

UJI TOKSISITAS SUBKRONIS EKSTRAK ETANOL DAUN TUMBUHAN SALA (*Cynometra ramiflora* Linn.) DENGAN PARAMETER KIMIA URIN DAN HISTOPATOLOGI ORGAN GINJAL PADA TIKUS GALUR WISTAR

Haryoto, Andi Suhendi, Eka Prasnaparamita W, Tanti Azizah Sujono, Muhtadi

Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah
Surakarta

Jl. A. Yani Tromol Pos 1, Pabelan Kartasura Surakarta 57102

Email: har254@ums.ac.id

ABSTRAK

Tumbuhan Sala (Cynometra ramiflorra Linn.) merupakan salah satu tumbuhan mangrove, yang memiliki beberapa manfaat antara lain antioksidan, antihiperglikemia, dan antiinflamasi. Uji toksisitas subkronis digunakan untuk mengetahui toksisitas suatu senyawa yang dilakukan selama 90 hari. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan ekstrak etanol daun Sala terhadap parameter kimia urin dan histopatologi ginjal. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan Post Test Controlled Group Design, yaitu melihat perubahan yang terjadi pada tikus setelah diberi perlakuan. Sampel penelitian terdiri dari 20 ekor tikus putih jantan yang dibagi 4 kelompok dosis perlakuan. Kelompok pertama merupakan kelompok kontrol yang diberi CMC-Na (Sodium Carboxy Methyl Cellulose), kelompok kedua, ketiga, dan keempat diberi ekstrak etanol daun Sala dengan dosis 500, 1000, dan 1500 mg/kgBB. Parameter yang diamati yaitu kimia urin dan histopatologi ginjal. Parameter kimia urin dievaluasi menggunakan urin tampungan pagi hari pada hari ke-0, 45, dan 90 menggunakan reagen strip. Hasil parameter kimia urin tikus untuk kelompok kontrol dan perlakuan selama 90 hari memberikan pengaruh pada parameter protein, glukosa, keton, bilirubin, urobilinogen terhadap fungsi ginjal, namun tidak mempengaruhi pH dan nitrit. Hasil histopatologi menunjukkan terjadinya peradangan pada ginjal tikus yang diberi ekstrak etanol daun Sala dengan dosis 1000 dan 1500 mg/kgBB.

Kata kunci: *Cynometra ramiflora* Linn., toksisitas subkronis, kimia urin

ABSTRACT

Sala plant (Cynometra ramiflora Linn.) is one of mangroves plants, which has several medical benefits such as antioxidants, antihyperglycemic and antiinflammatory. Subchronic toxicity test is used to determine the toxicity of a compound for 90 days. The purpose of this research is to evaluate the effect of the ethanol extract of Sala leaves towards chemical parameters of urine and renal histopathology. This study was an experimental research with Post Test Controlled Design Group, that aimed to evaluate the changes of rat after being treated with ethanol extract of Sala leave. The sample of this study consisted of 20 male rats were divided into 4 groups. The first group was a control group which was given CMC-Na (Sodium Carboxy Methyl Cellulose), second, third, and fourth groups were given ethanol extract of Sala leaves with dose of 500, 1000, and 1500 mg/ kgBW. Chemical parameters of urine and kidney histopathology of control and treatment groups were observed. Urine chemical parameters were evaluated on morning urine on 0, 45th, and 90th day using strips reagent. The result of this research showed that rats urine chemical parameters control of group and all dose of treatment for 90 days influenced on parameters of protein, glucose, ketones, bilirubin and urobilinogen level, but did not affect the pH and nitrite levels. Histopathological evaluation showed that there was an inflammation on the rat kidney which were given ethanol extract of Sala leaves with 1000 and 1500 mg/ kgBW.

Keywords : *Cynometra ramiflora* Linn., subchonic toxicity, chemical urin

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki tanaman obat yang beragam. Jenis tanaman yang termasuk tanaman obat mencapai lebih dari 1000 jenis, salah satunya yaitu tumbuhan Sala (Sastroamidjojo, 1997). Sala (*Cynometra ramiflora* Linn.) merupakan salah satu tumbuhan laut (mangrove) (Tiwarei *et al.*, 2008). Sala memiliki beberapa manfaat antara lain dapat menginduksi reduksi dari kuinon, menghambat peroksidasi dari lemak, antioksi dan (Bunyapraphastara *et al.*, 2003), antihiperqlikemia (Tiwarei *et al.*, 2008; Saravanamuttu & saponin, tannin, gum, gula pereduksi, dan flavonoid (Khan *et al.*, 2006 ; Siraj *et al.*, Sudarsanam, 2012), dan antiinflamasi (Siraj *et al.*, 2013). Kandungan kimia Sala adalah 2013).

Flavonoid, saponin, dan tannin dari Sala diduga memiliki aktivitas hipoglikemik. Saponin bekerja dengan cara menstimulasi pelepasan insulin (Bhushan *et al.*, 2009). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan secara *in vivo* ekstrak etanol daun Sala 250 mg/kgBB memiliki potensi kuat menurunkan kadar gula darah yang signifikan pada tikus jantan albino galur wistar. Metode yang digunakan pada percobaan tersebut adalah pembebanan glukosa dengan gum acasia 0,1% sebagai kontrol (Tiwarei *et al.*, 2008). Penelitian lain yang dilakukan oleh Humairah (2014), menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun Sala dengan dosis 250, 500, 1000 mg/kgBB selama tujuh dan sepuluh hari menunjukkan aktivitas penurunan kadar glukosa yang bermakna ($p < 0,05$) pada tikus yang diinduksi aloksan.

Uji toksisitas merupakan salah satu uji yang digunakan untuk mengetahui keamanan suatu obat yang akan dijadikan produk obat. Uji toksisitas subkronik adalah uji yang digunakan untuk mengetahui toksisitas suatu senyawa yang dilakukan pada

umumnya dalam jangka waktu 90 hari (Murtini *et al.*, 2007). Uji toksisitas subkronis perlu dilakukan pada daun Sala, untuk mengetahui apakah senyawa yang terkandung di dalam daun memberikan

pengaruh toksik atau tidak terhadap parameter kimia urin dan histopatologi organ.

Ginjal berperan dalam mengatur keseimbangan tubuh, mempertahankan cairan tubuh, dan mengatur pembuangan sisa metabolisme serta zat-zat yang bersifat toksik seperti urea, asam urat, amonia, kreatinin, garam anorganik, dan senyawa obat-obatan yang tidak diperlukan oleh tubuh (Campbel *et al.*, 2003). Pemeriksaan kimia urin merupakan pemeriksaan urin dengan menggunakan reagen kimia. Urin merupakan hasil metabolisme tubuh yang dikeluarkan melalui ginjal. Pemeriksaan urin meliputi dua jenis, yaitu pemeriksaan urin rutin dan lengkap. Pemeriksaan urin rutin merupakan pemeriksaan makroskopik dan kimia urin yang meliputi pemeriksaan protein dan glukosa. Pemeriksaan urin lengkap merupakan pemeriksaan urin rutin yang dilengkapi dengan pemeriksaan benda keton, urobilin, urobilinogen, dan nitrit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan ekstrak etanol daun Sala dalam jangka waktu 90 hari terhadap fungsi ginjal yang dapat diketahui melalui parameter kimia urin dan pemeriksaan histopatologi ginjal.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental *Post Test Controlled Group Design*, yaitu melihat adanya perubahan pada tikus setelah pemberian perlakuan. Parameter kimia urin dievaluasi dengan menggunakan reagen strip. Pengujian tersebut untuk mengetahui spektrum efek toksik dari ekstrak etanol daun Sala berdasarkan parameter kimia urin dan histopatologi ginjal yang melibatkan perlakuan dan kontrol. Variabel yang termasuk dalam penelitian adalah :

- a) Variabel bebas dalam penelitian ini seri dosis ekstrak etanol daun tumbuhan Sala.
- b) Variabel tergantung dalam penelitian ini data kimia urin pada tikus dan histopatologi ginjal pada tikus.
- c) Variabel terkontrol dalam penelitian ini :
 1. Variabel subjek penelitian

Subjek penelitian berupa tikus putih jantan dari galur yang sama dan umurnya 2-3 bulan dengan berat badan 200-300 g yang telah diaklimatisasi selama 1 minggu.

2. Variabel perawatan

Jenis kualitas dan kuantitas makanan, minuman, temperature ruang, dan kelembaban setiap hewan diusahakan sama.

A. Alat: Alat-alat gelas (*Pyrex*), kandang tikus, tempat minum tikus, timbangan tikus, jarum suntik, seperangkat alat bedah, reagen strip, dan *metabolit cage*.

B. Bahan: Daun Sala, etanol 96%, hewan uji (tikus putih jantan galur wistar dengan berat badan 200-300 g), aquadest, dan CMC-Na (*Carboxy Methyl Cellulose*).

C. Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi, Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Biologi Universitas Muhammadiyah Surakarta dan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

C. Jalannya Penelitian

1. Penyiapan Bahan

Daun tumbuhan Sala diperoleh dari Keraton Kasunanan Surakarta, Jawa Tengah. Sortasi basah dilakukan terhadap daun yang diperoleh kemudian dikeringkan dengan cara dioven pada suhu 40°C selama 24 jam, lalu dihaluskan dengan blender dan diayak sampai diperoleh serbuk kering.

2. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Tumbuhan Sala

Ekstraksi etanol 96% daun tumbuhan Sala dibuat dengan metode maserasi. Maserasi dilakukan dengan merendam 2 kg

serbuk kering daun tumbuhan Sala dalam etanol 96% dimaserasi selama 24 jam. Maserat dipisahkan dengan cara disaring dan proses maserasi diulang 2 kali dengan jumlah dan pelarut yang sama. Setelah maserasi hasilnya dimasukkan kedalam cawan porselin lalu diletakkan di atas waterbath untuk diuapkan agar didapatkan ekstrak yang lebih kental.

3. Uji Perlakuan

Percobaan dilakukan menggunakan 20 tikus putih jantan dengan galur wistar. Hewan coba diaklimatisasi dalam laboratorium hewan selama 1 minggu sebelum percobaan dengan kondisi laboratorium yang bersih. Tikus diberi makanan dan minuman seperti saat perlakuan selama masa aklimatisasi. Selama penelitian, dilakukan penimbangan dan pengukuran untuk asupan makanan dan minuman yang diberikan. Selain asupan makan dan minum dilihat juga perkembangan kenaikan berat badan yang terjadi selama perlakuan dengan cara melakukan penimbangan setiap minggu. Hal ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana pengaruh ekstrak etanol daun Sala terhadap kenaikan berat badan tikus. Pembagian kelompok hewan coba terdiri dari satu kelompok kontrol (CMC- Na) dan tiga kelompok yang diberi perlakuan dengan tingkat dosis berbeda. Perlakuan dilakukan setiap hari selama 90 hari. Berdasarkan penetapan dosis ekstrak etanol daun Sala yang dilakukan oleh Humairah (2014). Satu kelompok terdiri dari lima tikus.

- 1) Kelompok 1: sebagai kontrol negatif diberi 2,5 mL/200 kgBB larutan CMC 0,5% secara peroral (Irawati, 2014).
- 2) Kelompok II: diberi ekstrak etanol daun tumbuhan Sala dengan dosis 500 mg/kgBB secara peroral.
- 3) Kelompok III : diberi ekstrak etanol daun tumbuhan Sala dengan dosis 1000 mg/kgBB secara peroral.
- 4) Kelompok IV : diberi ekstrak etanol daun tumbuhan Sala dengan dosis 1500 mg/kgBB secara peroral.

4. Pemeriksaan Kimia Urin

Untuk pemeriksaan kimia urin, urin ditampung pada hari ke 0, 45, dan 90 setiap pagi hari.

5. Histopatologi Organ Ginjal

Histopatologi ginjal bertujuan untuk melihat efek toksik ekstrak etanol daun Sala terhadap ginjal selama penelitian. Tikus dimasukkan ke dalam wadah kedap udara yang telah diberi eter sampai mati pada hari ke-90. Setiap kelompok diambil tiga tikus untuk diambil tiga ginjal bagian kanan kemudian difiksasi dalam buffer formalin 10 % untuk dilakukan uji histopatologi. Pemeriksaan histopatologi dilakukan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Penetapan Kimia Urin

Urin merupakan hasil metabolisme tubuh yang dikeluarkan melalui ginjal. Pemeriksaan urin sebagai salah satu cara untuk menetapkan diagnosis berbagai penyakit. Metode pemeriksaan urin dilakukan dengan reagen strip untuk mengetahui dan mengukur (kualitatif) beberapa golongan senyawa dalam urin. Pengumpulan sampel urin perlu diperhatikan untuk kebersihan wadah penampung dan waktu pengambilan, karena akan mempengaruhi hasil. Urin yang digunakan merupakan urin yang dikumpulkan selama 24 jam, karena mempunyai susunan yang hampir sama dari susunan urin 24 jam berikutnya. Sampel urin yang diambil pada waktu tertentu dapat memberikan susunan urin yang berbeda. Analisis urin menggunakan reagen strip yang meliputi:

a. pH

Hasil pemeriksaan pH urin pada kelompok kontrol dan perlakuan hari

ke-0, 45, dan 90 menunjukkan hasil yang tidak normal. pH urin normal pada tikus 5-7 (Quesenberry & Carpenter, 2012). pH urin tergantung pada kebiasaan makanan juga tergantung pada keseimbangan metabolik setiap individu, penyakit serta obat-obatan. Hasil tidak normal disebabkan kondisi tikus yang mengalami kelaparan dan ketosis sehingga meningkatkan kebasaaan urin. Urin yang bersifat basa terjadi pada kondisi tertentu seperti alkalosis dan adanya bakteri dalam urin yang menghasilkan amonia (Hukins, 2005).

b. Protein

Hasil pengukuran protein pada kelompok kontrol hari ke-0 terdapat 4 tikus yang nilainya normal, pada hari ke-45 terdapat 5 tikus yang nilainya normal, dan hari ke-90 terdapat 5 tikus yang nilainya normal. Pada kelompok perlakuan hari ke-0 terdapat 11 tikus yang nilainya tidak normal, sedangkan 4 tikus nilainya normal, pada hari ke-45 terdapat 6 tikus yang nilainya tidak normal dan 9 tikus nilainya normal, pada hari ke-90 menunjukkan hasil yang normal. Protein pada urin tikus secara normal < 30 mg/dL (300 g/L) (Harkness *et al*, 2010). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun Sala mempengaruhi nilai protein. Proteinuria merupakan kondisi ditemukannya protein di dalam urin. Proteinuria menjadi penanda adanya luka pada membran glomerulus sehingga lolosnya molekul protein ke dalam urin. Jumlah proteinuria dalam 24 jam digunakan sebagai indikator untuk menilai fungsi ginjal (Kee, 2007).

c. Glukosa

Hasil pemeriksaan glukosa tikus pada kelompok kontrol pada hari ke-0, 45 dan 90 menunjukkan hasil tidak normal, sedangkan pada kelompok perlakuan pada hari ke-0, 45 dan 90 menunjukkan hasil normal (negatif).

Glukosa secara normal tidak terdapat pada urin tikus (negatif) (Quesenberry & Carpenter, 2012). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun Sala mempengaruhi nilai glukosa dengan cara menurunkan nilai glukosa. Pemeriksaan glukosa umumnya dilakukan untuk menduga adanya penyakit diabetes. Pemeriksaan dapat dilakukan secara kimiawi atau enzimatis (Kee, 2007). Peningkatan kadar gula dalam darah kemungkinan bisa disebabkan adanya faktor yang menghambat kerja insulin (Sacher & Mc Pherson, 2004).

d. Keton

Hasil pemeriksaan keton pada tikus untuk kelompok kontrol hari ke-0 dan 45 menunjukkan tidak normal, sedangkan pada hari ke-90 terdapat 3 tikus tidak normal dan 2 tikus normal. Pada kelompok perlakuan hari ke-0 dan 45 menunjukkan normal, sedangkan pada hari ke-90 terdapat 7 tikus tidak normal dan 8 tikus normal. Keton secara normal tidak ditemukan pada urin tikus (negatif) (Quesenberry & Carpenter, 2012). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun Sala mempengaruhi nilai keton dengan cara menurunkan nilai keton terutama pada pemberian perlakuan dengan dosis 1500 mg/ kgBB. Hasil positif palsu bisa didapatkan jika urin mengandung bromsulphthalein, metabolit levodopa, dan pengawet 8-hidroksi-quinoline yang berlebihan.

Metode yang paling lazim digunakan untuk mendeteksi senyawa keton dalam urin berdasar pada reaksi antara natrium nitroprusida dan asetoasetat dalam suasana basa, hasilnya senyawa akan berwarna merah muda keunguan (*American Association of Diabetes Educators*, 2007).

e. Bilirubin

Hasil pemeriksaan bilirubin pada tikus untuk kelompok kontrol pada hari ke-0 dan 45 menunjukkan tidak normal, sedangkan pada hari ke-90 menunjukkan normal. Pada kelompok perlakuan hari ke-0 dan 45 menunjukkan nilai tidak normal, sedangkan pada hari ke-90 menunjukkan normal. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun Sala mempengaruhi nilai bilirubin dengan cara menurunkan nilai bilirubin. Bilirubin secara normal tidak terdapat pada urin tikus (negatif) (Quesenberry & Carpenter, 2012). Terbentuknya bilirubin akibat adanya penguraian hemoglobin ditranspor menuju hati dan diekskresikan dalam bentuk empedu. Bilirubin ada dua, yaitu bilirubin terkonjugasi (*direct*) dan tidak terkonjugasi (*indirect*). Bilirubin yang ditranspor ke hati berupa bilirubin tidak terkonjugasi yang melekat pada albumin. Setelah berada di dalam hati ikatan bilirubin tidak terkonjugasi dilepas, kemudian berikatan dengan asam glukoronat dan membentuk bilirubin terkonjugasi. Bilirubin terkonjugasi larut dalam air sehingga bilirubin dapat muncul pada urin (Helms *et al.*, 2006). Timbulnya bilirubin dalam urin mengindikasikan adanya gangguan hepar. Urin yang mengandung bilirubin yang tinggi tampak berwarna kuning pekat dan jika digoncang-goncangkan akan timbul busa (Mohammed *et al.*, 2012).

f. Urobilinogen

Hasil pemeriksaan urobilinogen pada tikus untuk kelompok kontrol pada hari ke-0, 45, dan 90 menunjukkan tidak normal. Pada kelompok perlakuan hari ke-0 dan 45 menunjukkan tidak normal, sedangkan pada hari ke-90 terdapat

13 tikus tidak normal dan 7 tikus normal. Nilai normal urobilinogen urin <4 mg/ 24 jam (Wallach, 2006). Hal ini berarti pemberian ekstrak etanol daun Sala mempengaruhi nilai urobilinogen dengan cara menurunkan nilai urobilinogen. Urobilinogen dihasilkan dari bilirubin yang mengalami konjugasi di area duodenum dengan bantuan bakteri usus. Sebagian besar urobilinogen dikembalikan ke hati melewati aliran darah untuk selanjutnya diproses menjadi empedu dan 1% akan diekskresikan lewat ginjal berbentuk urin. Keadaan patologis yang terkait saat urobilinogen meningkat adalah destruksi hemoglobin berlebihan (Wahyono *et al.*, 2007).

g. Nitrit

Hasil pemeriksaan nitrit pada tikus untuk kelompok kontrol dan perlakuan pada hari ke-0, 45, dan 90 menunjukkan negatif. Nitrit secara normal tidak ditemukan pada urin tikus (negatif). Nitrit merupakan hasil metabolisme dari siklus nitrogen. Bentuk pertengahan dari nitrifikasi dan denitrifikasi. Di alam nitrat sudah diubah menjadi bentuk nitrit atau bentuk lainnya. Pada kondisi yang normal, baik nitrat maupun nitrit adalah komponen yang stabil, tetapi pada suhu tinggi tidak stabil (Parrot, 2002).

Tabel 1. Hasil penetapan kimia urin pada hari ke-0

Uji	K	D1	D2	D3
pH	8 (n=2) 6 (n=1) 9 (n=2)	9 (n=5)	8 (n=1) 9 (n=4)	9 (n=5)
Protein	10(0,1) (n=1) 100(1) (n=3) 1000(10) (n=1)	100(1) (n=2) 300(3) (n=1) 1000(10) (n=2)	1000(10) (n=5)	300(3) (n=1) 1000(10) (n=4)
Glukosa	100(5,5) (n=4) 250(14) (n=1)	negatif (n=3) 100(5,5) (2)	negatif (n=5)	negatif (n=4) 100(5,5) (n=1)
Keton	5(0,5) (n=3) 10(1) (n=2)	5(0,5) (n=5)	5(0,5) (n=4) 10(1) (n=1)	5(0,5) (n=2) 10(1) (n=3)
Bilirubin	0,5(9) (n=5)	0,5(9) (n=5)	0,5(9) (n=5)	0,5(9) (n=2) 10(17) (n=3)
Urobilinogen	1(17) (n=5)	1(17) (n=4) 4(70) (n=1)	1(17) (n=5)	1(17) (n=5)
Nitrit	negatif	negatif	negatif	negatif
Keterangan: K : Kontrol 2,5 mL/200 kgBB D1 : Dosis 1 500 mg/kgBB D2 : Dosis 2 1000 mg/kgBB D3 : Dosis 3 1500 mg/kgBB				
Keterangan: K : Kontrol 2,5 mL/200 kgBB D1 : Dosis 1 500 mg/kgBB D2 : Dosis 2 1000 mg/kgBB D3 : Dosis 3 1500 mg/kgBB				

Hasil parameter kimia urin yang dianalisis terdapat perbedaan antar pemeriksaan hari ke-0, 45 dan 90. Pemberian ekstrak etanol daun Sala selama 90 hari berpengaruh terhadap fungsi ginjal yang bisa dilihat dari parameter kimia urin. Parameter lain yang diamati dalam uji toksisitas subkronis yaitu pengaruh pemberian ekstrak etanol daun Sala terhadap perkembangan berat badan dari tikus, meliputi asupan makanan dan minuman. Selama proses uji berlangsung asupan makanan dan minuman perlu

diperhatikan. Perkembangan berat badan pada tikus selama 90 hari yang dipengaruhi oleh asupan makanan dan minuman dianalisis dengan menggunakan *software SPSS 17* dengan metode *One Way Anova*. Hasil analisis tersebut menunjukkan hasil yang signifikan dengan nilai akhir $p \leq 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan pada kelompok yang diberi perlakuan dan tidak diberi perlakuan. Perbedaan berat badan pada tikus dapat mempengaruhi hasil yang didapatkan.

Tabel 3. Hasil penetapan kimia urin pada hari ke-90

Uji	K	D1	D2	D3
pH	8 (n=3) 9 (n=2)	8 (n=5)	8 (n=1) 9 (n=4)	9 (n=5)
Protein	10(0,1) (n=2) 100(1) (n=3) 100(5,5) (n=2)	100(1) (n=3) 10(0,1)(n=2)	negatif (n=5)	negatif (n=5)
Glukosa	negatif (n=3)	negatif (n=5)	negatif (n=5)	negatif (n=5)
Keton	10(1) (n=1) 5(0,5) (n=2) negatif (n=2)	5(0,5) (n=1) negatif (n=4)	5(0,5) (n=2) negatif (n=3)	5(0,5) (n=4) negatif (n=1)
Bilirubin	negatif	negatif	negatif	negatif
Urobilinogen	0,1(1,7) (n=2) 1(17) (n=2) negatif (n=1)	1(17) (n=3) negatif (n=2)	0,1(1,7) (n=1) negatif (n=4)	1(17) (n=4) 0,1(1,7) (n=1)
Nitrit	negatif	negatif	negatif	negatif

Keterangan: K : Kontrol 2,5 mL/200 kgBB D1
: Dosis 1 500 mg/kgBB

D2 : Dosis 2 1000 mg/kgBB
D3 : Dosis 3 1500 mg/kgBB

2. Hasil Histopatologi Ginjal

Pada akhir pengujian hewan uji dikorbankan dan diperiksa histopatologi ginjal, pemeriksaan ini akan menghasilkan informasi toksisitas senyawa uji dalam kaitannya dengan efek pada organ sasaran. Toksikologi tidak mempengaruhi semua organ secara merata karena

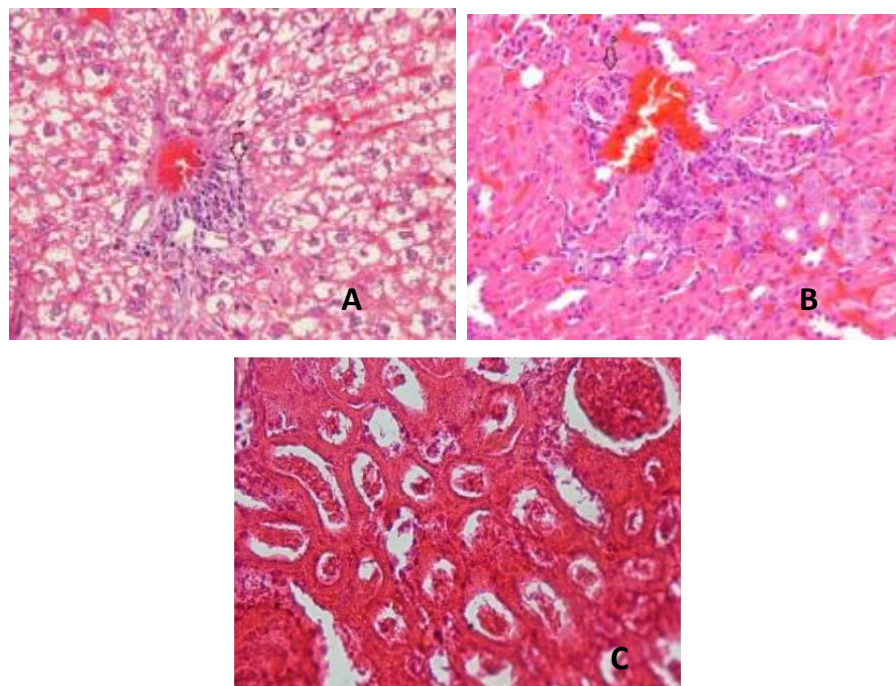
dipengaruhi oleh kepekaan suatu organ, juga tingginya kadar senyawa atau metabolitnya di organ sasaran. Hasil ini selain bergantung pada dosis yang diberikan juga pada derajat absorpsi, distribusi, pengikatan, dan ekskresi (Schnellmann, 2008).

Tabel 2. Hasil penetapan kimia urin pada hari ke-45

Uji	D1	D2	D3
pH	8 (n=4) 9 (n=1)	8 (n=2) 9 (n=3)	9 (n=5)
Protein	10(0,1) (n=1) 300(0,3) (n=1) 100(1) (n=3)	100(1) (n=4) 300(3) (n=1)	100(1) (n=3) 300(3) (n=1) 1000(10) (n=1)
Glukosa	100(5,5) (n=5)	negatif (n=4) 100(5,5) (1)	negatif (n=5)
Keton	5(0,5) (n=4) 10(1) (n=1)	10(1) (n=3) 5(0,5) (n=2)	5(0,5) (n=3) negatif (n=2) 10(1) (n=2)
Bilirubin	0,5(9) (n=4) 1,0(17) (n=1)	0,5(9) (n=4) 1,0(17) (n=1)	0,5(9) (n=4) negatif 1 1,0(17) (n=1)
Urobilinogen	0,1(1,7) (n=1) 1(17) (n=3) 4(70) (n=1)	0,1(1,7) (n=1) 1(17) (n=3) 4(70) (n=1)	0,1(1,7) (n=2) 1(17) (n=3) 1(17) (n=4) negatif (n=1)
Nitrit	negatif	negatif	negatif

Senyawa uji yang diberikan secara oral diabsorpsi di saluran cerna. Setelah senyawa tersebut diserap dan memasuki darah maka akan didistribusikan dengan cepat ke seluruh tubuh. Kadar dalam organ tergantung mudah atau tidaknya senyawa melewati dinding kapiler dan membran sel, serta afinitas komponen organ terhadap senyawa tersebut. memiliki kapasitas yang lebih tinggi untuk mengikat senyawa asing (Murtini, 2007). Ginjal Pada pemeriksaan histopatologi untuk mengetahui hubungan

antara gejala yang terjadi dengan struktur organ yang mengalami paparan senyawa uji. Pada percobaan ini organ yang diperiksa secara histopatologi yaitu ginjal. Ginjal merupakan organ sasaran utama dari efek toksik selain hati. Urin digunakan untuk pemeriksaan fungsi ginjal dan fungsi hati. Perubahan histopatologi ginjal yang diamati adalah terjadinya peradangan. Pemeriksaan histopatologi ginjal dapat mengungkapkan tempat, luas dan sifat morfologik lesi ginjal (Guyton & Hall, 2008).



Gambar 1. Histopatologi organ ginjal. (A) Dosis 1500 mg/kgBB ; (B) Dosis 1000 mg/kgBB ; (C) Kontrol

Keterangan: P : peradangan, perbesaran gambar 400x

Tabel 4. Hasil pemeriksaan

histopatologi Kelompok		Hasil
Pemeriksaan		
TTP D1	TTP D2	TP D3 TP
Keterangan: TTP: Tidak terjadi peradangan		TP : Terjadi peradangan
K : Kontrol 2,5 mL/200 kgBB		D2 : Dosis 2 1000
mg/kgBB D1 : Dosis 1 500 mg/kgBB		D3 : Dosis
		3 1500 mg/kgBB

Peradangan merupakan respon protektif setempat yang ditimbulkan oleh cedera atau kerusakan yang berfungsi menghancurkan, mengurangi atau mengurung agen pencedera maupun jaringan yang cedera (Guyton & Hall,

2008). Hasil pemeriksaan histopatologi antara kelompok kontrol dan diberi perlakuan menunjukkan adanya perbedaan. Pada kelompok kontrol dengan dosis 2,5 mL/ 200 kgBB menunjukkan tidak terjadi peradangan terhadap ginjal (gambar c).

Pemberian perlakuan dengan dosis 500 mg/kgBB menunjukkan tidak adanya peradangan pada ginjal. Gambar a dan b menunjukkan ginjal mengalami peradangan. Peradangan tersebut diakibatkan pemberian ekstrak etanol daun Sala dengan dosis 1000 mg/kgBB (gambar b) dan 1500 mg/kgBB (gambar a). Ginjal yang sehat ditandai dengan memiliki fungsi yang baik, ukurannya normal dan protein yang dikeluarkan melalui urin lebih rendah (Argalawa, 2005).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak etanol daun Sala pada tikus untuk kelompok kontrol dan perlakuan selama 90 hari memberikan pengaruh pada parameter protein, glukosa, keton, bilirubin, urobilinogen terhadap fungsi ginjal, namun tidak mempengaruhi pH dan nitrit.
2. Pemeriksaan histopatologi organ ginjal setelah pemberian ekstrak etanol daun Sala selama 90 hari memberikan pengaruh terhadap ginjal. Hasil pemeriksaan menunjukkan terjadi suatu peradangan pada daerah sekitar pembuluh darah, terdapat pada tikus dengan pemberian dosis 1000 mg/kgBB dan dosis 1500 mg/kgBB.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang hematologi terhadap penggunaan ekstrak etanol daun Sala untuk mengetahui kelainan dari kuantitas dan kualitas sel darah merah, sel darah putih dan trombosit.
2. Perlu dilakukan pemeriksaan histopatologi untuk organ lain terhadap pemberian ekstrak etanol daun Sala.

DAFTAR PUSTAKA

- Argalawa, G.C., 2005, *Short Textbook of Physiology*. Academia. Newkarta.
- American Association of Diabetes Educators, 2007, *Ketones Testing*, American Association of Diabetes Educators :1-8
- American Kidney Found, 2009, "Facts About Kidney Disease" [online], (<http://www.kindefound.org>, diakses tanggal 14 Maret 2014).
- Backer, C.A., & Vander, B.B., 1965, of Java (*Spermatophytes Only*), N.V.P.Noordhoff-Groningen, The Netherlands.
- Bunyapraphatsara, N., Jutiviboonsuk, A., Sornlek, P., Therathanathorn, W., Aksornkaew, S., Fong, H.H.S., 2003, Pharmacological studies of plants in mangrove forest, *Thai Journal of Phytopharmacy*, 10(2)
- Campbell, N.A., J.B. Reece & L. G Mitchell., 2003, Edisi ke-5, jilid 3, Erlangga, Jakarta.
- Donatus, I.A., 2001, *Toksikologi Dasar*, Yogyakarta, Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, 36.
- Guyton, A.C., & Hall, J.E., 2008, *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran edisi II*, Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 325-343.
- Harkness, J. E., Turner, P. V., Wounde, S.V., & Wheler, C.L., 2010, *Biology and Medicine of Rabbits and Rodent*, Fifth Edition, United States of America, Wiley-Blackwell
- Helms, A., Quan, J., Herfindal, T., Gourley, R., Zeind, S., Hudson, Q., et al, 2006, *Drug and Disease Management 8th*, United States of America, Lippincot Williams & Wilkins
- Hukins, D.W.L., 2005, *Preventing*

- Encrustation in Indwelling Urethral Catheters*, Medical Device Technologi, 25- 7
- Humairah, 2014, Efek Pemberian Ekstrak Etanol Daun Tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn.) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Aloksan, *Naskah Publikasi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- H o d g s o n , E., 2010, *A Text book of modern toxicology 4th edition*, A John wiley, North California, 65.
- Irawati, E., 2014, Efek Hepatoprotetektif Estrak Daun Kemuning (*Rhodomyrtus tomentosa* [Aiton] Hassk.) Terhadap Hepatosisitas Yang Diinduksi Parasetamol, *Naskah Publikasi*, Universitas TanjungPura; Pontianak
- K a t z u n g , B.G., 2002, *Farmakologi Dasar dan Klinik (Basic & Pharmacology)*, diterjemahkan oleh Sjabana, D.,(Eds.), Edisi 8. Penerbit Salemba Medika: Jakarta.
- Kavlekar, D.P., Chandra, M.D., Untawale, A.G., & Kulkarni, V., 1998, CDROM on Mangroves of Indian [NIO'S Database on Marine life of India (NIODMLI)] [CDROM] Bioinformatics Center, *National Institute of Oceanography*, Dona Paula, GOA 403 004, Indian Module 3 Ver 1.0.
- Kee, J.L.F., 2007, *Pedoman Pemeriksaan Laboratorium & Diagnostik*. Edisi 6. Jakarta : EGC.
- Kenneth, I.M., 2001, *Clinical Laboratory Medicine*. China: McClatchy.
- Khan, M.A.A., Prasanta, P., & Mohammed, T.I., 2006, *Phytochemical and Pharmacological Screening of Shingra (Cynometra rumiflora Linn, Family : Leguminoseae) bark based on its traditional uses*, Departement of Pharmacy Southem University.
- Lu, F.C., 2009, *Basic Toxicology : Fundamentals, Target Organs, and Risk Assesment 5th edition*, Informa Healthcare USA, New York : Informa Healthcare USA, Inc., 85.
- Mohammed, F., Dinna, J.M., Rasha, K.M., 2012, Detection The Ratio of Bilirubin in Human Body Using Laser Technology, *International Journal of Modern Engineering Research (IJMER)*, Vol 2
- Murtini, J.T., Priyanto, N., & Siregar, S.T., 2007, Toksisitas Subkronik Alginat pada Histopatologi Hati, Ginjal dan Lambung Mencit, *Jurnal Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, Vol.5, No 2.
- Orisakwe, O.E., Onyenmechi, J.A., Mary, A.C., Ejeatuluchukwu, O., & Chudi E.D., 2003, Subchronic Toxicity Studies of the Aqueous Extract of Boerhavia diffusa Leaves, *Journal of Healty Science*, 49
- Parrot, K., Woodard J., Ross B., *Household Water Quality*, 2002, "Nitrates in Household Water", Virginia polytechnic institute and state university, Virginia State University from: info.ag.uidaho.edu/pdf/CIS/CIS1099.pdf. Access on: Juni, 2014.
- Quesenberry, K.E. & Carpenter, J. W., 2012, *Ferrets, Rabbits, and Rodents: Clinical Medicine and Surgery*, Third Edition, United States of America, Elsevier saunders
- S a r a v a n a m u t t u , S., & D. Sudarsanam, 2012, "Antidiabetic Plants and Their Active Ingredients: a review". *IJPSR*, Vol. 3(10): 3639-3650.
- Sastroamidjojo, S., 1997, *Obat Asli*

Indonesia, Dian Rakyat, Jakarta, Hal 182-183.

Schnellmann, R., 2008, *Toxic Respons of the Kidney* 7th ed. C. & D. Klaassen C.D, ed., New York: Mc. Graw Hill.

Siraj, M.D., Afjalus, Malik, S., Emrul, H., Sanjana, S., 2013, Evaluation Of Neuropharmacological, Antibakterial, and Antinociceptive Activity Of Methanolic Extract The Bark Of *Cynometra ramiflora* Linn. (Leguminosae), *International Journal Of Research In Ayurveda & Pharmacy*.

Sherwood, L., 2001, *Fisiologi Manusia dari sel ke sistem*, Terjemahan dari *Human Physiology : from cells to system*, Alih Bahas : Braham U. Pendit, Jakarta, Penerbit buku kedokteran EGC, 568-570

Syaifudin, 2012, *Anatomi Fisiologi Edisi 4*, 446-453, Jakarta, Buku Kedokteran EGC, 446-453.

Tiwari, P., Rahuja N., Kumar, R., Lakshmi, V., Srivastava, M.N, Agarwal, S.C, Raghbir, R & Srivastava, A.K., 2008, Search For Antihyperglycemic Activity in Few Marine Flora and Fauna. *Indian Journal of Science and Technology*. 1 (5), p.1-5.

Wahyono, J., Hakim, A.R, Nugroho, A.E., 2007, Profil Farmakokinetika Sulfasetamid pada Tikus Gagal Ginjal Karena Diinduksi Uranil Nitrat. *Majalah Farmasi Indonesia*, 18(3), 117 – 123.

Wallach, J.B., 2006, *Interpretation of Diagnostic Tests* 8th ed., Lippincot: Walter Kluwer.

WHO, 1993, *Research Guidelines for Evaluation the Safety and Efficacy of Herbal Medicinal*. Manila.