

UJI TOKSISTAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN SUNGKAI (Peronema cenescens Jack) TERHADAP FUNGSI GINJAL MENCIT PUTIH BETINA (Mus musculus Linn.)

Eva Melisa¹, Muhaimin², Yuliawati¹, Fathnur Sani K¹

¹ Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Jambi, Kota Jambi, Indonesia

² Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran, Bandung, Indonesia

ABSTRAK

Toksistas akut merupakan pengujian yang dilakukan untuk mendeteksi efek toksik yang akan muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji melalui mulut (oral) dalam bentuk dosis tunggal ataupun berulang dalam waktu 24 jam. Tanaman sungkai (*Peronema cenescens* Jack) adalah tanaman obat yang dipakai oleh sebagian masyarakat sebagai obat penurun demam, sakit gigi serta sebagai obat malaria. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksistas dan pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sungkai terhadap fungsi ginjal mencit. Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu mencit putih betina galur Swiss Webster. Penelitian ini menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 kelompok yang terdiri dari Kontrol negatif (Na CMC0,5%), P1 (175mg/kgBB), P2 (550mg/kgBB), P3 (1750mg/kgBB), dan P4 (5000mg/kgBB) ekstrak etanol daun sungkai. Parameter yang akan diamati adalah nilai LD50, kadar kreatinin serum dan nilai skoring kerusakan ginjal dengan metode skoring vanient kemudian data akan dianalisis dengan metode analisis statistik One Way ANOVA dan uji lanjut Duncan. Hasil pada penelitian menunjukkan kelompok perlakuan pada dosis 175-5000mg/kgBB tidak menyebabkan kematian pada hewan uji sehingga nilai LD50 ditentukan secara semu. Namun, pemberian ekstrak etanol daun sungkai memberikan pengaruh terhadap kerusakan ginjal dimana pada dosis 5000mg/kgBB terjadinya kerusakan dengan rata-rata nilai kreatinin 2,7mg/dL dan skor tingkat kerusakan ginjal hewan uji diperoleh nilai 3 dengan nilai persentase kerusakan 97,26% merupakan skor kerusakan yang tinggi.

Kata Kunci :

Toksistas, Ginjal, Sungkai (*P. Cenescens* Jack)

PENDAHULUAN

Sekarang obat-obatan tradisional sangat banyak sekali digunakan masyarakat sebagai obat yang diyakini dapat menyembuhkan penyakit pada manusia yang memiliki resiko efek samping yang terbilang ringan dan lebih aman dari obat-obatan kimia. Salah tanaman obat yang sebagian besar digunakan oleh masyarakat adalah tanaman sungkai (*P. cenescens* Jack). Dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai antimalaria, demam dan sakit gigi.

Dari penelitian sebelumnya diketahui ekstrak methanol daun sungkai memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri atau sebagai anti bakteri(1). Fraksi n-heksan daun sungkai memiliki aktivitas sebagai antiplasmodium(2). Ekstrak etanol daun sungkai dapat menurunkan kadar gula darah pada mencit yang diabetes(3) dan sebagai antihiperurisemia(4).

Oleh sebab itu dalam rangka pengembangan dan penggunaan obat herbal yang terstandar, tidak cukup hanya dengan uji khasiat saja. Perlu dilakukan pengujian keamanan seperti uji toksistas akut, uji toksistas sub akut, uji toksistas kronik, dan uji toksistas sub kronik.

Ginjal adalah organ utama ekskresi didalam tubuh. Untuk mengetahui fungsi ginjal dengan salah satu cara yaitu dengan bersihan kreatinin yang bisa diamati dengan penentuan kadar kreatinin serum dan kadar kreatinin urin. Indikasi terjadinya gangguan ginjal bisa diketahui melalui rendahnya nilai bersihan kreatinin yang disebabkan oleh tingginya nilai kreatinin serum dibandingkan kadar kreatinin yang diekskresi(5).

Mengingat pemanfaatan daun sungkai yang cukup luas di masyarakat terutama dibidang farmakologi. Sedangkan tingkat keamanan dan efek samping ekstrak daun sungkai belum diketahui sehingga informasi ilmiah mengenai khasiat dan efek toksik yang akan ditimbulkan dari ekstrak daun sungkai masih perlu ditelaah. Oleh karena itu perlu diteliti pengaruh toksistas pemberian ekstrak etanol daun sungkai secara akut terhadap fungsi ginjal mencit putih betina.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Beberapa alat yang digunakan adalah gelas beker (Pyrex®), gelas erlenmeyer (Pyrex®), alat bedah (Wells spencer®), kertas saring, grinder, cawan porselin, mortir dan stamper, neraca hewan (Presica Geinweigher GW-1500®), rotary evaporator (Heidolph VV-300®), sonde oral ukuran 1 ml (Terumo®), timbangan analitik (Kern®), corong, hot plate, kandang mencit, kawat, tempat pakan dan minuman hewan.

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian yaitu daun sungkai (*Peronema cenescens* Jack), ethanol 70%, HCl 2N, Pereaksi Dragendroff, Pereaksi Mayer, FeCl₃, reagen kreatinin, NaCl 0,9%, larutan NBF (Neutral Buffered formaline) 10%, alcohol (70%,80%,90%,95% dan 100%), xylol, Haemotoksilin Eosin (HE), NA-CMC, parafin dan Aquadest, dan mencit putih betina (*Mus musculus*) galur swiss webster umur berkisar 2-3 bulan dengan bobot antara 20-30 Gram diambil dari Laboratorium Peternakan Tikus Jambi.

Masuk 02-01-2022

Revisi 30-01-2022

Diterima 08-04-2022

DOI: 10.20956/mff.v26i1.19447

Korespondensi

Yuliawati

yuliawati.saputra@gmail.com

Copyright

© 2022 Majalah Farmasi

Farmakologi Fakultas Farmasi · Makassar

Diterbitkan tanggal

30 April 2022

Dapat Diakses Daring Pada:

<http://journal.unhas.ac.id/index.php/mff>



Pembuatan simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Sungkai

Sampel daun sungkai diambil di daerah kampus Universitas Jambi, Mendalo darat, Kecamatan Jambi luar kota, Kab. Muaro Jambi, Provinsi Jambi. sampel diambil daun yang masih muda dan tidak terlalu tua sebanyak 2 kg langsung dari pohonnya dan dilakukan determinasi tanaman di Herbarium Universitas Andalas Padang (No. 226/K-ID/ANDA/IV/2020). Daun sungkai yang segar dilakukan proses pembersihan dengan sortasi basah, pencucian, perajangan, dikeringkan untuk menghasilkan simplisia kemudian simplisia yang di peroleh ditentukan rendemen (6). Daun sungkai kering sebanyak 750 Gram disortasi kemudian dijadikan serbuk di ekstraksi menggunakan penyari etanol 70% sebanyak 7,5 Liter dan didiamkan selama 6 jam pertama sembari sesekali diaduk, setelah itu didiamkan selama 18 jam. Proses diulangi minimal 2 kali. Ekstrak yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan dengan rotary evaporator hingga mendapatkan ekstrak kental. Kemudian dihitung rendemen ekstrak yang diperoleh. Selanjutnya dilakukan Uji karakteristik ekstrak yaitu parameter spesifik yang terdiri dari pemeriksaan identitas, organoleptis ekstrak dan parameter non-spesifik terdiri dari kadar air dan kadar abu (7). Kemudian dilakukan pengujian senyawa metabolit sekunder ekstrak daun sungkai yang dilakukan terhadap senyawa flavonoid, Alkaloid, Tanin, saponin, dan Steroid/triterpenoid.

Pengujian Toksikitas Akut

Dibuat larutan suspensi Na CMC 0,5% sebanyak 100 mL. Kemudian dilanjutkan dengan membuat suspensi ekstrak daun sungkai ditimbang ekstrak dengan dosis 175mg/KgBB, 550mg/KgBB, 1.750mg/KgBB, dan 5000mg/KgBB masing-masing dimasukkan kedalam lumpang dan ditambahkan Na-CMC 0,5% sebanyak 10mL pada masing-masing dosis ekstrak dan digerus hingga homogen. Pengukuran LD50 dan pengujian toksisitas tertunda (penurunan aktivitas gerak, diare, tidur, gerakan pernapasan dan kematian) mengacu pada BPOM (8) yaitu mencit dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 7 ekor mencit kemudian dipuaskan sebelum diberikan perlakuan namun air minum boleh diberikan. Setelah dipuaskan, mencit ditimbang dan di berikan sediaan uji dalam dosis tunggal dengan menggunakan sonde oral kepada hewan uji. Diamati gejala toksisitas pada mencit secara periodic selama 4 jam pertama pada menit ke 5, 30, 60, 120, 240 dan sehari sekali selama 14 hari. Kemudian dilakukan pengamatan visual yaitu mencit mengalami penurunan aktivitas gerak, agresivitas, gerak pernapasan, tidur, diare dan kematian. Selama percobaan, hewan-hewan ditimbang 48 jam sekali, asupan makanan dan air tetap dipantau. Setelah 14 hari, dihitung jumlah mencit yang mati dan yang hidup untuk dihitung nilai LD50nya, kemudian dilakukan pembedahan pada hewan uji untuk diambil organ ginjal dan dilakukan pemeriksaan histologi pada organ tersebut (8).

Pemeriksaan Kadar Kreatinin dan Berat Organ

Penetapan kadar kreatinin dilakukan dengan metode kinetic test without deproreinitation Jaffe. Sampel darah mencit diambil dari bagian intracardiac kemudian ditampung dengan tabung reaksi sebanyak 2mL, lalu disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm hingga didapatkan serum darah. Serum darah diambil sebanyak 50 µL ditambahkan 1000 µL reagen kreatinin dalam tabung reaksi, di homogenkan dengan bantuan vortex. Pengukuran dilakukan menggunakan alat spektrofotometer pada suhu 370C pada panjang gelombang 492 nm, sehingga didapatkan kadar kreatinin serum (8).

Organ ginjal yang akan ditimbang dikeringkan terlebih dahulu dengan kertas penyerap, lalu ditimbang untuk

memperoleh berat absolut. Kemudian dihitung berat organ relative dengan rumus:
$$\text{Rasio Berat Organ} = \frac{\text{Berat Organ (gr)}}{\text{Berat Badan Mencit (gr)}}$$

Pemeriksaan Histologi Organ Ginjal Mencit

Pemeriksaan ini mengacu pada Widodo (2018), organ ginjal hewan uji diambil dan dibersihkan dengan NaCl 0,9%. Kemudian, dibuat preparat histologi ginjal dengan beberapa tahapan pertama, sampel organ ginjal difiksasi dalam larutan NBF selama minimal 2 hari. Selanjutnya sampel organ di dehidrasi di dalam alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 96%, dan alkohol absolut). Kemudian, dijernihkan dalam xylol (cleaning), selanjutnya di infiltasi dengan parafin I, II, dan III. Lalu dilakukan embedding atau pembuatan blok parafin. Dilanjutkan dengan proses sectioning yaitu pemotongan blok parafin ginjal menggunakan mikrotom dengan ukuran 3-4µm dan dipindahkan dalam inkubator (water bath) dengan suhu 30-400C hingga mengembang lalu diletakkan diatas gelas objek dan disimpan dalam inkubator (hot plate) dengan suhu 40-450C hingga jaringan melekat sempurna. Hasil sayatan kemudian diwarnai menggunakan pewarna baku Hematoksin Eosin (HE). Proses pewarnaan diawali dengan deparaffinisasi jaringan dengan xylol dan rehidrasi menggunakan alkohol bertingkat, selanjutnya diletakkan kembali kedalam xylol selama 24 jam untuk proses penjernihan. Kemudian jaringan diambil dan diberi enthelan sebelum ditutup dengan cover glass (mounting). Terakhir dianalisis menggunakan mikroskop dengan kamera digital Leica ICC50(9).

Pengamatan Histologi Organ Ginjal Mencit

Preparat akan diamati pada 5 lapang pandang yaitu pada keempat sudut dan dibagian tengah preparat dengan perbesaran 40 x 10. Selanjutnya pada setiap preparat dihitung nilai rata-rata degenerasi dengan cara menjumlahkan persentase sel yang mengalami kerusakan lalu dibagi 5 yang mengacu pada (Tabel 1). Data yang didapatkan dibandingkan antara kelompok kontrol dan keempat kelompok perlakuan ekstrak etanol daun sungkai.

Tabel 1. Kriteria penilaian derajat kerusakan tbulus ginjal menggunakan metode skoring Vanien(9)

Tingkat Perubahan	Nilai
Tidak ada sel yang nekrotik	0
<50% sel yang mengalami nekrotik	1
51-70% sel yang mengalami nekrotik	2
71-100% sel yang mengalami nekrotik	3

Keterangan:

- 0 = Normal
- 1 = Kerusakan rendah
- 2 = Kerusakan sedang
- 3 = Kerusakan tinggi

Analisis Data

Data kualitatif Toksikitas tertunda dan histologi dianalisis secara deskriptif. Pengamatan visual pada toksisitas tertunda ini mengamati perubahan diare, perubahan pernafasan, agresivitas, tidur dan perubahan aktivitas gerak. Gambaran histologi ginjal dianalisis secara deskriptif dengan mengacu pada Nurdiniyah et al, (2015) gambaran histologi ginjal normal dan tidak normal (10). Sedangkan untuk data kreatinin dan persentase kerusakan ginjal nanti akan dianalisa dengan One Way ANOVA menggunakan SPSS, kemudian dilakukan uji lanjut dengan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sungkai (*P. cenescens* Jack) dari family Limiaceae. Sebelum dilakukan proses ekstraksi terlebih dahulu dilakukan determinasi tumbuhan untuk memastikan tanaman yang digunakan adalah benar daun sungkai. Kemudian determinasi tanaman dengan hasil determinasi membuktikan bahwa sampel yang digunakan merupakan tanaman sungkai (*Peronema cenescens* Jack) golongan family limiaceae.

Daun sungkai segar diambil sebanyak 2 kg menghasilkan simplisia 750 Gram, yang sebelumnya telah melalui berbagai proses hingga diperoleh hasil rendemennya 37,5% termasuk kecil karena <50% ini bisa terjadi disebabkan oleh beberapa faktor pada saat waktu pengeringan seperti kelembaban udara disekitar sampel, suhu, dan juga kandungan air yang terdapat pada daun cukup besar (11). Menurut Depkes RI (2000), faktor yang dapat mempengaruhi rendemen simplisia salah satunya adalah jenis tanaman jika tanaman yang digunakan lebih banyak mengandung air atau senyawa yang mudah menguap maka nilai rendemen yang diperoleh juga kecil (7).

Serbuk daun sungkai sebanyak 750gram diekstraksi menggunakan metode maserasi. Pelarut yang dipakai untuk mengekstraksi simplisia daun sungkai adalah etanol 70%. Hasil maserat yang diperoleh sebanyak 4,5 Liter yang dipekatkan menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 138,5 Gram dengan nilai rendemen sebesar 18,47%. Selanjutnya dilakukan evaluasi spesifik dan non-spesifik dari ekstrak kental daun sungkai (*P. cenescens* Jack) supaya kualitas dari ekstrak dapat terjamin dalam pengembangan sediaan obat fitofarmaka.

Hasi uji organoleptik menunjukkan bahwa ekstrak daun sungkai memiliki warna hijau kehitaman, rasanya pahit (sepat), berbau khas dan kental. Pada uji non-spesifik kadar air ekstrak etanol daun sungkai diperoleh persentase 0,53% dan kadar abu dengan persentase 6%. Sedangkan untuk hasil skrining fitokimia ekstrak daun sungkai mengandung senyawa metabolit sekunder flavonid, fenol/tanin, alkaloid, steroid, dan saponin hasil sesuai dengan penelitian sebelumnya yaitu Fransisca et al, (2020) (12) dan Latief et al, (2021) (4).

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini mencit putih betina sebanyak 35 ekor yang di bagi secara acak menjadi 5 kelompok. Sebelumnya peneliti telah mendapatkan surat etik dengan No.450/UN.16.2/KEP-FK/2021. Pada masing-masing kelompok terdiri dari 7 ekor mencit yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 gram. Sebelum dilakukan perlakuan pada mencit dilakukan aklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari. Proses aklimatisasi dilakukan bertujuan agar mencit bisa beradaptasi dengan lingkungan baru dan untuk menentukan kelayakkan mencit yang akan digunakan. Kriteria mencit yang dipilih adalah mencit yang berkelakuan normal, sehat dan berat badan tidak naik lebih dari 10% (8).

Metode pengujian toksisitas akut yang digunakan adalah berdasarkan pedoman uji toksisitas nonklinik secara in vivo BPOM (8) Pada penelitian uji toksisitas akut ini menggunakan metode up and down procedure (UDP). Metode ini adalah metode alternaif dalam pengujian toksisitas akut. Pada saat dibandingkan dengan metode penentuan LD50 konvensional, metode UDP ini menggunakan lebih sedikit hewan uji, bahkan hingga sepertiga dari jumlah hewan uji yang digunakan dalam

metode konvensional. Pengujian toksisitas akut ekstrak daun sungkai dilakukan dengan empat variasi dosis yaitu 175, 550, 1750 dan 5000 mg/kgBB, dari keempat dosis yang di uji terlihat hewan uji tidak mengalami diare, agresivitas, perubahan pernafasan dan perubahan aktivitas gerak secara signifikan. Mencit terlihat lebih banyak tidur, hal itu wajar dikarenakan mencit merupakan hewan yang aktif di malam hari atau hewan nokturnal. Pada perlakuan juga tidak menimbulkan kematian pada hewan uji, namun pemberian ekstrak etanol daun sungkai berpengaruh terhadap fungsi ginjal yang dilihat dari nilai kreatinin dan histologi ginjal.

Ginjal adalah organ eksresi utama dalam tubuh yang mengeluarkan zat-zat sisa metabolisme yang tidak digunakan lagi dan racun. Fungsi ginjal dapat diketahui dari kadar kreatinin. Kreatinin ialah hasil pemecahan keratin fosfat otot yang di produksi oleh tubuh secara konstan tergantung masa otot dan masa normal dandikeluarkan dari dalam pembuluh darah melalui ginjal. Kreatinin serum yang mengalami peningkatan kadar kreatinin dapat menunjukkan kegagalan fungsi ginjal (13).

Kreatinin difiltrasi di glomerulus dan direabsorpsi di tubular. Beberapa penyebab meningkatnya kadar kreatinin didalam darah, ialah dehidrasi, kelelahan yang berlebihan, menggunakan obat yang bersifat toksik terhadap ginjal, disfungsi pada ginjal yang disertai infeksi, hipertensi tidak terkontrol serta penyakit ginjal (14). Pada tabel 2 menunjukkan data hasil pemeriksaan kadar kreatinin mencit pada masing-masing kelompok berada pada tingkat melebihi nilai normal dinamakan menurut Arifin et al (2018) kadar normal kreatinin serum mencit adalah 0,2-0,9 mg/dL. Hal tersebut menandakan bahwa pemberian ekstrak daun sungkai kepada mencit memberikan pengaruh terhadap peningkatan kadar kreatinin yang melebihi batas normal, hal ini bisa terjadi karena ginjal mencit mengalami gangguan fungsi dalam memfiltrasi kreatinin yang ada didalam tubuh secara normal yang akan dikeluarkan melalui urin (15). Berdasarkan hasil analisa statistik kadar kreatinin serum mencit menggunakan One Way ANOVA, diperoleh hasil uji ANOVA P (< 0,05) maka menunjukkan bahwa kadar kreatinin serum mencit berbeda nyata, yang berarti terjadi pengaruh dalam pemberian ekstrak daun sungkai terhadap kadar kreatinin mencit.

Tabel 2. Rata-rata kadar kreatinin serum

ulangan	Kadar kreatinin serum (mg/dL)				
	Kontrol	P1	P2	P3	P4
1	1,2	1,6	1,9	2,3	2,6
2	1,4	1,8	2,1	2,1	2,8
3	0,9	1,7	2	2	2,8
4	1,1	1,6	2,2	2,4	2,6
5	1,4	1,7	2	2,3	2,7
Rata-rata±SEM	1,2±0,09	1,68±0,03	2,04±0,05	2,22±0,07	2,7±0,04

Keterangan:

- KK : Kelompok Kontrol (diberikan Na-CMC dan pakan serta minum standar)
- P1 : Perlakuan Dosis 175mg/kgBB
- P2 : Perlakuan Dosis 550mg/kgBB
- P3 : Perlakuan Dosis 1750mg/kgBB
- P4 : perlakuan Dosis 5000mg/kgBB

Selanjutnya pengamatan pada berat organ ginjal yang diamati peneliti adalah perubahan berat organ ginjal hewan uji, karena ginjal berperan penting pada eliminasi produk buangan yang berasal dari metabolisme endogen ataupun metabolisme xenobiotika. Hasil rata-rata berat organ ginjal setelah diberikan ekstrak etanol daun sungkai (tabel 3).

Tabel 3. Rata-rata berat organ ginjal setelah diberikan ekstrak etanol daun sungkai

Perlakuan	Rata-rata berat badan (gr) ± SD	Rata-rata berat organ ginjal (gr) ± SD	Persentase bobot ginjal dari berat badan (%)	Bobot Absolut organ ginjal	Bobot indeks organ ginjal
Kontrol	25,52 ± 1,56	0,18 ± 0,01	0,71 ± 0,00	0,032	0,16
P1	24,87 ± 1,40	0,16 ± 0,02	0,68 ± 0,00	0,027	0,2
P2	24,31 ± 2,51	0,20 ± 0,05	0,86 ± 0,00	0,041	0,16
P3	27,03 ± 1,85	0,16 ± 0,02	0,60 ± 0,00	0,025	0,2
P4	26,23 ± 1,89	0,20 ± 0,04	0,80 ± 0,00	0,041	0

Keterangan:

KK : Kelompok Kontrol (diberikan Na-CMC dan pakan serta minum standar)

P1 : Perlakuan Dosis 175mg/kgBB

P2 : Perlakuan Dosis 550mg/kgBB

P3 : Perlakuan Dosis 1750mg/kgBB

P4 : perlakuan Dosis 5000mg/kgBB

Berdasarkan hasil pada tabel 3 rata-rata berat organ ginjal pada hewan mengalami perbedaan antara kelompok kontrol dan kelompok P1, P2 dan P3, dimana berat organ ginjal kelompok P1 dan P3 lebih kecil dari pada kelompok kontrol, P2 (175mg/kgBB) dan P4 (1750 mg/kgBB), sedangkan untuk kelompok P2 dan P4 rata-rata bobot organ ginjalnya lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Berubahnya berat organ ialah salah satu tanda adanya perubahan pada sel-sel organ disebabkan oleh paparan bahan kimia atau zat toksik (16). Menurut Nallakrishna et al (2019) berat normal organ ginjal mencit berkisar antara 0,16 – 0,22 Gram (16). Pada tabel 3 terlihat hasil rata-rata berat organ ginjal berada pada rentang normal artinya pemberian ekstrak etanol daun sungkai pada hewan hewan uji yang diamati secara makroskopis tidak memberikan dampak toksik yang berlebihan pada berat organ ginjal hewan uji. Berdasarkan hasil pengamatan histologi organ ginjal yang sudah diberikan ekstrak etanol daun sungkai dan dihitung tingkat kerusakan dengan metode vanien (9). Data hasil yang didapatkan disajikan pada tabel 4.

Tabel 4. Skor tingkat kerusakan ginjal mencit

Ulangan	Persentase Derajat Kerusakan Ginjal Mencit				
	Kontrol	P1	P2	P3	P4
1	55	53,4	58,6	52,2	82,4
2	42,8	45,4	52,8	65,2	107,8
3	37,6	49,4	54,8	78,6	101,6
Rata-Rata ± SEM	45,1 ^a ± 5,13	49,4 ^{a,b} ± 2,30	55,4 ^{a,b} ± 1,70	65,33 ^c ± 7,62	97,26 ^d ± 7,64
Skor	1	1	2	2	3

Keterangan:

Superskrip dengan huruf kecil yang berbeda pada kolom menunjukkan perbedaan yang sangat nyata P (<0,05)

K= Kontrol

P1= Perlakuan dosis 175mg/kgBB

P2= Perlakuan dosis 550mg/kgBB

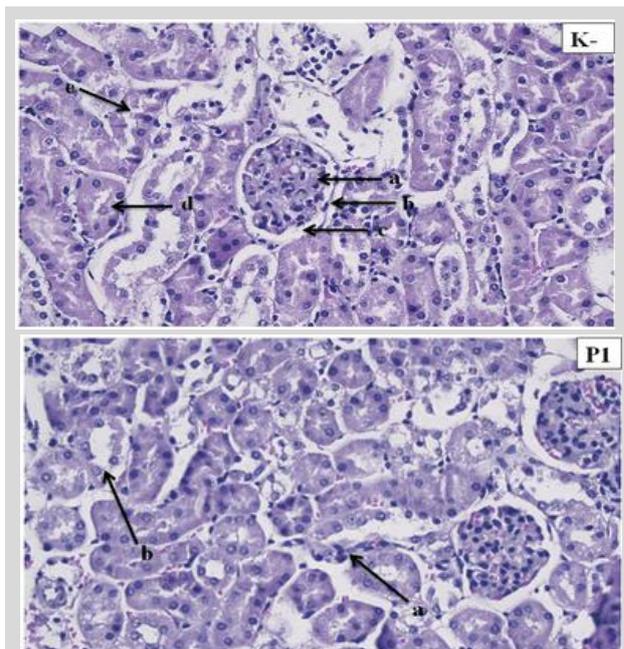
P3= Perlakuan dosis 1750mg/kgBB

P4= Perlakuan dosis 5000mg/kgBB

Data pada setiap kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan rata-rata derajat kerusakan sel tubulus ginjal mencit berdasarkan perhitungan mean dan standar deviasi. Pada kelompok kontrol dan P1 persentase kerusakan belum mencapai 50% atau masih dibawah 50% sehingga memperoleh skor 1 yang menunjukkan kerusakan sel tubulus yang terjadi masih terbilang rendah. Sedangkan, kelompok perlakuan P2 dan P3 kerusakan yang terjadi dibawah 70% mendapatkan skor 2 termasuk dalam kategori kerusakan sedang dan untuk P4 kerusakan yang terjadi mendapat skor 3 dengan persentase hampir 100% sehingga

pada perlakuan P4 dengan dosis 5000mg/kgBB mengalami kerusakan sel tubulus yang tinggi. Berdasarkan hasil One Way ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan kepada mencit mengalami perbedaan secara nyata terhadap skor kerusakan ginjal mencit, perubahan histologi yang terjadi yaitu nekrosis (piknotik, karioreksis, karioreksis) sel tubulus ginjal mencit.

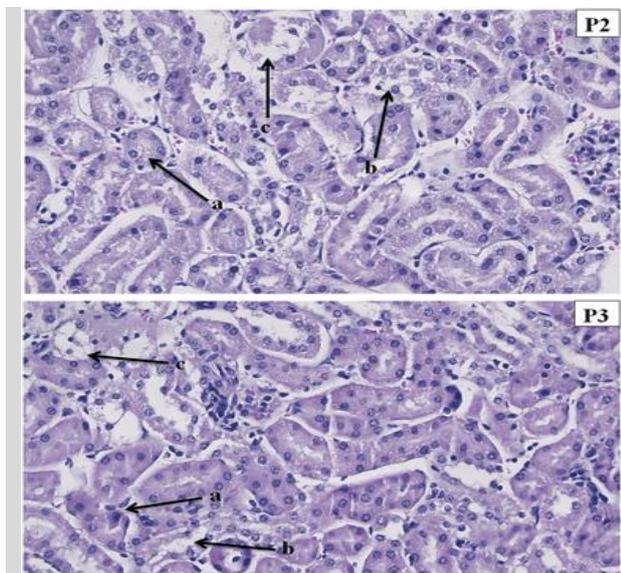
Hasil pengamatan pada preparat histologi ginjal mencit untuk kelompok kontrol ditunjukkan pada gambar 1, terlihat glomerulus dengan keadaan normal yang tertutup secara keseluruhan oleh kapsul bowman serta sel tubulus masih tersusun rapi dan padat. Sedangkan pada P1 histologi ginjal terlihat sel tubulus mengalami piknotik dan karioreksis namun pada perlakuan ini data yang didapatkan tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol berdasarkan tabel kriteria termasuk dalam kerusakan ringan dengan nilai skor 1. Terjadinya kerusakan pada ginjal terutama kerusakan pada tubulus, tidak hanya disebabkan oleh iskemia ginjal juga diakibatkan karena zat-zat yang mempunyai sifat toksik (17). Jaringan yang nekrosis secara mikroskopik akan mengalami berbagai perubahan berupa piknosis, karioreksis maupun kariolisis. Menurut Aliah (2017) piknotik ialah sel yang ditandai dengan melisutnya inti sel serta meningkatnya basophil setelah itu DNA berkondensasi jadi massa yang melisut padat. Sedangkan karioreksis, fragmen dari inti sel yang piknotik tadi yang nantinya dalam 1-2 hari inti dalam sel yang mati betul-betul menghilang. Tahapan nekrosis yang terakhir ialah kariolisis atau basofilia kromatin memudar (18).



Gambar 1. K- Gambar histologi mencit kontrol normal a. Glomerulus, b. Kapsul bowman, c. Ruang bowman, d. Tubulus proksimal, e. Tubulus distal dan P1 Gambar histologi mencit P1 diberikan ekstrak etanol daun sungkai dosis 175mg/kgBB a. Sel tubulus yang mengalami piknotik, b. Sel tubulus yang mengalami karioreksis (HE, 40x10).

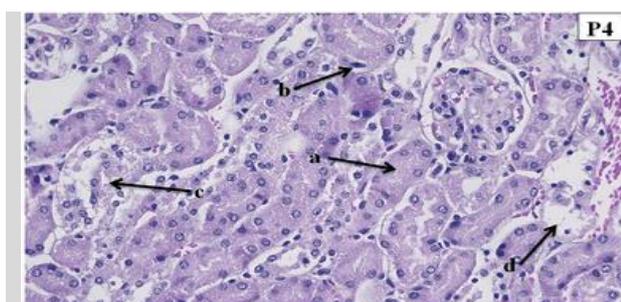
Pada P2 dan P3 (Gambar 2) terlihat histologi ginjal mengalami nekrosis dan degenerasi melemak pada sel tubulus dengan tingkat kerusakan sedang dan berdasarkan kategori mendapatkan nilai skor 2. Menurut Manullang et al (2018) degenerasi melemak ialah penumpukan droplet lemak berbutir (vakuola) yang terjadi didalam sitoplasma sel. Degenerasi melemak pada ginjal bisa ditemukan di daerah korteks, paling utama pada tubulus ginjal. Kondisi tersebut menandakan adanya keracunan tubular yang diakibatkan oleh zat toksik semacam logam berat ataupun racun tumbuhan (19).

Sedangkan pada kelompok perlakuan P4 (Gambar 3) merupakan kelompok yang paling banyak mengalami nekrosis sel tubulus dan degenerasi melemak dengan skor yang diperoleh 3 berdasarkan tabel kategori termasuk dalam kerusakan tinggi. Menurut manullang et al (2018) ciri utama terbentuknya keracunan tubular ialah degenerasi melemak serta nekrosis pada sel tubulus. Degenerasi melemak diakibatkan oleh substansi zat toksik, defisiensi nutrisi, defisiensi substansi lipotropik serta diet lemak tinggi.



Gambar 2. a. Sel tubulus yang mengalami degenerasi melemak (P2), a. Sel tubulus yang mengalami piknotik (P3) b. Sel tubulus karioreksis c. Sel tubulus kariolisis (dosis 550(P2) dan 1750(P3) mg/kgBB, HE, 40x10).

Sedangkan nekrosis ataupun kematian sel ialah lanjutan dari kerusakan degenerasi parenkimatososa yang bersifat irreversibel. Proses kematian sel terjadi lebih cepat dari pada proses regenerasi, maka sel-sel yang mati terakumulasi terhadap jaringan (19).



Gambar 3. a. Sel tubulus yang mengalami degenerasi melemak, b. Sel tubulus yang mengalami piknotik, c. Sel tubulus yang mengalami karioreksis, d. Sel tubulus yang mengalami kariolisis (dosis 5000mg/kgBB, HE, 40x10).

Pemberian ekstrak etanol daun sungkai dengan dosis variasi terhadap mencit menunjukkan gambaran degenerasi melemak dan nekrosis pada sel ginjal mencit dengan tingkat degenerasi yang tergolong cukup berat, sehingga dapat mempengaruhi fungsi fisiologis dari organ ginjal mencit ditandai dengan kadar kreatinin serum diatas normal. Selain disebabkan oleh kandungan senyawa alami yang terkandung pada daun sungkai kerusakan sel yang terjadi juga dimungkinkan diakibatkan oleh kondisi lingkungan mencit baik kandang, makanan yang diberikan kurang variatif, hewan uji yang mengalami tingkatan stress, peningkatan H₂O₂ dan faktor internal lainnya yang diduga menjadi faktor terjadinya kerusakan pada sel ginjal mencit (9).

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak etanol daun sungkai hingga dosis 5000mg/kgBB menyebabkan kerusakan organ ginjal yang dilihat dari nilai kreatinin dan histologi. Namun, tidak menyebabkan kematian pada hewan uji, sehingga nilai semu LD₅₀ yang diperoleh termasuk dalam rentang toksisitas sedang/toksikitas ringan. Pemberian ekstrak daun sungkai dosis 175-5000mg/kgBB pada hewan uji menyebabkan penurunan aktivitas gerak/motorik sehingga hewan uji lebih banyak tidur dan juga dapat meningkatkan nilai kreatinin serum hewan uji diatas normal. Pemberian ekstrak etanol daun sungkai dengan variasi dosis 175-5000mg/kgBB berpengaruh secara nyata terhadap gambaran kerusakan histologi ginjal hewan uji. Bagian ini diketik dengan font cambria 9, spasi 1, 6 pts after. Kesimpulan diketik dalam satu paragraf utuh dan tidak memuat saran.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada segenap staf laboratorium biomedik FKIK UNJA dan staf laboratorium Peternakan UNJA yang telah membantu selama proses penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ibrahim A, Kuncoro H. Identifikasi Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack.) Terhadap Beberapa Bakteri Patogen. *J Trop Pharm Chem.* 2012;2(1):8-18.
- Andriani F, Sundaryono A, Nurhamidah. Uji Aktivitas Antiplasmodium Fraksi n-heksana Daun *Peronema canescens* Terhadap *Mus musculus*. *Alotrop.* 2017;1(1):33-8.
- Fatwa LT. Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Pada Mencit Putih Jantan. In: skripsi. Jambi: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Jambi; 2020.
- Latief M, Tarigan IL, Sari PM, Aurora FE, Kimia PS, Jambi U, et al. Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Pada Mencit Putih Jantan Antihyperuricemia Activity of Ethanol Extract of Sungkai Leaves- (*Peronema canescens* Jack) in Male White Mice. *Farm Indones.* 2021;18(1):23-37.
- Eriadi A, Ifora, Alfiah S. Uji Toksisitas Sub Akut Ekstrak Etanol Daun Sembung (*Blumea balsamifera* L. DC) Terhadap Fungsi Hati Dan Ginjal Pada Mencit Putih Jantan. 2019;11(1):23-31.
- Depkes RI. Cara Pembuatan Simplisia. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1990.
- Depkes RI. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta: Dirjen. POM; 2000.
- BPOM RI. Pedoman Uji Toksisitas Nonklinis Secara In Vivo. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia; 2014.
- Widodo IP. Pengaruh Pemberian High Temperature Roasted Kopi Liberika (*Coffea liberica*) Terhadap Fisiologi dan Histologi Ginjal Mencit Putih Jantan (*Mus musculus* L.). In: skripsi. Jambi: Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Jambi; 2018.
- Nurdiniyah, Nazaruddin, Sugito, Salim MN, Fahrimal Y, Aisyah S. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Batang Jaloeh Terhadap Gambaran Mikroskopis Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinfeksi *Trypanosoma evansi*. *Med Vet.* 2015;9(2):88-92.
- Gunawan D, Mulyani S. Ilmu Obat Alam. Bogor: Penebar Swadaya; 2004.
- Fransisca D, Kahanjak DN, Frethernety A. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dengan metode difusi cakram Kirby-Bauer. *Pengelolaan Lingkungan Berkelanjutan (Journal Environ Sustain Manag.* 2020;4(1):460-70.
- Ardiansyah D, Farizal J, Irnamera D. Gambaran Kadar Kreatinin Darah Pada Pasien Penyakit Jantung Koroner Di Ruang ICCU RSUD dr. M. Yunus Provinsi Bengkulu. *Nurs Public Heal.* 2018;6(2):14-8.
- Alfonso AA, Mongan AE, Memah MF. Gambaran Kadar Kreatinin Serum Pada Pasien Penyakit Ginjal Kronik Stadium 5 Non- Dialisis. *J eBiomedik.* 2016;4(1):178-83.
- Arifin H, Alwi TI, Aisyahharma O, Juwita DA. Kajian Efek Analgetik dan Toksisitas Subakut Dari Ekstrak Etanol Daun Kitolod (*Isotoma longiflora* L.) Pada Mencit Putih Jantan. *Sains Farm dan Klin.* 2018;5(2):112-8.
- Nallakrishna IPA, Purwani STD, Arianti NP, Kardena IM, Sudiarta IW. Efek Pemberian Ekstrak Etanol Daun *Spondias Pinnata* Terhadap Berat Organ Ginjal Mencit Betina. *Farm Udaya.* 2015;4(2):33-6.
- Salah BA, Sadoon HS. Histopatologi and Some Biochemical Effects Of Platinum Drug On The Liver and Kidney Of Pregnant Mice *Mus musculus* and Their Embryos. *Iraqi J Vet Sci.* 2021;35(1):207-10.
- Aliah FN. Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Dengan Pemberian Bisphenol - A (BPA) Dosis Bertingkat Akut Secara Peroral. In: skripsi. Makasar: Universitas Hasanudin; 2017. p. 1-88.

19. Manullang DH, Sudira W, Berata K, Merdana M. Ekstrak Etanol Sarang Semut Menyebabkan Kerusakan Struktur Histologi Ginjal Mencit. *Bul Vet Udayana*. 2018;10(2):183-9.

Sitasi artikel ini: Melisa E, Muhaimin, Yuliawati, Sani KF. Uji Toksikitas Akut Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema cenescens* Jack) terhadap Fungsi Ginjal Mencit Putih Betina (*Mus musculus* Linn.). *MFF* 2022;26(1):32-37