampingnya (ko-kemoterapi).

Ko-kemoterapi dapat dilakukan dengan penggunaan senyawa kemoprevensi yang bersifat non-toksik atau lebih tidak toksik. Salah satu bahan alam yang berpotensi sebagai agen ko-kemoterapi adalah daun kesum. Daun kesum memiliki berbagai komponen yang berperan sebagai antioksidan yang dapat mengatasi kerusakan sel akibat pemberian CDDP.

Polygonum minus atau yang lebih dikenal dengan nama kesum di Indonesia, merupakan tumbuhan yang termasuk dalam keluarga polygonaceae. Tanaman kesum merupakan salah satu tanaman yang endemik di wilayah Kalimantan Barat. Keberadaannya tersebar luas di seluruh penjuru Kalimantan Barat. Ekstrak tanaman kesum memiliki aktivitas tinggi dalam menangkap radikal bebas. Penelitian Maizura dkk (2011)^[9] menunjukkan bahwa ekstrak kesum memiliki total komponen fenolik dan aktivitas antioksidan yang besar dengan IC_{50} $0,005 \pm 0,001$ mg/mL. Komponen

fenolik merupakan kontributor utama aktivitas antioksidan pada tumbuhan.

Hal ini menunjukkan bahwa daun kesum memiliki potensi yang tinggi untuk dikembangkan dalam bidang pengobatan. Namun, informasi ilmiah mengenai pengembangan bahan alam terutama daun kesum sebagai ko-kemoterapi dan renoprotektif masih sangat terbatas. Maka pada penelitian ini dilakukan untuk menguji apakah fraksi n-heksan daun kesum memiliki aktivitas renoprotektif dan sebagai ko-kemoterapi yang diinduksi dengan CDDP. Pengujian renoprotektif dilakukan dengan mengamati parameter biokimia darah berupa ureum dan kreatinin serta pengamatan histopatologi ginjal. Selain itu penelitian ini juga dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam fraksi n-heksan daun kesum.

2. Bahan dan Metodologi

2.1 Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kesum yang diambil di jalan Purnama, Kelurahan Parit Tokaya, Kecamatan Pontianak Selatan, Kota Pontianak, Provinsi Kalimantan Barat. Sampel yang didapat dideterminasi di laboratorium biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan (FMIPA) Universitas Tanjungpura. Sampel yang dipastikan benar kemudian dibuat menjadi simplisia dan dimaserasi menggunakan metanol teknis sebelum di fraksinasi menggunakan n-heksan *p.a.*

2.2 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan tahapan awal untuk mendeteksi secara kualitatif golongan senyawa bioaktif tertentu dari ekstrak metanol serta pada fraksi n-heksan daun kesum dengan menggunakan berbagai pereaksi. Adapun uji skrining fitokimia yang dilakukan meliputi pemeriksaan alkaloid, polifenol, tannin, flavonoid, steroid-triterpenoid dan saponin.

Skrining fitokimia dilakukan terhadap ekstrak metanol daun kesum serta dilakukan juga pada fraksi *n*-heksan ekstrak daun kesum untuk mendapatkan perbandingan senyawa yang terdapat pada ekstrak dan pada fraksi.

2.3 Hewan Uji

Hewan yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar yang didapatkan dari peternakan hewan uji UD.WISTAR Bantul, Yogyakarta. Tikus yang digunakan adalah tikus dengan bobot 100 – 200 gram tanpa memiliki cacat fisik.

2.4 Perlakuan Pada Hewan Uji

Hewan Uji dipisahkan menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor tikus. Kelompok kontrol normal diberikan suspensi CMC 1% selama 10 hari, kelompok perlakuan dosis diberikan suspensi fraksi *n*-heksan dalam CMC 1% dengan dosis 1,308mg/200grBB, 2,616mg/200grBB, dan 5,233mg/200grBB selama 10 hari berurut-turut, kelompok kontrol CDDP diberikan CDDP (*Ebewe*[®]) pada hari kelima secara *intra-peritoneal* sebanyak 5mg/kg BB. Semua kelompok perlakuan dosis pada hari kelima diberikan CDDP secara *intra-peritoneal* dengan dosis 5mg/kgBB. Setelah perlakuan semua hewan diterminasi pada hari ke-10 dimana diambil serum serta organ ginjal dari tikus.

2.5 Pengukuran Ureum dan Kreatinin

Pengukuran ureum dan kreatinin dilakukan di Unit Lab Kesehatan Kalimantan Barat. Pengukuran dilakukan dengan metode fotometrik dengan mencampurkan sampel serum dengan reagen. Reagen ureum dan kreatinin yang digunakan adalah *kit* reagen produksi *Analyticon*[®] dimana,

ureum diukur pada panjang gelombang 340 nm sedangkan kreatinin pada panjang gelombang 510 nm.

2.6 Pembuatan dan Pembacaan Preparat Histopatologi

Preparat histopatologi dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Tanjungpura. Organ ginjal diwarnai dengan pewarnaan hematoksilin – eosin (HE) untuk kemudian diamati dibawah mikroskop untuk dihitung kerusakan tubulus proksimalnya.

Pembacaan derajat kerusakan ginjal dilakukan di Laboratorium Mikroskopik Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura. Pembacaan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x serta dilakukan oleh 2 orang. Sebanyak 100 tubulus proksimal dibaca pada tiap preparat dan kemudian dihitung derajat kerusakan ginjal yang terjadi.

2.7 Analisis Data

Hasil data yang diperoleh dari pengukuran derajat kerusakan ginjal, kadar ureum dan kreatinin dalam serum diolah dengan menggunakan program komputer SPSS 17.0 for windows. Data diuji komparatif menggunakan uji statistik ANOVA menggunakan post-hoc Tukey HSD.

3. Hasil

3.1 Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia terhadap ekstrak metanol dan fraksi *n*-heksan daun kesum ditunjukkan pada tabel 1 berikut.

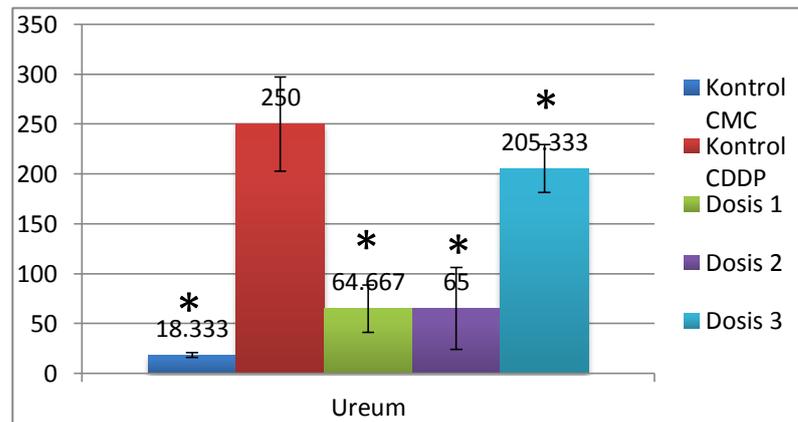
Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol & Fraksi *n*-heksan Kesum

No. Pemeriksaan	Ekstrak Metanol	Fraksi <i>n</i> -heksan
	Hasil	Hasil
1. Alkaloid	(+)	(-)
2. Polifenol	(+)	(+)
3. Tanin	(+)	(-)
4. Flavonoid	(+)	(-)
5. Triterpenoid	(+)	(+)
6. Saponin	(+)	(-)

3.2 Ureum

Melalui hasil pengujian kadar ureum dapat dilihat bahwa tikus yang diinduksi menggunakan CDDP

ekstrak terjadi penurunan kadar ureum walaupun subjek mendapatkan perlakuan menggunakan CDDP. Kelompok perlakuan dosis 3



Gambar 1. Grafik Rata-Rata Pemeriksaan Ureum ± SD; Ket : * pada Grafik menunjukkan terdapat perbedaan nyata dibandingkan dengan kontrol CDDP. Perbedaan nyata ditunjukkan antara kontrol CDDP dengan kontrol CMC dan kontrol dosis 1,2 (nilai signifikansi (sig.)<0,05); namun tidak terdapat perbedaan signifikan antara kontrol CDDP dengan dosis 3 (nilai signifikansi (sig.)>0,05).

mengalami peningkatan kadar ureum yang berbeda nyata bila dibandingkan dengan kontrol CMC. Kontrol CMC merupakan kontrol yang menjadi tolak ukur nilai normal pada pengujian, sedangkan kontrol CDDP merupakan tolak ukur kerusakan yang terjadi oleh CDDP. Secara grafik, rata-rata hasil pemeriksaan ureum dapat dilihat pada gambar 1.

Kontrol CMC tidak menunjukkan adanya perbedaan nyata dengan perlakuan dosis 1 dan 2. Hal ini menandakan bahwa dengan pemberian

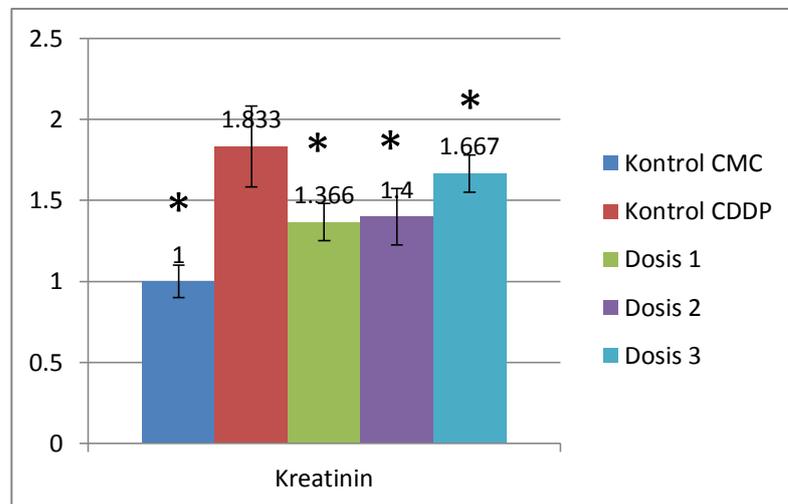
menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kontrol CMC namun tidak berbeda signifikan dengan kontrol CDDP. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis 3 tidak terjadi perbaikan terhadap fungsi ginjal, namun bila dibandingkan, kadar ureum pada dosis 3 tidak setinggi kontrol CDDP. Kadar ureum dosis 3 mungkin menunjukkan terjadinya perbaikan pada fungsi ginjal namun tidak sebaik dosis lainnya. Kelompok perlakuan dosis 1 dan dosis 2 tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Hal ini mungkin saja dikarenakan dosis 1 merupakan dosis

efektif tertinggi, sehingga dengan adanya penambahan dosis hingga 2 kali lipat yaitu pada dosis 2 tidak menunjukkan adanya perubahan.

3.3 Kreatinin

Hasil pengujian menunjukkan bahwa kontrol CDDP mengalami peningkatan kadar kreatinin yang berbeda nyata bila dibandingkan dengan kontrol CMC. Perbedaan yang nyata mengartikan bahwa terdapat perbedaan yang jauh diantara 2 kelompok yang dibandingkan sehingga dapat dikatakan bahwa dengan pemberian CDDP mengakibatkan peningkatan kadar

dibandingkan dengan dosis 2. Semakin mendekati kontrol CMC maka dapat dikatakan kadar kreatinin pada kelompok perlakuan makin mendekati normal. Hal yang berbeda ditunjukkan pada dosis 3, dimana pada kelompok perlakuan dosis 3 hasil menunjukkan bahwa dosis 3 memiliki perbedaan yang signifikan dengan kontrol CMC. Dari hasil post-hoc menunjukkan bahwa, dosis 1 dan 2 memberikan penurunan kadar kreatinin terhadap hewan pasca induksi CDDP, walaupun terjadi penurunan namun penurunan kadar



Gambar 2. Grafik Rata-Rata Pemeriksaan Ureum ± SD; Ket : * pada Grafik menunjukkan terdapat perbedaan nyata dibandingkan dengan kontrol CDDP. Perbedaan nyata ditunjukkan antara kontrol CDDP dengan kontrol CMC dan kontrol dosis 1 (nilai signifikansi (sig.)<0,05); namun tidak terdapat perbedaan nyata antara kontrol CDDP dengan dosis 2, dan 3 (nilai signifikansi (sig.)>0,05).

kreatinin yang nyata serta terdapat perbedaan yang nyata antara kontrol CMC dengan kontrol CDDP dan dosis 3, namun tidak ada perbedaan yang nyata antara kontrol CMC dengan kelompok perlakuan dosis 1 dan dosis 2. Secara grafik, rata-rata hasil pemeriksaan ureum dapat dilihat pada gambar 2

Pada pengujian kadar kreatinin tampak perlakuan dosis 1 dan dosis 2 mendekati kontrol CMC namun dosis 1 memiliki potensi yang lebih besar

kreatinin tidak dapat mencapai kadar kreatinin pada kontrol CMC atau kadar normal kreatinin tikus. Dosis 3 tidak memberikan efek penurunan, bahkan dosis 3 mendekati ke kadar CDDP pada kontrol CDDP yang merupakan parameter terjadinya penurunan kinerja ginjal. Dosis 1 dan dosis 2 memiliki kadar yang hampir sama. Hal ini mungkin disebabkan karena dosis 1 sudah merupakan dosis efektif maksimal, sehingga walaupun dengan ditambahnya kadar fraksi n-heksan,

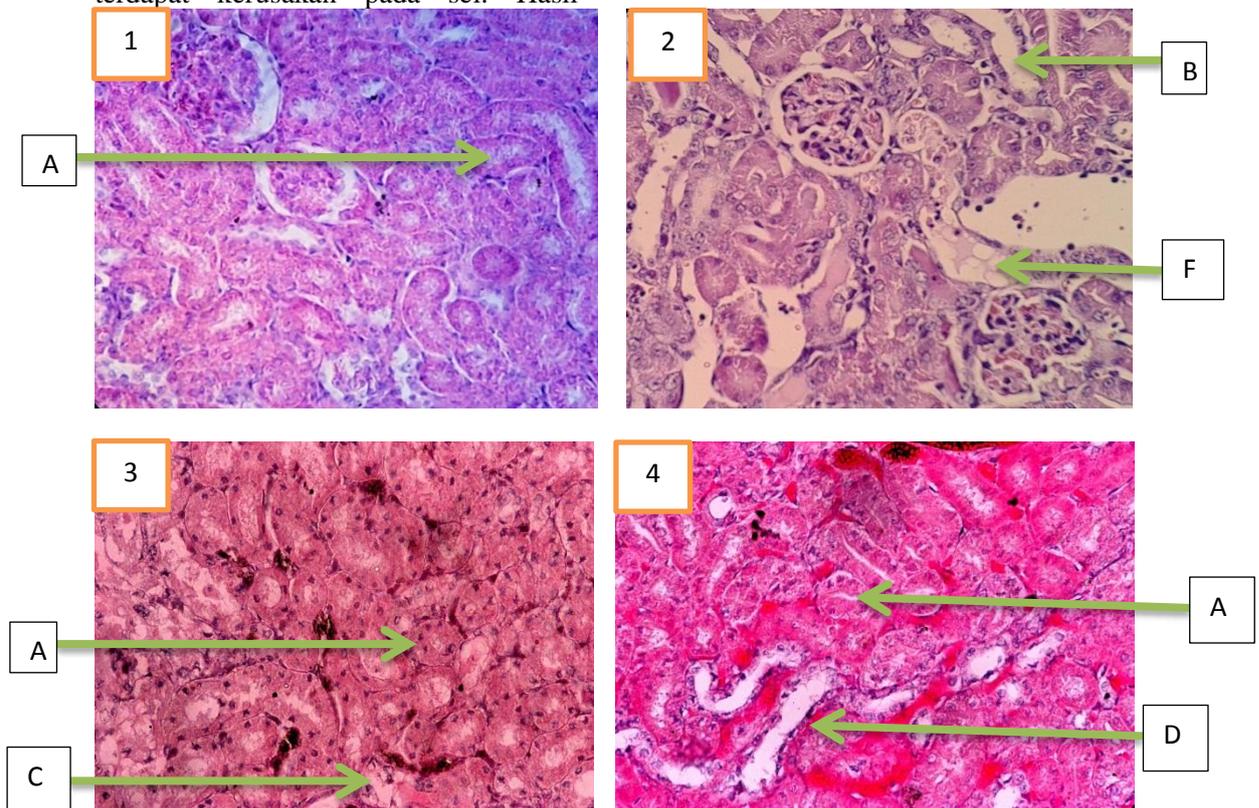
tidak menimbulkan kenaikan efektivitas kerja renoprotektif. Bahkan dengan ditambahnya dosis hingga 4x lipat dosis 1 yaitu pada dosis 3 mengakibatkan arah terapi menjadi ke arah toksik.

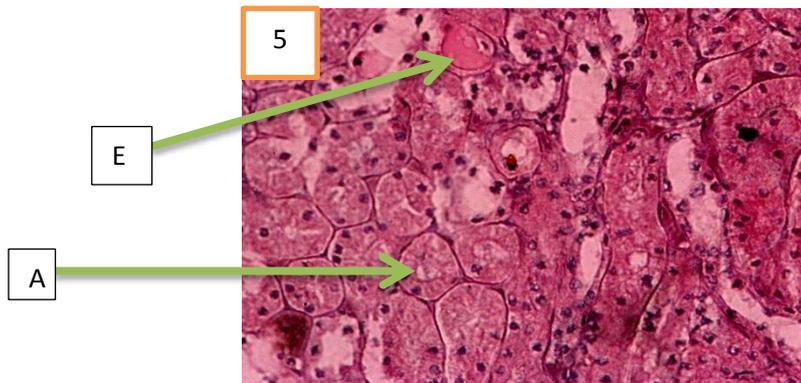
3.4 Histopatologi

Pengamatan kerusakan tubulus meliputi vakuolisasi sel berupa perlemakan pada sitoplasma sel, *cast* berupa adanya penumpukan suatu senyawa dalam lumen tubulus proksimal, dilatasi tubulus berupa tampaknya sel tubulus yang menjadi gepeng dan lumen melebar, hilangnya *brush border* berupa hilangnya sisi lumen dan sel tampak kosong serta nekrosis berupa hilangnya inti sel atau terdapat kerusakan pada sel. Hasil

pengamatan histopatologi ginjal tikus secara umum ditunjukkan pada gambar 3.

Hasil pengujian derajat kerusakan ginjal membuktikan bahwa antara kontrol CMC dengan kontrol CDDP serta dosis 2 dan dosis 3 terdapat perbedaan yang nyata, sedangkan pada dosis 1 tidak terdapat perbedaan yang nyata. Hal ini menunjukkan bahwa keadaan ginjal pada kontrol CMC memiliki jumlah tubulus normal yang lebih banyak dibandingkan dengan kontrol CDDP serta kelompok perlakuan dosis 2 dan 3. Secara grafik, rata-rata hasil pengukuran derajat kerusakan ginjal dapat dilihat pada gambar 4.

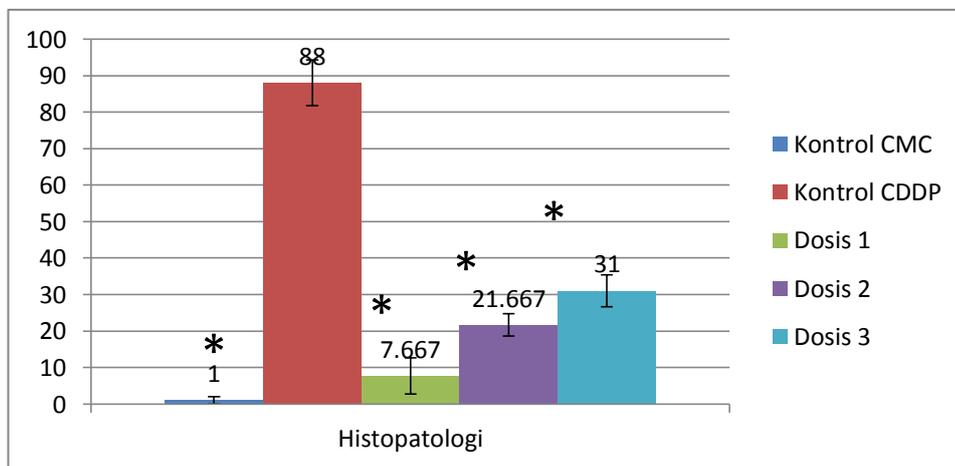




Gambar 3. Gambaran Histopatologi ginjal tikus : (1) kontrol CMC; (2) Kontrol CDDP 5 mg/kgBB intraperitoneal dosis tunggal; (3) CDDP + fraksi *n*-heksan dosis 2; (4) CDDP + fraksi *n*-heksan dosis 2; (5) CDDP + fraksi *n*-heksan dosis 3. Keterangan : Sel normal (A); Nekrosis (B); Hilangnya brush border (C); Dilatasi Tubulus (D); Pembentukan *cast* (E); Vakuolisasi sel (F).

Kontrol CMC memiliki perbedaan yang tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan dosis 1, hal ini menunjukkan bahwa kelompok perlakuan dosis 1 dapat menyebabkan terjadinya perbaikan tubulus ginjal. Dosis 2 dan dosis 3 memiliki aktivitas

yang tidak sebaik dosis 1, hal ini menunjukkan bahwa aktivitas renoprotektif efektif pada dosis 1 yaitu 1,308 mg / 200 g BB dan tidak bersifat dose-dependant yakni dengan peningkatan dosis tidak mengakibatkan peningkatan perbaikan sel yang terjadi.



Gambar 4. Grafik Rata-Rata Pemeriksaan Derajat Kerusakan Ginjal \pm SD; Ket : * pada Grafik menunjukkan terdapat perbedaan nyata dibandingkan dengan kontrol CDDP. Perbedaan nyata ditunjukkan antara kontrol CDDP dengan kontrol CMC dan kontrol dosis 1,2,3 (nilai signifikansi (sig.) $<$ 0,05); namun jika dibandingkan dengan kontrol CMC, tidak terdapat perbedaan nyata antara kontrol CMC dengan dosis 1 (nilai signifikansi (sig.) $>$ 0,05)

4. Pembahasan

Pemeriksaan biokimia darah memiliki korelasi atau hubungan yang jelas dengan derajat kerusakan ginjal. Secara teoritis Guyton^[3] dan Hall (2007) menyatakan, gangguan pada fungsi ginjal dapat diketahui melalui pengukuran beberapa bahan hasil metabolisme, diantaranya kadar ureum (BUN, Blood Urea Nitrogen). Kadar ureum dalam darah bergantung pada katabolisme (pemecahan) protein dalam hati yang diekskresikan ke dalam urin melalui ginjal. Ketika air direabsorpsi dari tubulus, konsentrasi ureum dalam lumen tubulus meningkat sehingga muncul gradien konsentrasi yang menyebabkan reabsorpsi urea. Ureum tidak bisa memasuki tubulus sebanyak volume air yang direabsorpsi, sehingga ureum diabsorpsi secara pasif dari tubulus. Ureum yang masih tertinggal akan masuk ke dalam urin untuk akhirnya diekskresikan. Ureum dengan kadar lam tubuh akan bersifat toksik karena sifatnya dapat mendenaturasi protein^[2]. Analisis biokimia yang dilakukan berupa pemeriksaan kadar kreatinin dan ureum dalam serum. Bila ginjal rusak atau kurang baik fungsinya maka kadar ureum darah dapat meningkat dan meracuni sel-sel tubuh karena terjadi penurunan proses filtrasi glomerulus. Kreatinin merupakan produk sisa yang dikeluarkan oleh ginjal terutama melalui filtrasi glomerulus. Kreatinin serum secara khusus berguna dalam mengevaluasi fungsi glomerulus. Kreatinin serum di nilai lebih sensitif dan merupakan indikator penyakit ginjal yang lebih spesifik. Kreatinin serum ini kemudian meningkat dan tidak di pengaruhi oleh diet atau masukan cairan. Sedangkan peningkatan kadar ureum tidak hanya disebabkan oleh penurunan proses filtrasi glomerulus akibat gangguan fungsi ginjal. Menurut Terdapat beberapa kondisi klinis lain yang mengakibatkan kesalahan perkiraan laju filtrasi glomerulus yang

dilihat dari kadar ureum. Kondisi klinis tersebut adalah volume ekstraseluler dalam tubuh, kadar protein dalam pakan, dan penyakit liver. Keadaan dehidrasi cairan tubuh akan mengakibatkan kadar ureum meningkat.

Radikal bebas merupakan mekanisme nefrotoksik dari CDDP dan antioksidan yang terdapat dalam fraksi *n*-heksan daun kesum dapat mencegah hal tersebut. Radikal bebas dan ROS (*Reactive Oxygen Species*) menginduksi stress oksidatif dalam ginjal. Diantara spesies oksigen reaktif, radikal hidroksil adalah yang paling reaktif dan menyebabkan kerusakan berat pada biomolekul. Radikal hidroksil lebih reaktif dari radikal anion superoksida, oleh karena itu lebih berbahaya. Paparan CDDP menyebabkan sel epitel tubulus kontortus proksimal kehilangan brush border diikuti dengan hilangnya integritas taut erat antarsel dan polaritas sel. Hilangnya polaritas sel menyebabkan redistribusi protein membran Na^+, K^+ -ATPase dan protein lain dari permukaan basolateral ke permukaan luminal sel tubulus sehingga penyaluran natrium ke tubulus meningkat. Selanjutnya terjadi kematian sel secara apoptosis dan nekrosis. Sel mengalami deskuamasi dan debris sel berinteraksi dengan protein seperti fibronectin membentuk cast yang menyebabkan obstruksi lumen tubulus dan peningkatan tekanan tubulus, hal ini mengakibatkan kebocoran balik filtrat sehingga kadar kreatinin dan ureum darah akan meningkat. Hal ini menunjukkan peningkatan kadar ureum dan kreatinin dapat dipastikan akibat nekrosis tubulus akut yang disebabkan oleh CDDP. Namun, jika mendapatkan nutrisi yang cukup dan suplai oksigen, ginjal dapat menginisiasi proses pemulihan^[5].

Hasil pemeriksaan biokimia darah dan pemeriksaan histopatologi menunjukkan bahwa perlakuan dosis 1 fraksi *n*-heksan daun kesum

memberikan dampak signifikan terhadap penurunan kadar ureum, kreatinin dan kerusakan tubulus. Hal tersebut menunjukkan bahwa dosis efektif fraksi *n*-heksan daun kesum adalah sebesar 1,308 mg / 200 g BB dan peningkatan kadar tidak mempengaruhi peningkatan efek yang dihasilkan.

Aktivitas nefrotoksik senyawa CDDP dalam tubuh seringkali dikaitkan dengan stress oksidatif, melalui pembentukan molekul *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan pembentukan *Reactive Nitrogen Species* (RNS). Karena dapat menyebabkan nefrotoksik, maka perlu adanya penambahan senyawa ko-kemoterapi yang dapat mengurangi stress oksidatif yang terjadi. CDDP berikatan silang dengan DNA mitokondria sehingga menyebabkan kerusakan yang menginduksi peningkatan radikal bebas atau ROS (*Reactive Oxygen Species*), aktivasi protein p21 dan protein p53 yang menyebabkan disfungsi mitokondria berakibat terjadinya penurunan jumlah ATP intrasel yang menginduksi apoptosis dan nekrosis sel tubulus. Selain itu, peningkatan ROS memicu pembentukan TNF- α yang memicu respon inflamasi yang juga menyebabkan cedera tubulus dan kematian sel ginjal^[11]. Namun, telah terbukti kombinasi obat-obat herbal yang mengandung polifenol sebagai antioksidan memiliki efek signifikan dalam mencegah toksisitas ginjal akibat CDDP dengan menurunkan radikal bebas dan peroksidasi lipid yang merusak sel ginjal^{[4] [6] [7]}.

Menurut Supriono (2008)^[15] secara umum terdapat dua prinsip mekanisme aktivitas antioksidan, yang pertama adalah mekanisme pemutusan rantai, dimana antioksidan primer menjadi donor elektron pada radikal bebas. Mekanisme kedua adalah sebagai antioksidan sekunder dimana katalisator pembentuk rantai radikal seperti *reactive oxygen and nitrogen species*

(ROS/RNS) diredam. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa secara kualitatif fraksi *n*-heksan mengandung senyawa polifenol dan senyawa triterpenoid yang merupakan senyawa antioksidan yang kuat, serta dapat berperan sebagai agen kemopreventif.

Polifenol merupakan senyawa yang terdiri dari minimal 2 cincin fenol. Polifenol termasuk dalam kelas *primary antioxidants*, yaitu senyawa-senyawa fenol yang mampu memutus rantai reaksi pembentukan radikal bebas asam lemak. Dalam hal ini memberikan atom hidrogen yang berasal dari gugus hidroksi senyawa fenol sehingga terbentuk senyawa yang stabil. Selain itu menurut Sestili, dkk (1998)^[14] senyawa fenolik juga termasuk *Chelators sequestrants*, yaitu senyawa-senyawa yang mampu mengikat logam. CDDP memiliki inti platina yang termasuk logam, sehingga mekanisme yang mungkin terjadi dalam proses renoprotektif oleh fraksi *n*-heksan adalah dengan pemutusan rantai reaksi pembentukan radikal bebas dan reaksi kelat terhadap senyawa platina.

Menurut Scapagnini (2004)^[13], senyawa polifenol non polar seperti etil ferulat merupakan antioksidan yang sangat baik. Asam ferulat dapat menginduksi produksi protein heme oksigenase-1 (HO-1) yang dapat bertindak sebagai antioksidan alami dalam tubuh. Bila diberikan dalam dosis yang cukup tinggi senyawa polifenol non polar juga dapat bertindak sebagai senyawa sitotoksik yang dapat mendukung kerja CDDP. Dalam penelitian Kilic (2013)^[8] menyatakan juga bahwa peningkatan HO-1 dapat menekan terjadinya kerusakan ginjal yang terjadi akibat CDDP.

Heme Oksigenase 1 mendegradasi sel darah merah menjadi biliverdin-IX α , karbon monoksida dan zat besi. Biliverdin-IX α dikonversi menjadi bilirubin-IX α oleh NAD(P)H biliverdin reduktase. Kedua senyawa ini

merupakan senyawa yang memiliki potensi tinggi sebagai antioksidan. Zat besi yang dilepaskan dari reaksi HO dapat memacu sintesis ferritin, sebuah protein yang berikatan dengan senyawa besi yang memiliki sifat sitoprotektif^[12].

Senyawa polifenol khususnya asam ferulat yang terdapat dalam daun kesum dapat menginduksi produksi HO-1 sehingga dapat memacu timbulnya mekanisme antioksidan alami dalam tubuh. Namun hal ini masih memerlukan penelitian lebih lanjut.

Senyawa lain selain polifenol yang terdapat pula dalam fraksi n-heksan daun kesum adalah senyawa triterpenoid. Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprene dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik, yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang rumit, kebanyakan berupa alkohol, aldehyd atau asam karboksilat (Harborne, 1987). Menurut Neto (2007)^[10] beberapa jenis senyawa triterpenoid seperti asam ursolat, memiliki aktivitas antiproliferatif kanker. Aktivitas antiproliferatif ini akan lebih baik bila dikombinasikan dengan senyawa polifenol. Sehingga adanya senyawa triterpenoid dalam fraksi n-heksan dapat membantu kerja CDDP dalam mengatasi proliferasi sel kanker.

Menurut Deeb (2010)^[11], senyawa triterpenoid memiliki aktivitas kemopreventif melalui jalur penghambatan Nuclear Factor kappa B (NF- κ B) yaitu faktor transkripsi yang meregulasi ekspresi gen yang terlibat dalam proses diferensiasi sel, proliferasi, apoptosis, respon oksidatif, inflamasi dan respon imun. NF- κ B telah diteliti sebagai factor transkripsi yang bersifat redox-regulated karena NF- κ B dapat diaktivasi oleh stress oksidatif dan diinhibisi oleh antioksidan. Umumnya dimer NF- κ B (sebagian besar heterodimer dari protein p50 dan protein

p65) terdapat di daerah sitosol dan terikat dengan inhibitor NF- κ B yaitu I κ B. Banyak senyawa yang dapat mengaktivasi NF- κ B melalui fosforilasi I κ B dengan rute kompleks I κ B-kinase. Fosforilasi mengakibatkan I κ B terdegradasi dan dimer NF- κ B mengalami translokasi menuju nukleus, mengikat sekuens tertentu dari DNA dan menyebabkan terjadinya transkripsi. Peningkatan jumlah NF- κ B akan menyebabkan pertumbuhan abnormal dari sel yang menuju kearah kanker.

Aktivitas antioksidan dan penghambatan NF- κ B merupakan mekanisme yang diduga memiliki peranan terhadap efek penurunan nefrotoksisitas akibat CDDP. Dengan adanya aktivitas antioksidan dari tanaman kesum menjadi salah satu mekanisme pencegahan kerusakan sel ginjal setelah paparan senyawa-senyawa nefrotoksik seperti CDDP. Namun, perlu dilakukan pembuktian dengan penelitian lebih lanjut kadar antioksidan alami tubuh pada tikus yang diberi perlakuan daun kesum dan CDDP serta dibandingkan efektifitas mekanisme antioksidan kesum dengan menggunakan kontrol positif *Aminofostin* yang merupakan obat standar pencegahan nefrotoksisitas pada CDDP.

5. Kesimpulan

Kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam fraksi n-heksan ekstrak metanol daun kesum adalah senyawa polifenol dan senyawa triterpenoid. Pemberian fraksi n-heksan menunjukkan terjadi penurunan jumlah kerusakan sel mendekati ke arah kontrol normal dimana dosis optimal yang dapat memberikan efek penurunan kadar ureum dan kreatinin pada serum tikus putih adalah dosis 1 yaitu 1,308 mg / 200 g BB.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih saya sampaikan kepada pembimbing dan penguji yang telah membantu dalam proses penelitian

ini serta kepada rekan-rekan tim yang terlibat dalam penelitian ini.

Daftar Pustaka

- [1] Deeb, D., Gao X., S.A., Ali., Barton, K., Scott.A., Dulchan., Gautam S.C., 2010, CDDO-Me : A Novel Synthetic Triterpenoid for treatment of Pancreatic Cancer, *Cancers Journal* : 1779-1793
- [2] Doxey, D.L. 1983. Clinical Pathology and diagnostic procedures. London : Bailliere Tindal.
- [3] Guyton, A., dan Hall, JE. 2008. Text Book Of Medical Physiology. 11st ed. New York: Elsevier.
- [4] Javaid, R., Aslam, M., Nizami, Q., Javaid, R. 2012. Role of Antioxidant Herbal Drugs in Renal Disorders: An Overview. *Journal Free Radicals and Antioxidant*. Vol 2(1): 02-05.
- [5] Jorres, A., Ronco, C., Kellum, J. A., 2010. Management of Acute Kidney Problems. XXXVI, 678 P, *101 illus, 46 in color, Hardcover*. ISBN: 978-3-540-69413-7.
- [6] Joy, J., Krishnan, C., and Nair, K. 2008. Amelioration of Cisplatin Induced Nephrotoxicity in Swiss Albino Mice by *Rubia cordifolia* Extract. *J cancer Res Ther*. Vol 4(3): 111-115.
- [7] Karimi, G., Khoei, A., Omid, A., Kalantari, M., Babaei, J., Taghiabadi, E., and Rajavi, B.M. 2009. Protective Effect of Aqueous and Ethanolic Extracts of *Portulaca Oleracea* Against Cisplatin Induced Nephrotoxicity. *Irian Journal of Basic Medical Sciences*. Vol 13(2):31-35.
- [8] Kilic, U., Kilic, E., Tuzcu, Z., Tuzcu, M., Ozercan, I.H., Yilmaz, O., Sahin, F., Sahin, F., 2013. Melatonin suppresses cisplatin induced nephrotoxicity via activation of Nrf-2/HO-1 pathway. *Nutrition and metabolism*. 10:7
- [9] Maizura, M., Aminah, A., Aida, W. W. M. 2011. Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Kesum (*Polygonum minus*), Ginger (*Zingiber officinale*), and Tumeric (*Curcuma Longa*) Extract. *International Food Research Journal*. Volume 18: 526-531
- [10] Neto, C., C., 2007, Ursolic Acid and Other Pentacyclic Triterpenoids : Anticancer Activities and Occurrence in Berries, Chapter 2, *Berries and Cancer Prevention*, Departemen of Chemistry and Biochemistry, University of Massachusetts.
- [11] Ronald, P. M., Raghu, K. T., Ganesan, R., William, B. R., 2010. Mechanisms of Cisplatin Nephrotoxicity. *Toxins*. Vol 2: 2490-2518
- [12] Ryter, S.W., Otterbein, L.E., Morse, D., Choi, M.K.A., 2002, Heme oxygenase/carbon monoxide signaling pathways : Regulation and Functional Significance. *Molecular and Cellular Biochemistry* 234/235.
- [13] Scapagnini, G., Allan D.B., Colombrita C., Sultana, R., Pascale, A., Calabrese, V., 2004, Ethyl Ferulate, a Lipophilic polyphenol, Induces HO-1 and Protect Rats Neurons Against Oxidative Stress, *Antioxidants and redox signaling*. 6, 811-818
- [14] Sestili, P., Guidarelli, A., Dacha, M., Cantoni, O., 1998, Quercetin prevents DNA single strand breakage and cytotoxicity caused by tert-butylhydroperoxide: Free radical scavenging versus iron chelating mechanism. *Free Radical Biology and Medicine*, 25, 196–200.
- [15] Supriono, T. 2008. Kandungan Beta Karoten, Polifenol Total dan Aktivitas "Merantas" Radikal Bebas Kefir Susu Kacang Hijau (*Vigna Radiata*) Oleh Pengaruh Jumlah Starter (*Lactobacillus Bulgaricus* dan *Candida Kefir*) dan Konsentrasi Glukosa. *Tesis*. Program Pascasarjana Universitas Diponegoro, Hal 57-60.