

**PERBANDINGAN EFEKTIVITAS NEFROPROTEKTOR
EKSTRAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa*) DENGAN
EKSTRAK TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza*)
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI
GINJALTIKUS (*Rattus norvegicus*) YANG
DIINDUKSI PARASETAMOL**

SKRIPSI



Oleh :

**KARTIKA HANDAYANI
1608260029**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN
2020**

**PERBANDINGAN EFEKTIVITAS NEFROPROTEKTOR
EKSTRAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa*) DENGAN
EKSTRAK TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza*)
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI
GINJALTIKUS (*Rattus norvegicus*) YANG
DIINDUKSI PARASETAMOL**

**Diajukan Sebagai Syarat Untuk Memperoleh Kelulusan
Sarjana Kedokteran**



Oleh :

**KATIKA HANDAYANI
1608260029**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN
2020**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertandatangan dibawah ini menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber, baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Kartika Handayani

NPM : 1608260029

Judul Skripsi : **PERBANDINGAN EFEKTIVITAS NEFROPROTEKTOR EKSTRAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa*) DENGAN EKSTRAK TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS (*Rattus novergicus*) YANG DIINDUKSI PARASETAMOL**

Demikian pernyataan ini saya perbuat, untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Medan, 20 Februari 2020



Kartika Handayani



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI, PENELITIAN & PENGEMBANGAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Gedung Arca No. 53 Medan 20217 Telp. (061) 7350163 – 7333162 Ext. 20 Fax. (061) 7363488
Website : fk@umsu.ac.id E-mail : rektor@umsu.ac.id

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh:

Nama : Kartika Handayani

NPM : 1608260029

Judul : Perbandingan Efektivitas Nefroprotektor Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dengan Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus (*rattus novergicus*) yang Diinduksi Parasetamol.

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing,

(dr. Des Suryani, M.Biomed)

Penguji 1

(dr. Siti Mirhalina, Sp.PA)

Penguji 2

(dr. Yenita, M.Biomed)

Mengetahui,

Dekan FK-UMSU

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter
FK UMSU

Prof.dr.H.Gusbakti Rusipri, M.Sc,PKK,AIFM,AIFO-K
NIP/NIDN: 1957081719900611002/0017085703

dr.Hendra Sutysna, M.Biomed, AIFO-K
NIDN: 0109048203

Ditetapkan di : Medan

Tanggal : 20 Februari 2020

KATA PENGANTAR

Assalamu‘alaikum Wr.Wb.

Puji syukur saya ucapkan kepada Allah Subhanahu Wata‘ala karena berkat rahmatNya, saya dapat menyelesaikan skripsi ini dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran pada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Gusbakti Rusip, M.Sc., PKK.,AIFM-AIFO-K selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
2. dr. Hendra Sutysna, M.Biomed, AIFO-K selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter.
3. dr. Des Suryani, M.Biomed selaku dosen pembimbing, yang telah mengarahkan dan memberikan bimbingan, terutama selama penelitian dan penyelesaian skripsi ini.
4. dr. Siti Mirhalina Hasibuan, Sp.PA yang telah bersedia menjadi dosen penguji satu dan memberi banyak masukan untuk penyelesaian skripsi ini.
5. dr. Yenita, M.Biomed yang telah bersedia menjadi dosen penguji dua dan memberi banyak masukan untuk penyelesaian skripsi ini.
6. dr. Humairah Medina Liza Lubis, M.Ked(PA).,Sp.PA yang telah membantu saya dalam penyelesaian skripsi ini.
7. Orangtua dan keluarga tercinta, Ayahanda Drs. H. Sulaiman, M.Si, Ibunda Ibu Hj. Jummaidar, S.Pd.SD, Jecklin Muhammad Dhewana, Charisma Yani Roza, dan Fadhilah Hamisya Putra yang telah memberi doa, kasih sayang yang luar biasa dan dukungan material maupun moral.
8. Seluruh laboran dan staf pekerja di FK UMSU yang telah banyak membantu selama berlangsungnya penelitian.

9. Sejawat Risfa Indrisevani, Titin Nurjannah, Ainul Mardiyah, Fadhillah Qudsi Ramadhani, Charunna Amalia dan seluruh angkatan 2016 yang telah saling membantu dan memberikan dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini.

Akhir kata, saya berharap Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Medan, 20 Februari 2020

Penulis

Kartika Handayani

**PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara,
Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Kartika Handayani
NPM : 1608260029
Fakultas : Fakultas Kedokteran

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara Hak Bebas Royalti Noneksklusif atas skripsi saya yang berjudul :

Perbandingan Efektivitas Nefroprotector Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dengan Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus (*Rattus novergicus*) yang Diinduksi Parasetamol

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Medan

Pada tanggal : 20 Februari 2020

Yang menyatakan,

(Kartika Handayani)

ABSTRAK

Latar belakang: Penggunaan parasetamol dosis berlebih dapat menyebabkan nefrotoksik. Jintan hitam dan temulawak mengandung antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas hasil metabolisme parasetamol. **Tujuan:** Membandingkan efektivitas nefroprotektor ekstrak jintan hitam dan ekstrak temulawak pada gambaran histopatologi ginjal tikus diinduksi parasetamol. **Metode:** *True experimental*, rancangan *Post Test Only Control Design*. 24 ekor tikus dibagi dalam 4 kelompok: kontrol negatif diet pakan standar dan *aquades*, kelompok positif parasetamol dosis 500 mg/kgBB, perlakuan 1 ekstrak jintan hitam dosis 500 mg/kgBB, dan perlakuan 2 ekstrak temulawak dosis 500 mg/kgBB. Setelah 30 menit P1 dan P2 diberi parasetamol dosis 500 mg/KgBB. Tikus dibedah untuk diambil ginjal dan dibuat preparat histopatologinya. Derajat degenerasi, nekrosis dan perdarahan dari tubulus proksimal dinilai dengan skoring, perbandingan skoring antar kelompok dinilai dengan uji *kruskal wallis*. **Hasil:** Terdapat efek nefroprotektor jintan hitam dan temulawak, dengan efektivitas yang sama terhadap kerusakan ginjal yang diinduksi parasetamol. **Kesimpulan:** Jintan hitam bisa dikembangkan lebih lanjut sebagai nefroprotektor.

Kata kunci : Ekstrak jintan hitam, ekstrak temulawak, nefroprotektor, parasetamol

ABSTRACT

Background: Over-use of paracetamol can cause nephrotoxicity. Black cumin and curcuma contain antioxidants that can ward off free radicals produced by paracetamol metabolism. **Objective:** To compare the effectiveness of nephroprotector of black cumin extract and curcuma extract on the histopathological picture of rats induced by paracetamol. **Method:** True experimental, Post Test Only Control Design. 24 rats were divided into 4 groups: negative control standard diet and aquades, positive group paracetamol dose 500 mg / kgBB, treatment 1 extract of black cumin extract 500 mg / kgBB, and treatment 2 curcuma extract 500 mg / kgBB. After 30 minutes P1 and P2 were given a dose of paracetamol 500 mg / kg. Rats were dissected for kidney removal and histopathological preparations were made. Degeneration, necrosis and bleeding of the proximal tubules were assessed by scoring, comparison of scores between groups was assessed by the kruskal wallis test. **Results:** There were nephroprotector effects of black cumin and curcuma, with the same effectiveness on kidney damage induced by paracetamol. **Conclusion:** Black cumin can be developed further as a nephroprotector.

Keywords : *Black cumin extract, curcuma extract, nephroprotector, paracetamol*

DAFTAR ISI

Halaman

| | |
|---|-------------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS..... | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN..... | iii |
| KATA PENGANTAR..... | iv |
| PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI..... | vi |
| ABSTRAK | viii |
| DAFTAR ISI..... | ix |
| DAFTAR TABEL..... | xii |
| DAFTAR GAMBAR..... | xiii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiv |
| BAB 1 PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Perumusan Masalah | 4 |
| 1.3 Hipotesa..... | 4 |
| 1.4 Tujuan Penelitian | 5 |
| 1.4.1 Tujuan umum | 5 |
| 1.4.2 Tujuan khusus..... | 5 |
| 1.5 Manfaat Penelitian | 5 |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA..... | 7 |
| 2.1 Ginjal..... | 7 |
| 2.1.1 Anatomi ginjal..... | 7 |
| 2.1.2 Histologi ginjal | 9 |
| 2.1.3 Fisiologi ginjal..... | 11 |
| 2.2 Parasetamol | 12 |
| 2.2.1 Definisi dan fungsi parasetamol..... | 12 |
| 2.2.2 Dosis terapi parasetamol | 13 |
| 2.2.3 Struktur kimia parasetamol..... | 13 |
| 2.2.4 Farmakokinetik parasetamol | 14 |
| 2.2.5 Farmakodinamik parasetamol | 14 |
| 2.2.6 Pengaruh parasetamol dosis toksik terhadap kerusakan ginjal | 15 |

| | |
|--|-----------|
| 2.3 Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>) | 17 |
| 2.4 Temulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza</i>)..... | 21 |
| 2.5 Ekstrak..... | 24 |
| 2.6 Kerangka Teori..... | 27 |
| 2.7 Kerangka Konsep | 28 |
| | |
| BAB 3 METODE PENELITIAN | 29 |
| 3.1 Definisi Operasional..... | 29 |
| 3.2 Jenis Penelitian..... | 30 |
| 3.3 Waktu dan Tempat Penelitian | 30 |
| 3.3.1 Waktu penelitian..... | 30 |
| 3.3.2 Tempat penelitian | 30 |
| 3.4 Populasi dan Sampel Penelitian | 31 |
| 3.4.1 Populasi penelitian | 31 |
| 3.4.2 Sampel penelitian | 31 |
| 3.4.3 Besar sampel..... | 32 |
| 3.5 Teknik Pengumpulan Data | 32 |
| 3.5.1 Persiapan ekstrak..... | 32 |
| 3.5.2 Pembagian kelompok penelitian | 33 |
| 3.5.3 Prosedur penelitian | 33 |
| 3.6 Pengolahan Data dan Analisis Data | 43 |
| 3.6.1 Pengolahan data..... | 43 |
| 3.6.2 Analisis data | 44 |
| 3.7 Alur Penelitian | 45 |
| | |
| BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN | 46 |
| 4.1 Hasil Penelitian | 46 |
| 4.1.1 Uji fitokimia | 46 |
| 4.1.2 Gambar histopatologi ginjal | 48 |
| 4.2 Analisa Data | 49 |
| 4.3 Pembahasan..... | 51 |
| 4.3.1 Uji fitokimia | 51 |
| 4.3.2 Pembahasan hasil pengamatan histopatologi ginjal | 52 |
| 4.3.3 Pembahasan mengenai analisa data..... | 55 |
| | |
| 4.4 Keterbatasan Penelitian..... | 60 |
| BAB 5 KESIMPULAN DANJ SARAN | 61 |

| | |
|-----------------------------|-----------|
| 5.1 Kesimpulan | 61 |
| 5.2 Saran..... | 61 |
| DAFTAR PUSTAKA | 62 |
| LAMPIRAN..... | 67 |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|--|---------|
| Tabel 3. 1 Definisi Operasional | 29 |
| Tabel 3. 2 Waktu Penelitian | 30 |
| Tabel 4. 1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>)..... | 46 |
| Tabel 4. 2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Temulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza</i>) | 47 |
| Tabel 4. 3 Hasil Skoring..... | 49 |
| Tabel 4. 4 Uji <i>Kruskal-Wallis</i> | 49 |
| Tabel 4.5 Uji <i>Mann-Whitney</i> | 50 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|--|---------|
| Gambar 2.1 Letak Ginjal..... | 8 |
| Gambar 2.2 Bagian-bagian dari Ginjal | 9 |
| Gambar 2.3 Histologi Ginjal | 11 |
| Gambar 2.4 Struktur kimia analgesik - turunan anilin..... | 14 |
| Gambar 2.5 Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>) | 18 |
| Gambar 2.6 Thymoquinone | 20 |
| Gambar 2.7 Temmulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza</i>)..... | 22 |
| Gambar 2. 8 Struktur Kimia Kurkumin | 23 |
| Gambar 2. 9 Struktur Kimia <i>Xanthorrhizol</i> | 24 |
| Gambar 2.10 Kerangka Teori..... | 27 |
| Gambar 2.11 Kerangka Konsep | 28 |
| Gambar 3. 1 Alur Penelitian Perlakuan..... | 39 |
| Gambar 3.2 Alur Penelitian..... | 45 |
| Gambar 4. 1 | 48 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|--|---------|
| Lampiran 1. Perhitungan Dosis..... | 67 |
| Lampiran 2. Data Skoring Pengamatan | 68 |
| Lampiran 3. <i>Ethical Clearence</i> | 69 |
| Lampiran 4. Surat Izin Penelitian..... | 70 |
| Lampiran 5. Uji Fitokimia..... | 71 |
| Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian..... | 71 |
| Lampiran 7. Hasil Uji Statistik..... | 74 |
| Lampiran 8. Daftar Riwayat Hidup..... | 78 |
| Lampiran 9. Artikel Penelitian..... | 79 |

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Acetaminophen (N-acetyl-p-aminophenol, APAP), yang dikenal sebagai parasetamol, adalah analgesik dan antipiretik yang paling umum digunakan sebagai obat penghilang rasa sakit dan demam. Parasetamol adalah obat bebas, sehingga penggunaannya oleh masyarakat bisa tidak terkontrol, parasetamol yang digunakan dengan dosis berlebih dapat menyebabkan efek nefrotoksik.¹ Karena tergolong obat bebas dan mudah didapat, kejadian overdosis obat baik sengaja atau tidak sengaja sering terjadi. Penggunaan parasetamol yang tidak terkontrol dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan semakin tingginya metabolit toksik yang diproduksi.²

Ginjal adalah organ penting yang mengatur banyak fungsi penting dalam tubuh seperti membersihkan darah, menjaga keseimbangan kimia, dan menghilangkan sisa metabolisme dari tubuh. Ginjal merupakan organ ekskresi terpenting yang rentan terhadap efek toksisitas obat-obatan karena perannya dalam pembersihan zat beracun. Nefrotoksitas adalah masalah utama yang menyebabkan *acute kidney injury* (AKI) dengan tingkat kejadian 60%.³ Dan survei menunjukkan sekitar 9% penggunaan parasetamol yang berlebihan atau jangka panjang penyebab terjadinya cedera ginjal akut.⁴

Parasetamol dimetabolisme di hepar oleh enzim mikrosomal dan dimetabolisme secara parsial. Hasil metabolismenya berupa asetaminofen sulfat dan glukoronat, namun kurang dari 5% dieksresikan berupa metabolit aktif yaitu N-acetyl-para-benzoquinonimine (NAPQI). Keterbatasan kemampuan hepar pada kasus overdosis parasetamol, baik akut maupun kronis dapat menyebabkan penimbunan NAPQI. NAPQI merupakan suatu radikal bebas yang dapat berinteraksi dengan komponen seluler mengakibatkan sel nekrosis yang dapat merusak fungsi hati dan ginjal pada manusia maupun hewan, sehingga bersifat hepatotoksik maupun nefrotoksik.^{2,5,6} Parasetamol dapat menginduksi kerusakan ginjal pada tikus.⁷ Sebagian besar penelitian menggunakan dosis tunggal parasetamol dalam kisaran 600 mg/kg hingga 2000 mg/kg yang diberikan secara oral atau intraperitoneal (IP) untuk menginduksi terjadinya toksisitas.⁸⁻¹⁰ Nefrotoksitas juga dapat diinduksi dengan memberikan dosis yang lebih rendah kisaran 200 mg/kg hingga 500 mg/kg tetapi berulang.^{1,2,7} Dosis harian yang diulang 500 mg/kg parasetamol selama 7 hari dengan rute oral dapat menginduksi kerusakan pada tubulus proksimal dan inflamasi pada sel podosit serta mesangial glomerulus. Kerusakan pada tubulus berupa nekrosis, vakuolisasi, degenerasi epitel, penyusutan inti, ekstrasvasasi sel darah merah dan penyempitan pembuluh darah di interstisium dari korteks ginjal.¹¹

Jintan hitam (*Nigella sativa*) merupakan tanaman obat yang termasuk dalam famili *Ranunculaceae*. Diketahui bahwa Nabi Muhammad SAW dalam hadisnya yang diriwayatkan oleh Abdullah bin Muhammad bin Abi Syaibah Ibrahim bin „Utsman menyatakan jintan hitam (*Habbatussauda*, *Nigella sativa*)

mengandung semua jenis perbaikan kecuali kematian.¹² Penggunaan jintan hitam sebelumnya juga telah disebutkan oleh Ibnu-Sina (980-1037).³

Jintan hitam diketahui mempunyai efek farmakologis seperti immunomodulator, analgesik, antimikroba, antiinflamasi, spasmolitik, bronkodilator, hepatoprotektif, renoprotektif, gastroprotektif dan antidiabetik. Jintan hitam mempunyai sifat antioksidan dan memiliki senyawa aktif paling penting yaitu thymoquinone (30–48%), thymohydroquinone, dithymoquinone, p-cymene, carvacrol, α -pinene, thymol, quercetin, kaempferol dan quercetin-3.^{10,13} Sebagian besar tindakan perlindungan ini dikaitkan dengan anti-oksidan dan anti-inflamasi yang dimiliki oleh thymoquinone. Berbagai penelitian telah membuktikan efek nefroprotektif jintan hitam namun dosisnya dan ekstraknya yang digunakan dari berbagai penelitian masih bervariasi, dalam kisaran 50 mg/kgBB hingga 1000 mg/kgBB.^{10,14,15} Dan penelitian terbaru menyatakan pemberian minyak biji jintan hitam dosis 2 ml/kgBB/hari selama 7 hari menunjukkan efek sedang terhadap perubahan gambaran histopatologis ginjal yang diinduksi vankomisin.¹⁶

Selain jintan hitam bahan alami yang banyak digunakan masyarakat secara empiris adalah temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) yang merupakan tanaman asli yang tumbuh di Indonesia. Bagian tanaman ini yang sering digunakan adalah rimpang yang mengandung berbagai komponen aktif diantaranya adalah kurkumin.¹⁷ Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kurkumin memiliki aktivitas antioksidan dan bersifat nefroprotektor.^{18–20} Antioksidan alami yang dimiliki kurkumin ini dapat didefinisikan sebagai phytochemical yang mampu menangkal

efek merusak dari proses fisiologis oksidatif yang terjadi dalam jaringan.²¹ Klarissa menyatakan bahwa antioksidan ekstrak temulawak yang diberikan secara oral dengan dosis 1600 mg/kgBB pada tikus selama 7 hari dapat mengurangi kerusakan sel ginjal tikus yang diinduksi parasetamol. Hal ini dikarenakan peranan kurkumin dapat menangkal radikal bebas oleh penimbunan NAPQI akibat overdosis parasetamol.¹⁹

Berdasarkan hal tersebut, kedua bahan alami yaitu ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) sama-sama memiliki antioksidan yang berperan sebagai nefroprotektor, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang perbandingan efektivitas nefroprotektor jintan hitam dan temulawak.

1.2 Perumusan Masalah

Bagaimana perbandingan efek pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dengan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) sebagai nefroprotektor terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus yang diinduksi parasetamol ?

1.3 Hipotesa

H₀ : Ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) tidak memiliki perbedaan efektivitas sebagai nefroprotektor dibandingkan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dilihat dari gambaran histopatologi ginjal tikus yang diinduksi parasetamol.

Ha : Ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) lebih efektif sebagai nefroprotektor dibandingkan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dilihat dari gambaran histopatologi ginjal tikus yang diinduksi parasetamol.

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Tujuan penelitian ini adalah membandingkan efektivitas pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) sebagai nefroprotektor terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus yang diinduksi parasetamol.

1.4.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui ada tidaknya perbandingan efek proteksi pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) pada gambaran histopatologi jaringan ginjal pada tikus yang diinduksi parasetamol.
2. Untuk mengetahui skoring derajat luas kerusakan pada daerah korteks ginjal yang mengalami degenerasi tubulus, nekrosis sel tubulus, perdarahan, inti yang mengalami piknotik inti (penyusutan inti), dan limfosit pada glomerulus.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dan wawasan tentang perbandingan manfaat dari pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) sebagai nefroprotektor pada tikus

yang diinduksi parasetamol dan sebagai data serta informasi untuk penelitian pengembangan herbal ini ketingkat klinikal trial.

BAB 2

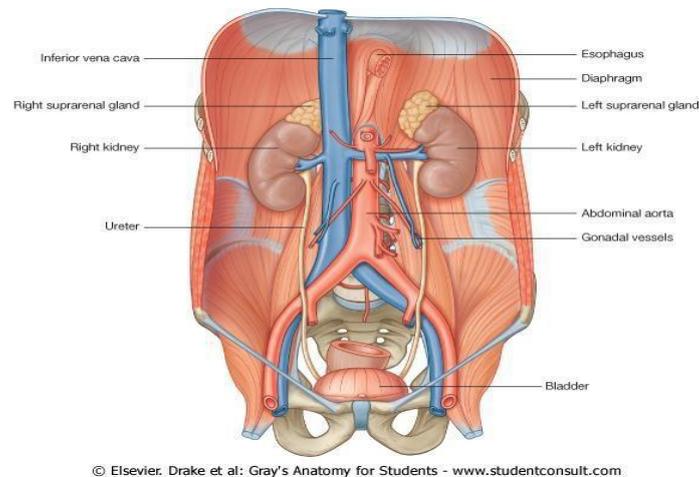
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ginjal

2.1.1 Anatomi Ginjal

Ginjal (*ren, nephros*) merupakan bagian dari *systema urinarium* yang terletak di dalam ruang retroperitoneum. Kedua ginjal berwarna coklat kemerahan dan mempunyai facies anterior dan facies posterior, margo medialis dan margo lateralis, serta polus superior dan polus inferior.²² Pada margo medialis, terdapat celah vertikal yang dibatasi oleh pinggir-pinggir substansi ginjal yang tebal dan disebut hilus renalis. Hilus renalis meluas ke rongga yang besar disebut sinus renalis. Hilus renalis dilalui dari depan ke belakang oleh vena renalis, dua cabang arteri renalis, ureter, dan cabang ketiga arteri renalis.²³

Ginjal kanan dan kiri berbentuk seperti kacang, ukuran ginjal dapat bervariasi dengan panjang ginjal sekitar 10-12 cm, lebar 5 cm, dan tebal 2,5 cm.²⁴ Ginjal kiri biasanya lebih besar dan panjang dibandingkan ginjal.²² Ginjal kanan terletak sedikit lebih rendah dibandingkan ginjal kiri, karena adanya lobus hepatis kanan yang besar.²³

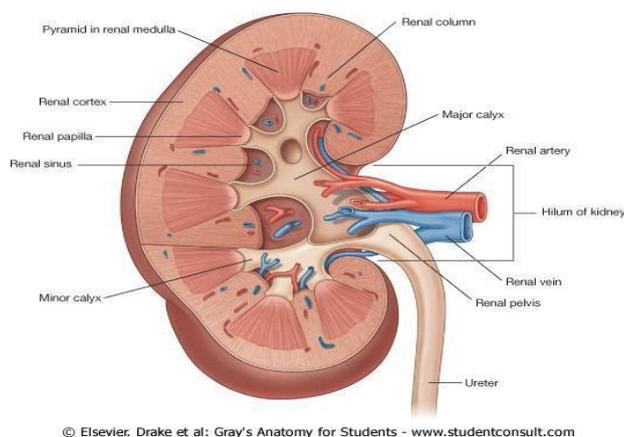


Gambar 2.1 Letak Ginjal²⁵

Masing-masing ginjal mempunyai korteks renalis di bagian luar, yang berwarna coklat gelap, dan medula renalis di bagian dalam yang lebih terang.²³ Medula renalis manusia terdiri atas 8-15 struktur kerucut yang disebut piramida renal, semua dengan dasar yang bertemu korteks (di pertemuan kortikomedularis) dan terpisah satu sama lain oleh perluasan korteks yang disebut kolumna renalis.²² Sinus renalis merupakan ruangan di dalam hilus renalis, berisi pelebaran ke atas dari ureter, disebut pelvis renalis, pelvis renalis terbagi menjadi dua atau tiga calices renalis majores, yang masing-masing akan bercabang menjadi dua atau tiga calices renales minores. Setiap calyx minor diinvaginasi oleh apex pyramidis renalis yang disebut papilla renalis.²³

Aliran darah pada ginjal berasal dari arteria renalis yang berasal dari aorta abdominalis yang dipercabangkan setinggi vertebrae lumbales II.²³ Setiap arteria renalis akan bercabang menjadi lima buah arteria segmentalis di dekat hilum renale. Vena renalis terdapat dalam sinus renalis. Pada daerah hilum renale, vena renalis terletak di sebelah depan, ureter di belakang, dan arteria renalis terletak

diantaranya.²² Vena renalis keluar dari hilus dan bermuara ke vena cava inferior.²³ Sistem pada arteri ginjal adalah *end arteries* yang berarti arteri yang tidak mempunyai anastomosis dengan cabang-cabang dari arteri lain, sehingga bila terdapat kerusakan pada salah satu cabang arteri ini, dapat menyebabkan timbulnya iskemia/nekrosis pada daerah yang diperdarahinya.²²



© Elsevier. Drake et al: Gray's Anatomy for Students - www.studentconsult.com

Gambar 2.2 Bagian-bagian dari Ginjal²⁵

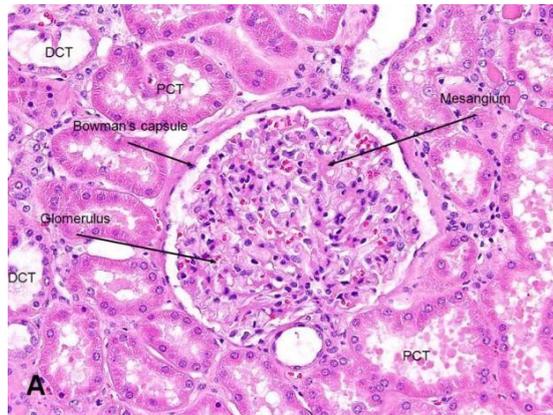
2.1.2 Histologi Ginjal

Masing-masing ginjal mengandung 1-4 juta unit fungsional yang disebut nefron, masing-masing terdiri atas sebuah korpuskel dan sebuah tubulus renalis panjang berepitel selapis, dengan tiga bagian utama.²⁶ Bagian utama nefron adalah yaitu:

1. **Korpuskel renalis**, bagian awal yang melebar dan membungkus seberkas lengkungan kapiler dan merupakan tempat filtrasi darah, selalu terletak di korteks.²⁶ Terdiri dari glomerulus dan kapsul glomerulus (Bowman).²⁷
2. **Tubulus kontortus proksimalis**, tubulus yang berkelok dan panjang ini memenuhi sebagian besar korteks. Sel tubulus kontortus proksimal di

khususkan untuk reabsorpsi dan sekresi.²⁶ Tubulus kontortus proksimal memperlihatkan lumen kecil tidak rata dan satu lapisan sel kuboid dengan sitoplasma bergranula dan eosinofilik.²⁷

3. **Ansa Henle** (lengkung henle), Ansa henle merupakan bangunan berbentuk U dengan segmen desenden tipis dan segmen asendens tipis, keduanya terdiri atas epitel selapis gepeng.²⁶
4. **Tubulus kontortur distalis dan aparatus jukstaglomerularis**, tubulus kontortus distal lebih pendek dan jumlahnya lebih sedikit di korteks. Tubulus kontortus distal juga memperlihatkan lumen yang lebih besar dengan sel kuboid yang lebih kecil dan tidak terdapat *brush border* di sel.²⁷ Pada bagian tubulus distal awal lurus yang berkontak dengan arterioli pada kutub vaskular korpuskel renalis dari nefron lainnya, sel-sel menjadi lebih silindris dan berhimpit padat, membentuk makula densa. Struktur ini merupakan bagian struktur sensoris khusus, yaitu aparatus jukstaglomerularis (JGA) yang memanfaatkan mekanisme umpan balik untuk mengatur aliran darah glomerulus dan menjaga agar laju filtrasi glomerulus relatif konstan.²⁶
5. **Duktus Koligens**, bagian terakhir setiap nefron, tubulus penghubung membawa filtrat ke dalam sistem pengumpul yang membawanya ke kaliks minor, tempat lebih banyak air yang di serap kembali oleh tubuh.²⁶ Tubulus koligens dilapisi oleh sel epitel kuboid dengan diameter tubulus sekitar 40 μm .²⁷



Gambar 2.3 Histologi Ginjal²⁸

2.1.3 Fisiologi Ginjal

Ginjal, bekerja sama dengan masukan hormon dan saraf yang mengontrol fungsinya, adalah organ yang terutama berperan dalam mempertahankan stabilitas volume, komposisi elektrolit, dan osmolaritas (konsentrasi solut) cairan ekstraselular. Dengan menyesuaikan jumlah air dan berbagai konstituen plasma yang dipertahankan di tubuh atau dikeluarkan di urine, ginjal dapat mempertahankan keseimbangan air dan elektrolit dalam kisaran yang sangat sempit yang memungkinkan kehidupan, meskipun pemasukan dan pengeluaran konstituen-konstituen ini melalui cara lain sangat bervariasi.²⁹ Semua fungsi utama ginjal yaitu pembuangan limbah metabolik dan kelebihan air dan elektrolit dari darah dilakukan oleh berbagai sel epitel khusus nefron dan sistem koligens. Fungsi ginjal mencakup tiga aktivitas spesifik :

1. Filtrasi, yaitu proses masuknya air dan bahan terlarut dalam darah meninggalkan celah vaskular dan memasuki lumen nefron.

2. Sekresi tubular, yaitu proses perpindahan substansi dari sel epitel tubulus ke dalam lumen, biasanya terjadi setelah penyerapan substansi dari interstisium sekitar dan kapiler.
3. Reabsorpsi tubular, yaitu proses perpindahan substansi dari lumen tubular menembus epitel ke dalam interstisium dan kapiler sekitar.²⁶

Selain peran regulatorik penting ginjal dalam mempertahankan keseimbangan cairan dan elektrolit, ginjal juga merupakan rute utama untuk mengeluarkan bahan-bahan sisa metabolik yang berpotensi toksik dan senyawa asing dari tubuh. Urea, kreatinin, bilirubin dan asam urat, dari protein, otot, metabolisme hemoglobin dan asam nukleat, semuanya diekskresikan dalam urin. Obat yang larut dalam air umumnya diekskresikan melalui urin. Bahan sisa ini tidak dapat dikeluarkan sebagai zat padat: bahan-bahan tersebut harus dikeluarkan dalam bentuk larutan sehingga ginjal wajib menghasilkan paling sedikit 500 ml urine berisi bahan sisa per harinya.²⁹

2.2 Parasetamol

2.2.1 Definisi dan Fungsi Parasetamol

Parasetamol (asetaminofen) adalah salah satu obat analgesik-antipiretik yang paling banyak digunakan secara umum di seluruh dunia, dan di sebagian besar negara obat ini tersedia tanpa resep.¹⁰ Asetaminofen (parasetamol) merupakan metabolit fenasetin dengan efek antipiretik yang telah digunakan sejak tahun 1893. Efek antipiretik ditimbulkan oleh gugus aminobenzen.³⁰

Parasetamol sudah menduduki sebagai obat analgesik dalam tangga WHO dan digunakan untuk perawatan berbabagi rasa nyeri dengan intensitas sedang, parasetamol sebagai analgesik lemah bersama dengan obat analgesik nonsteroid atau coanalgesik adalah analgesik non-opioid dasar (langkah pertama penggunaan analgesik). Penggunaan kombinasi parasetamol dengan analgesik lemah lainnya (misalnya tramadol) atau analgesik kuat (misalnya morfin, phentanyl) dapat digunakan untuk rasa nyeri yang lebih berat. Parasetamol juga direkomendasikan sebagai analgesik oral pilihan pertama untuk penggunaan jangka panjang misalnya dalam perawatan gejala ringan dan nyeri sedang pada osteoarthritis, nyeri otot atau tendon.³¹

2.2.2 Dosis Terapi Parasetamol

Dosis parasetamol untuk dewasa 300 mg – 1 g per kali dengan dosis maksimum 4 g per hari. Untuk anak 6-12 tahun: 150-300 mg/kali dengan dosis maksimum 1,2 gr/hari. Untuk anak 1-6 tahun: 60-120 mg/kali dan bayi dibawah 1 tahun: 60 mg/kali pada keduanya diberikan maksimum 6 kali sehari.³⁰ Penggunaan parasetamol pada anak membutuhkan perhatian khusus dan pemberian dosis yang adekuat (berdasarkan usia), yang berbeda secara signifikan dari standar orang dewasa. Dosis yang dianjurkan untuk anak-anak mempertimbangkan metabolisme parasetamol, yang menentukan toksisitas obat, terutama hepatotoksitas.³¹

2.2.3 Struktur Kimia Parasetamol

Parasetamol (nama internasional yang digunakan di Eropa) dan asetaminofen (nama internasional digunakan di AS) adalah dua nama resmi yang

dengan mekanisme yang diduga juga berdasarkan efek sentral seperti salisilat. Efek anti-inflamasinya sangat lemah, oleh karena itu tidak digunakan sebagai antireumatik. Parasetamol merupakan penghambat biosintesis prostaglandin yang lemah. Efek iritasi, erosi dan perdarahan lambung tidak terlihat pada kedua obat ini, demikian juga gangguan pernapasan dan keseimbangan asam basa.³⁰

2.2.6 Pengaruh Parasetamol Dosis Toksik terhadap Kerusakan Ginjal

Parasetamol sebagai penginduksi terjadinya nefrotoksisitas dapat menggabungkan beberapa jalur molekuler apoptosis termasuk pengangkatan molekul protektif intraseluler dan aktivasi kaspase. Meskipun parasetamol tidak mengubah ekspresi mRNA (*messenger-Ribose Nucleid Acid*) pada gen Bcl-xL antiapoptotik, namun dapat menurunkan protein Bcl-xL, yang berarti dapat meningkatkan aktivitas apoptosis. Parasetamol juga menginduksi stres retikulum endoplasma pada glomeruli ginjal, yang menyebabkan stres oksidatif dan inflamasi pada sel podosit serta mesangial glomerulus. Senyawa ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang merupakan hasil dari metabolisme parasetamol, juga dapat menyebabkan kerusakan glomerulus yang dimulai dengan infiltrasi leukosit. Salah satu efek merugikan overdosis parasetamol adalah nekrosis tubular ginjal.³²

Toksisitas utama dari parasetamol adalah hasil dari metabolisme di hati dan jaringan ekstrahepatik. Dalam rentang dosis terapi, ada tiga mekanisme metabolisme parasetamol di hepar oleh hepatosit yaitu melalui mekanisme *glucuronidation* dikatalisasi oleh enzim UGTs (*UDP glucuronosyltransferase*) menjadi APAP (*acetyl-para-aminophenol*)-*gluc* (52%-57%), melalui mekanisme *sulfation* oleh sulfotransferase menjadi APAP *sulfate* (APAP-SO₄) sekitar 30%-

44%, kedua metabolit tersebut terbentuk di hepatosit lalu diekskresikan melalui urin. Dan sekitar 5%-10% APAP dioksidasi oleh sistem enzim P-450 mikrosomal hati menjadi metabolit aktif, *N-acetyl-p-benzoquinoneimine* (NAPQI) diekskresikan melalui urin dan kurang dari 5% diekskresikan dalam bentuk tidak berubah.³³ Di dalam ginjal aktivitas terbesar sistem sitokrom P-450 ditemukan di korteks ginjal, dan terutama di tubulus proksimal dan hanya sedikit di glomerulus, tubulus distal dan duktus koligens. Di sisi lain, karena aktivitas penyerapan dan sekresi di proksimal tubulus, membuat konsentrasi metabolik toksik lebih banyak daripada bagian lain. Sehingga nefrotoksisitas APAP dimanifestasikan sebagai nekrosis tubular proksimal karena aktivitas metabolisme intensif di dalamnya.⁸

Ada beberapa mekanisme potensial toksisitas ginjal yaitu mekanisme yang mendasari melibatkan jalur sitokrom P-450, *enzym prostaglandin synthetase* dan *N-acetylglucosamine deacetylase*. Yang paling memungkinkan mekanisme nefrotoksisitas yang diinduksi APAP melibatkan metabolit toksik reaktif *N-asetil-p-benzoquinonimin* (NAPQI), yang dibentuk oleh aktivitas sitokrom P-450. Metabolit pengoksidasi NAPQI menjadi sasaran reduksi satu elektron dan kemudian dioksidasi ulang selama metabolisme sel, dan proses ini digabungkan dengan pembentukan superoksida. Dengan dosis terapi APAP, jumlah NAPQI yang terbentuk relatif kecil, dan NAPQI yang terbentuk didetoksifikasi oleh ikatan secara kovalen dengan *glutathione* (GSH) antioxidative and antiapoptotic effects. Di samping itu, overdosis APAP akan menyebabkan akumulasi NAPQI yang berlebihan mengakibatkan kehilangan GSH seluler, NAPQI juga menstimulasi pembentukan molekul ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang akan

bereaksi dengan protein seluler serta memicu peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid merupakan mekanisme penting dalam proses kerusakan sel pada suatu organ oleh parasetamol. Peningkatan peroksidasi lipid ditandai dengan naiknya kadar metildiadehid (MDA) yang merupakan senyawa penanda stres oksidatif yang selanjutnya menyebabkan cedera ginjal.¹⁰

N-deacetylase mengoksidasi N-acetyl-p-animophenol atau parasetamol menjadi p-aminophenol (PAP) suatu metabolit utama parasetamol dalam urin. PAP mengalami autooksidasi menjadi p-benzoquinone (PBQI) suatu metabolit sangat reaktif. PBQI berikatan dengan GSH menimbulkan efek sitotoksik merusak tubulus proksimal renal. PAP juga berdifusi dengan cara transport pasif ke dalam sel tubulus menimbulkan efek nefrotoksik. Pemberian parasetamol dosis toksik menunjukkan cedera seluler primer pada tubulus proksimal dan penurunan bermakna filtrasi glomerulus.³³

2.3 Jintan Hitam (*Nigella sativa*)

Jintan Hitam (*Nigella sativa*) berdasarkan taksonominya diklasifikasikan sebagai berikut:³⁴

| | |
|------------|------------------------------------|
| Kingdom | : <i>Plantae</i> |
| Subkingdom | : <i>Traceablonta</i> |
| Divisi | : <i>Spermatophyta</i> |
| Subdivisi | : <i>Magnoliophyta</i> |
| Kelas | : <i>Magnoliopsida dicotyledon</i> |

| | |
|----------|------------------------------|
| Subkelas | : <i>Magnolidae</i> |
| Ordo | : <i>Ranunculales</i> |
| Famili | : <i>Ranunculaceae</i> |
| Genus | : <i>Nigella Linn</i> |
| Spesies | : <i>Nigella Sativa Linn</i> |

Jintan hitam (*Nigella sativa*) adalah tanaman kecil (setinggi 20 hingga 90 cm) yang mempunyai daun hijau lentik dan bunga putih, kuning, merah muda bunga biru pucat atau keunguan dengan 5-10 kelopak. Buah matang dari jintan hitam (kapsul: 3-7 folikel bersatu) mengandung banyak biji kecil jintan hitam, berwarna hitam pekat.³⁴ Biji jintan hitam termasuk golongan biji berkeping dua (*dicotyledone*). Biji berbentuk lonjong yang memiliki panjang mulai dari 2.5-3.5 mm dan lebar 1.5-2 mm. Tanaman ini memiliki batang berwarna hijau, bulat, berbulu dengan diameter 2-5 mm.³⁵ Bentuk daunnya bulat telur berujung lancip. Di bagian permukaan daunnya terdapat bulu halus. Daunnya kadang-kadang tunggal atau bisa juga majemuk dengan posisi tersebar atau berhadapan.³⁴

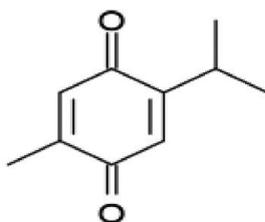


Gambar 2.5 Jintan Hitam (*Nigella sativa*)³⁶

Jintan hitam (*Nigella sativa*) adalah tanaman berbunga tahunan dari famili *Ranunculaceae* dan merupakan tanaman asli Eropa Selatan, Afrika Utara, dan Asia Barat Daya. Jintan hitam memiliki rasa dan aroma pahit yang menyengat digunakan sebagai bumbu masakan India dan Timur Tengah. Jintan hitam memiliki sejarah panjang dalam cerita rakyat peradaban India dan Arab sebagai makanan dan obat-obatan. Jintan hitam (*Nigella sativa*) telah banyak digunakan sebagai pengobatan karena memiliki potensi terapeutik dan memiliki spektrum yang luas dari kegiatan, yaitu, diuretik, antihipertensi, antidiabetes, antikanker, imun-modulator, antimikroba, antelmintik, analgesik dan antiinflamasi, spasmolitik, bronkodilator, sifat perlindungan gastroprotektif, hepatoprotektif, dan nefroprotektor.³⁷

Jintan hitam mengandung protein (26,7%), lemak (28,5%), karbohidrat (24,9%), serat kasar (8,4%), dan total ash (4,8%). Jintan hitam juga mengandung banyak vitamin dan mineral seperti Cu, P, Zn, dan Fe. Senyawa aktif paling penting dari jintan hitam (*Nigella sativa*) adalah thymoquinone (TQ) (30% -48%), thymohydroquinone, dithymoquinone (nigellone), p-cymene (7% -15%), carvacrol (6% -12%), 4-terpineol (2% -7%), t-anethole (1% -4%), sesquiterpene longifolene (1% -8%), α -pinene, dan timol. Jintan hitam (*Nigella sativa*) juga mengandung senyawa lain seperti carvone, limonene, citronellol dan dua jenis alkaloid, yaitu isoquinoline alkaloid (mis. Nigellicimine dan nigellicimine-N-oxide) dan pirazol alkaloid (mis. Nigellidine dan nigellicine). Sifat farmakologis dari jintan hitam terutama disebabkan oleh konstituen kina, TQ menjadi yang paling berperan. Jintan hitam mengandung minyak lemak yang kaya akan asam

lemak tak jenuh, yang merupakan asam linoleat (50% -60%), asam oleat (20%), asam eicosadienoic (3%), dan asam dihomolinoleat (10%), dan asam lemak jenuh (palmitat dan asam stearat) hingga 30%.³⁷



Thymoquinone
(Major bioactive compound in *N. sativa*)

Gambar 2.6 Thymoquinone³⁶

Jintan hitam (*Nigella sativa*) ditemukan memiliki efek renoprotektif karena sifat anti-inflamasi dan antioksidannya. Efek ini dikaitkan dengan bahan aktif TQ.³⁸ *Thymoquinone* mempunyai efek perbaikan-perbaikan terhadap adanya deplesi *glutathione*, meningkatkan *glutathione* serum dan konsentrasi *Total Antioxidant Status* (TAS). Satu literatur menyebutkan bahwa SOD (*superoxide dismutase*), GSH (*glutathion*) dan MDA (*malondialdehid*) adalah indikator penting dari antioksidan tubuh yang memberikan perlindungan terhadap kerusakan disebabkan oleh stres oksidatif. Penelitian sebelumnya telah menyelidiki pada pemberian parasetamol oral *nephrotoxicity* terjadi perubahan pada tingkat MDA jaringan dan penurunan tingkat GSH jaringan dan aktivitas SOD sebagai tanda proses stres oksidatif. Penurunan GSH dan SOD yang signifikan menyebabkan peningkatan lipid peroksidasi. Ini memainkan peran penting dalam pertahanan sistem antioksidan dan menghilangkan radikal bebas,

seperti hidrogen radikal peroksida dan superoksida, dan ia mempertahankan tiol protein membran.¹⁰

Pemberian oral ekstrak jintan hitam dosis 1000 mg/kgBB pada tikus dapat mengurangi stres oksidatif pada ginjal dengan menunjukkan aktivitas antioksidan yaitu menurunnya kadar MDA jaringan dan kadar GSH dan SOD meningkat. Dengan kata lain jintan hitam (*Nigella sativa*) mencegah terjadinya deplesi enzim antioksidan yaitu GSH. Kondisi ini didukung oleh temuan histopatologis, menunjukkan pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) secara signifikan mencegah nekrosis dan kemacetan, serta mengurangi dilatasi vaskular.¹⁰

2.4 Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*)

Secara ilmiah, taksonomi tanaman temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) adalah sebagai berikut:¹⁸

Kingdom : *Plantae*

Divisi : *Spermatophyta*

Sub Divisi : *Angiospermae*

Kelas : *Monocotyledonae*

Ordo : *Zingiberales*

Famili : *Zingiberaceae*

Genus : *Curcuma*

Species : *Curcuma xanthorrhiza Roxb*

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) adalah tanaman asli yang tumbuh di Indonesia dan sumber dayanya sangat berlimpah di Madura, terutama di Bangkalan. Bangkalan adalah kabupaten yang terkenal dengan kekayaan tanamannya yang dapat berfungsi sebagai pengobatan alternatif. Tanaman ini dapat tumbuh dengan baik dan beradaptasi di tempat terbuka atau di bawah naungan pohon hingga tingkat naungan 40%.¹⁷ Temulawak memiliki beberapa bagian yaitu batang, daun, bunga, dan akar. Akar pada temulawak yang dimaksud adalah rimpang yang berkhasiat sebagai obat. Rimpang tertanam di tanah, berbentuk silinder dengan pusat berwarna kuning tua dan kulit berwarna kuning muda berdiameter sekitar 6 cm. Rimpang memiliki dua bagian yaitu, rimpang cabang dan rimpang induk (empu). Rimpang cabang keluar dari rimpang induk yang lebih besar jumlahnya 3-7 buah.¹⁸



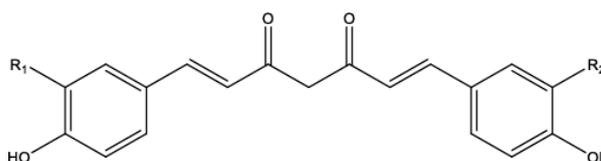
Curcuma xanthorrhiza

Gambar 2.7 Temmulawak (*Curcuma xanthorrhiza*)³⁹

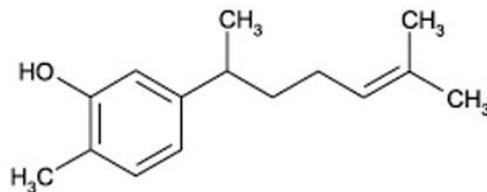
Kandungan kimiawi temulawak dapat dibedakan dari fraksi pati yang merupakan fraksi terbesar dalam bentuk bubuk putih kekuningan, fraksi curcuminoid merupakan komponen berwarna kuning hingga kemerahan pada rimpang temulawak dan fraksi minyak atsiri merupakan komponen yang terdiri

dari senyawa turunan *monoterpenes* dan *sesquiterpenes*. Kurkumin adalah sebagian kecil dari curcuminoids, yang memiliki aktivitas biologis spektrum luas. kurkumin dalam temulawak dapat berfungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan antihiperkolesterol.¹⁷

Didalam temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) juga terdapat zat bernama *xanthorrhizol* merupakan suatu zat aktif yang diisolasi dari minyak atsiri temulawak dan tidak dijumpai pada kurkuma lain. *Xanthorrhizol* ini pada penelitian sebelumnya memiliki efek protektif pada ginjal. Sedangkan kurkumin merupakan zat aktif sebagai antioksidan yang fungsinya adalah menangkal radikal bebas dan mencegah terjadinya stres oksidatif.¹⁸ Hal ini dibuktikan oleh penelitian sebelumnya, kerusakan ginjal karena parasetamol akibat konversi obat tersebut dengan NAPQI yang reaktif dan toksik menyebabkan kerusakan tubular dapat diperbaiki oleh pemberian ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dosis 1600 mg/kgBB. Pemberian ekstrak temulawak dapat memberi efek *renal repair* dengan mengurangi kerusakan sel epitel tubulus proksimal ginjal tikus.¹⁹



Gambar 2. 8 Struktur Kimia Kurkumin³⁹



Gambar 2. 9 Struktur Kimia *Xanthorizol*⁴⁰

2.5 Ekstrak

Ekstraksi adalah proses pemisahan zat aktif yang mampu larut dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Hasil dari ekstraksi adalah ekstrak yang merupakan berwujud pasta kental yang didapatkan dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani setelah pelarutnya diuapkan. Syarat utama penggunaan pelarut untuk ekstraksi senyawa organik yaitu non toksik dan tidak mudah terbakar (*nonflammable*). Pelarut untuk ekstraksi senyawa organik terbagi menjadi golongan pelarut yang memiliki densitas lebih rendah dari pada air dan pelarut yang memiliki densitas lebih tinggi dari pada air. Pelarut seperti dietil eter, etil asetat, dan hidrokarbon (light petroleum, heksan dan toluen) termasuk dalam pelarut golongan pertama. Pelarut yang termasuk dalam golongan pelarut kedua yaitu pelarut yang mengandung senyawa klorin seperti *diklorometan*. Pelarut ini memiliki toksisitas yang rendah tetapi mudah membentuk emulsi. Beberapa pelarut yang biasa digunakan untuk ekstraksi diantaranya adalah metanol, etanol, etil asetat, aseton dan asetonitril dengan air dan atau HCl. Toksisitas pelarut yang digunakan merupakan hal yang penting untuk dipertimbangkan dalam ekstraksi antioksidan, karena zat antioksidan akan digunakan pada produk pangan fungsional sehingga keamanannya harus sangat diperhatikan.⁴¹

Dalam pembuatan ekstrak, terdapat beberapa metode umum yang sering digunakan, yaitu:⁴²

- Maserasi

Metode ini adalah metode ekstraksi yang paling umum digunakan, dikarenakan cocok untuk kebutuhan skala besar maupun kecil dan dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil. Pada metode ini serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu ruang. Proses dihentikan saat kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman telah tercapai. Setelah itu, di lakukan pemisahan pelarut dari sampel dengan melakukan penyaringan. Kekurangan penggunaan metode ini adalah memakan banyak waktu, besar kemungkinan beberapa senyawa hilang, dan pelarut yang digunakan cukup banyak. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar.⁴²

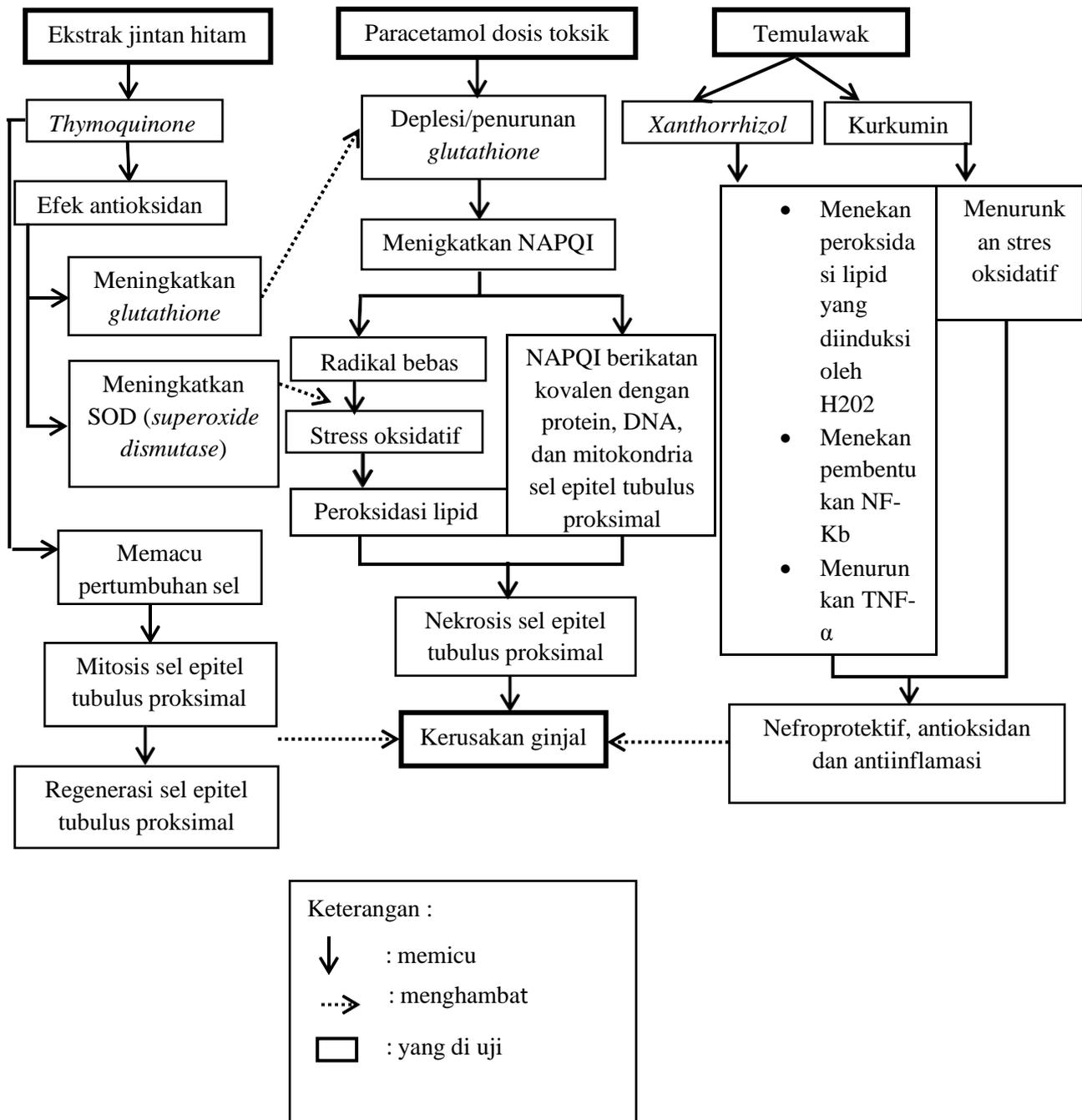
- Perkolasi

Pada metode ini, serbuk sampel dibasahi dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya) secara perlahan. Pada bagian atas serbuk sampel, ditambahkan pelarut dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Keuntungan dari metode perkolasi ini yaitu sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Kerugiannya yaitu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu dan jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area.⁴²

- **Ultrasound - Assisted Solvent Extraction**

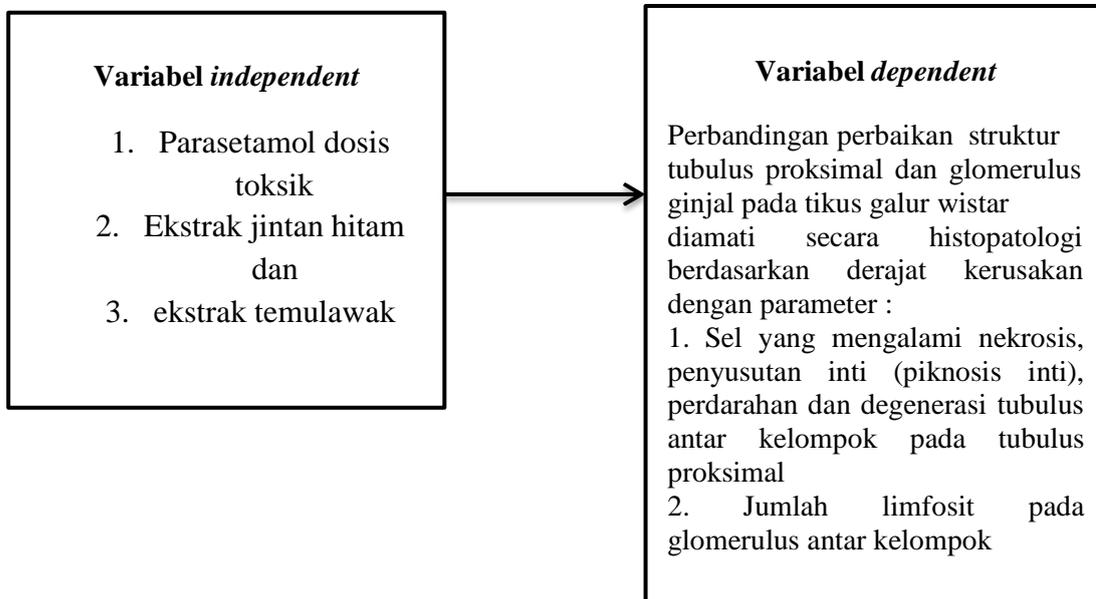
Metode ini merupakan metode maserasi yang dimodifikasi dengan bantuan ultrasound (sinyal dengan frekuensi tinggi, 20 kHz). Wadah yang berisi serbuk sampel ditempatkan dalam wadah ultrasonic dan ultrasound. Tujuannya adalah untuk memberikan tekanan mekanik pada sel hingga menghasilkan rongga pada sampel.⁴²

2.6 Kerangka Teori



Gambar 2.10 Kerangka Teori

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 2.11 Kerangka Konsep

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Definisi Operasional

| Variabel | Definisi Operasional | Alat Ukur | Skala Ukur | Hasil |
|--|--|-------------------|------------|---|
| Variabel Independen | | | | |
| Parasetamol murni (kontrol positif) | Parasetamol (acetaminophen (APAP, <i>N-acetyl-p-aminophenol</i>) yang dibeli dari <i>supplier</i> . | Timbangan digital | Numerik | Dosis 500 mg/kgBB ¹¹ |
| Ekstrak jintan hitam (<i>Nigella sativa</i>) | Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>) yang dibeli dari <i>supplier</i> . | Timbangan digital | Numerik | Dosis 500 mg/KgBB ¹⁰ |
| Ekstrak Temulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza</i>) | Temulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza</i>) yang dibeli dari <i>supplier</i> . | Timbangan digital | Numerik | Dosis 500 mg/KgBB ¹⁹ |
| <i>Aquadest</i> (kontrol negatif) | <i>Aquadest</i> merupakan air murni hasil destilasi. | Gelas ukur | Numerik | 3 cc |
| Variabel Dependen | | | | |
| Gambaran histopatologi ginjal setelah diberi perlakuan | Gambaran mikroskopik dari ginjal tikus pada kelompok KP, P1, P2. | Mikroskop cahaya | Ordinal | Derajat kerusakan dinilai dengan skor sebagai berikut : ⁴³ 0: normal 1: mild, <25% kerusakan pada korteks. 2: moderate, 25%-50% kerusakan pada korteks. 3: Severe, 50%-75% kerusakan pada korteks. 4: kerusakan luas melibatkan 75%-100% korteks. |

3.2 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *True Experimental*, dengan rancangan penelitian yang digunakan adalah *Post Test Only Control Group Design*, yaitu jenis penelitian yang hanya melakukan pengamatan terhadap kelompok kontrol dan perlakuan setelah diberi suatu tindakan.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

3.3.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2019 hingga bulan Desember 2019.

Tabel 3. 2 Waktu Penelitian

| No. | Jenis kegiatan | 2019 | | | | | 2020 | | |
|-----|---|-------|---|----|----|----|------|----|--|
| | | Bulan | | | | | | | |
| | | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 01 | 02 | |
| 1. | Studi literatur | ■ | | | | | | | |
| 2. | Mempersiapkan alat dan bahan penelitian | | | | ■ | | | | |
| 3. | Aklimatisasi hewan coba | | | | | ■ | | | |
| 4. | Eksperimen | | | | | ■ | | | |
| 5. | Pemeriksaan hasil eksperimen | | | | | | ■ | | |
| 6. | Analisis data | | | | | | ■ | | |
| 7. | Penyusunan laporan | | | | | | | ■ | |

3.3.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Unit Pengelola Hewan Laboratorium (UPHL) Departemen Farmakologi Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara dan Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

3.4.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah tikus jantan galur wistar putih (*Rattus norvegicus L.*). Populasi didapat dari Unit Pengelolaan Hewan Laboratorium (UPHL) Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

3.4.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jantan galur wistar putih (*Rattus norvegicus L.*) yang memenuhi kriteria sebagai berikut :

- 1 Kriteria inklusi:
 - 1.1 Tikus jantan
 - 1.2 Usia tikus 8-12 minggu
 - 1.3 Berat badan tikus 150-200 gr
 - 1.4 Tikus dengan kondisi fisik yang sehat dan aktif
 - 1.5 Tidak ada kelainan anatomis
 - 1.6 Belum pernah digunakan sebagai sampel penelitian sebelumnya
- 2 Kriteria eksklusi :
 - 2.1 Tikus yang mati selama masa percobaan
 - 2.2 Tikus yang cacat selama masa percobaan

3.4.3 Besar Sampel

Pengambilan sampel dilakukan menggunakan rumus *Federer*.⁴⁴

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

dengan;

t = kelompok perlakuan (4 kelompok)

n = jumlah sampel tiap kelompok

Sampel yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah:

$$(4 - 1) (n - 1) \geq 15$$

$$3n - 3 \geq 15$$

$$n \geq 6$$

Berdasarkan rumus *Federer* diatas, maka total sampel adalah 32 ekor yang dibagi dalam 4 kelompok, setiap kelompok perlakuan terdiri dari 6 tikus dan ditambahkan masing- masing kelompok 2 tikus cadangan apabila dalam penelitian tikus jantan galur wistar putih tiba-tiba mati saat percobaan dilakukan, maka dibutuhkan tikus tambahan.

3.5 Teknik Pengumpulan Data

3.5.1 Persiapan Ekstrak

3.5.1.1 Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*)

Membeli obat herbal ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) yang telah terstandarisasi oleh BPOM.

3.5.1.2 Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*)

Membeli obat herbal ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) yang telah terstandarisasi oleh BPOM.

3.5.2 Pembagian Kelompok Penelitian

Seluruh sampel tikus yang tersedia dibagi menjadi 4 kelompok penelitian dengan teknik *Simple Random Sampling*. Dalam penelitian ini ada 1 kelompok kontrol negatif (KN), 1 kelompok kontrol positif (KP) dan 2 kelompok perlakuan (P1, P2) sebagai berikut :

- KN : Aquades p.o
- KP : Parasetamol 500 mg/kg p.o
- P1 : Ekstrak jintan hitam 500 mg/kg + parasetamol 500 mg/kg p.o
- P2 : Ekstrak temulawak 500 mg/kg + parasetamol 500 mg/kg p.o

3.5.3 Prosedur Penelitian

Semua prosedur menggunakan hewan coba pada penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara No.328/KEPK/FKUMSU/2019.

3.5.3.1 Alat dan Bahan

1. Alat
 - a. Kertas saring
 - b. Kandang tikus
 - c. Wadah pakan standar

- d. Wadah air minum
 - e. Wadah tikus berukuran sedang
 - f. Sarung tangan steril
 - g. Masker
 - h. Korek api
 - i. Alat tulis
 - j. Sonde lambung
 - k. *Spuid* 3 cc
 - l. *Spuid* 1 cc
 - m. Spidol permanen
 - n. Timbangan
 - o. *Minor set*
 - p. Bak bedah
 - q. *Object glass*
 - r. *Cover glass*
 - s. Mikroskop
 - t. Kotak preparat
 - u. Pot penyimpanan organ ginjal
 - v. Kapas
 - w. Kertas label
2. Bahan
- a. Pakan tikus
 - b. Sekam tikus

- c. *Aquadest*
- d. Ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*)
- e. Ekstrak temulawak (*curcuma xanthorrhiza*)
- f. NaCl
- g. Alkohol
- h. Formalin
- i. Organ ginjal tikus wistar (*Rattus norvegicus L.*)

3.5.3.2 Uji Kandungan Kimia Sampel Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*)

1. Uji Alkaloid

Ekstrak biji jintan hitam sebanyak 0,5 g ditambahkan kloroform sebanyak ± 2 ml kemudian diaduk dan ditambahkan H₂SO₄ beberapa tetes hingga terbentuk dua lapisan. Kemudian ditambahkan pereaksi Wagner yang mengandung Kalium Iodida (KI) dan I₂ hingga terlihat terbentuk endapan coklat yang menandakan uji positif mengandung alkaloid.⁴⁵

2. Uji Kuinon

Ekstrak biji jintan hitam ditambahkan sedikit akuades, kemudian ditambahkan NaOH 2N dan dikocok. Ekstrak mengandung kuinon apabila hasil pengujian ditandai dengan berubahnya warna larutan menjadi sedikit merah.⁴⁵

3. Uji Flavonoid

Sedikit ekstrak biji jintan hitam dimasukan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan beberapa miligram serbuk magnesium dan ditambahkan ± 4 ml campuran HCl 37 % dengan alkohol 96%. Campuran kemudian dikocok,

apabila terbentuk warna merah, kuning, atau jingga maka pada sampel positif mengandung senyawa flavonoid.⁴⁵

4. Uji Steroid

Sebanyak beberapa miligram sampel ditambahkan sedikit asam asetat glasial, setelah itu ditambahkan beberapa tetes H₂SO₄ pekat. Apabila terbentuk warna biru maka sampel positif mengandung steroid.⁴⁵

3.5.3.3 Uji Kandungan Kimia Sampel Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*)

1. Uji Flavonoid dan Saponin.

Sebanyak 10 mL ekstrak ditambah 0.5 g serbuk Mg, 0.2 mL HCl dan 2 mL amil alkohol lalu dikocok. Jika lapisan amil alkohol menjadi berwarna coklat maka positif terdapat flavonoid. Uji saponin dilakukan dengan pengocokan 10 mL filtrat dalam tabung reaksi tertutup selama 10 detik. Adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil.⁴⁶

2. Uji Alkaloid

Sebanyak 1 g ekstrak ditambah 10 mL CHCl₃ dan beberapa tetes NH₄ OH. Kemudian larutan disaring dan ekstrak yang dihasilkan dikocok dengan 10 tetes H₂SO₄ 2M. Lapisan asamnya diambil dan ditambahkan pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorf. Hasil uji akan positif apabila terbentuk endapan putih ketika direaksikan dengan pereaksi Mayer, endapan coklat dengan pereaksi Wagner, dan endapan merah jingga dengan pereaksi Dragendorf.⁴⁶

3. Uji Tanin.

Sebanyak 4 mL ekstrak dipanaskan selama 10 menit lalu disaring. Filtrat yang diperoleh ditambah FeCl₃ 1% atau larutan gelatin, jika dihasilkan warna biru tua atau hijau maka hasil uji positif terhadap tanin.⁴⁶

4. Uji Steroid dan Terpenoid.

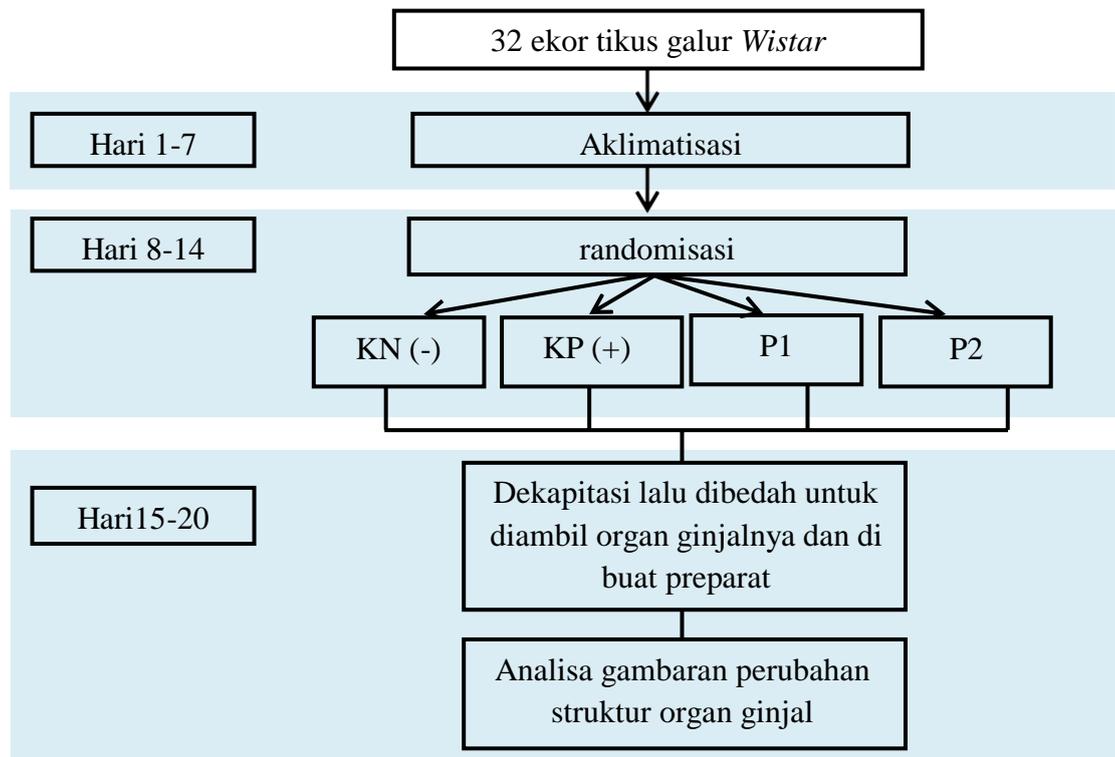
Bahan diekstraksi dengan 10 mL etanol panas lalu disaring dan diuapkan sampai kering. Residu yang diperoleh dilarutkan dalam eter dan disaring kembali sehingga diperoleh dua bagian larut eter dan residu. Bagian yang larut eter langsung diuji dengan dua tetes asam asetat anhidrat dan H₂SO₄. Residu dilarutkan kembali ke dalam HCl 2N dan disaring lagi, residu yang diperoleh ditambah eter dan dilakukan uji yang sama. Uji positif ditunjukkan dengan warna biru atau hijau untuk steroid dan merah ungu untuk terpenoid.⁴⁶

3.5.3.4 Persiapan Hewan Coba

1. Tiga puluh ekor tikus jantan galur wistar dimasukkan ke dalam kandang, masing-masing berisi 3 ekor tikus.
2. Kandang diberi lampu, ditempatkan pada ruangan dengan ventilasi yang baik, cukup cahaya, tenang, suhu diatur pada suhu kamar 25° C.
3. Tikus diberi makan dan minuman secara *ad libitum*. Setiap harinya tikus diberi makan pakan kering berbentuk pelet dan diberi minum air *aquadest*.

3.5.3.5 Pemberian Perlakuan

1. Seluruh tikus jantan (32 ekor) yang telah diisolasikan selama seminggu, dan ditimbang lalu dibagi menjadi 4 kelompok secara acak, setiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus dan ditambahkan masing-masing kelompok 2 tikus cadangan. Masing-masing tikus diberi label pada ekornya sesuai kelompoknya menggunakan spidol tahan air.
2. Kelompok kontrol negatif (KN) adalah kelompok normal dan hanya diberikan diet standar ditambah *aquadest*.
3. Kelompok kontrol positif (KP) diberi diet standar dengan parasetamol 500 mg/kgBB selama 7 hari.
4. Kelompok Perlakuan 1 (P1) diberi diet standar ditambah parasetamol 500 mg/kgBB/hari dengan ditambahkan ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dengan dosis 500 mg/kgBB.
5. Kelompok Perlakuan 2 (P2) diberi diet standar ditambah parasetamol 500 mg/kgBB/hari dengan ditambahkan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan dosis 500 mg/kgBB.
6. Selama perlakuan tikus diperlakukan dengan sebaik-baiknya, diusahakan agar bebas stres, leluasa bergerak dan diberikan makanan standar dan minuman setiap hari secara *ad libidum*.
7. Perlakuan dilaksanakan selama 7 hari, kemudian tikus didekapitasi dan diambil organ ginjalnya untuk dibuat preparat histopatologi dengan metode parafin dan pewarnaan hematoxin eosin pada hari ke 8.



Gambar 3. 1 Alur Penelitian Perlakuan

3.5.3.6 Pembuatan Preparat Ginjal dengan Metode Warfarin

Pembuatan preparat yang dilakukan dengan metode parafin adalah sebagai berikut :⁴⁷

a. Fiksasi

Tikus galur wistar putih jantan (*Rattus novergicus*) didekapitasi dan dibedah. Diambil organ ginjal, ditimbang dan dicuci dengan larutan NaCl 0,9% kemudian difiksasi selama 1 malam dengan larutan Bouin.

b. Washing

Setelah difiksasi, ginjal dicuci dengan alcohol 70% dengan cara *dishaker* sampai benar-benar dan direndam dalam alcohol 70% 1 malam.

c. Dehidrasi

Dehidrasi dilakukan dengan merendam organ ginjal sambil *dishaker* menggunakan alcohol bertingkat yaitu 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 96% dan 100% (absolute) selama 1 jam masing-masing konsentrasi.

d. *Clearing* (penjernihan)

Clearing dilakukan dengan merendam ginjal ke dalam xylol selama 1 jam.

e. Infiltrasi

Infiltrasi dilakukan dengan merendam ginjal kedalam xylol selama 1 jam pada suhu kamar kemudian dipindahkan lagi ke dalam xylol yang berada di dalam oven pada suhu 56° C selama 1 jam, lalu dilanjutkan lagi dengan merendam ginjal kedalam paraffin murni I, II, III masing-masing selama 1 jam pada suhu kamar 56° C, yang selama proses pengerjaan dilakukan di dalam oven.

f. *Embeding* (penanaman)

Embeding dilakukan dengan meletakkan ginjal pada kotak berbentuk segi empat yang telah dipersiapkan sebelumnya sebagai cetakan. Setelah itu, dituangkan dalam paraffin yang telah cair ke dalam kotak tersebut, kemudian ginjal ditanam dalam kotak yang telah berisi paraffin dan diatur posisinya lalu diberi label dibiarkan sampai dingin sehingga membentuk blok paraffin dan dimasukkan ke dalam *freezer*. Kemudian blok-blok tersebut dirapikan dan dilakukan penempelan blok-blok paraffin pada holder yang dibuat dari kayu berukuran 1x1 c yang berbentuk persegi.

g. *Cutting* (Pemotongan)

Cutting dilakukan dengan memotong blok-blok paraffin yang telah diholder pada mikrotom sehingga membentuk pita-pita paraffin dengan ukuran ketebalan 6 mikrometer.

h. *Attaching* (Penempelan)

Attaching dilakukan dengan mengambil beberapa pita paraffin, kemudian diletakkan pada *object glass*, dan dicelupkan pada air dingin dan kemudian pada air hangat. Lalu diletakkan diatas *hotplate* beberapa detik untuk meletakkan pita air hangat. Lalu diletakkan diatas *hotplate* beberapa detik untuk melekatkan pita paraffin pada *object glass* dan membersihkan sebagian paraffin yang melekat pada organ.

i. Deparafinisasi

Deparafinisasi dilakukan dengan mencelupkan objek pada xylol sampai paraffin habis kira-kira selama 5 menit.

j. Dealkoholisasi

Dealkoholisasi dilakukan dengan mencelupkan *object glass* ke dalam alcohol bertingkat ke alcohol konsentrasi menurun, yaitu dari alcohol absolut, 96%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30% dan kemudian kedalam *aquadest*. Dimana masing-masing konsentrasi dicelupkan lebih kurang 3-5 detik.

k. Pewarnaan

Pewarnaan sediaan ginjal diwarnai dengan menggunakan Hematoxylin-Eosin. Pewarnaan dilakukan dengan cara *object glass* dimasukkan ke dalam larutan pewarnaan Hematoxylin Erlich selama 3 menit, lalu dicuci dengan air mengalir lebih kurang selama 2 menit, kemudian dimasukkan ke dalam

alcohol 30%, 50%, 70% lalu dimasukkan ke dalam *aquadest* dan kemudian preparat dimasukkan berturut-turut ke dalam alcohol 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 96% dan alcohol absolute. Setelah itu, dikeringkan dengan kertas penghisap. Lalu preparat dimasukkan ke xylol.

l. Mounting

Mounting dilakukan dengan menutup preparat dengan *Canada balsam*, diusahakan tidak ada gelembung udara.

m. Diberi label dan diamati

Slide diperiksa di bawah mikroskop. Preparat histologi dikirim ke laboratorium Patologi Anatomi dan pembacaan dilakukan oleh ahli patologi anatomi.

3.5.3.7 Pengamatan Preparat Histologi

Dari setiap tikus dibuat satu preparat jaringan ginjal dan tiap preparat dibaca dalam lima lapangan pandang pada daerah perbatasan bagian luar medula dengan korteks bagian dalam menggunakan mikroskop perbesaran objektif 40x. Sasaran yang dibaca adalah perubahan struktur histopatologi pada daerah tubulus kontortus proksimal dengan parameter tubulus normal, tubulus degenerasi, nekrosis sel tubulus, piknosis inti (penyusutan inti), perdarahan dan limfosit pada glomerulus, kemudian parameter tersebut dijumlah lalu dipersentase. Dan selanjutnya disesuaikan dengan kriteria skoring penilaian tingkat kerusakan kortesk ginjal.

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini berupa data primer hasil perhitungan skoring untuk lima lapangan pandang, yang diperoleh dari ginjal

tikus *Wistar*. Pengamatan dilakukan dengan melihat gambaran histopatologi yang tampak pada tubulus proksimal ginjal pada tiap-tiap kelompok perlakuan dibandingkan dengan kontrol. Data pemeriksaan ditulis dalam formulir untuk kemudian dianalisa.

Sistem skoring yang digunakan berdasarkan kerusakan ginjal yaitu :⁴³

1. 0: normal, dijumpai gambaran tubulus normal.
2. 1: mild, dijumpai tubulus degenerasi, nekrosis sel tubulus, piknotik inti, perdarahan dan limfosit pada glomerulus dengan luas kerusakan <25% pada korteks.
3. 2: moderate, dijumpai tubulus degenerasi, nekrosis sel tubulus, piknotik inti, perdarahan dan limfosit pada glomerulus dengan luas kerusakan 25%-50% pada korteks.
4. 3: Severe : dijumpai tubulus degenerasi, nekrosis sel tubulus, piknotik inti, perdarahan dan limfosit pada glomerulus dengan luas kerusakan 50%-75% pada korteks.
5. 4: Dijumpai tubulus degenerasi, nekrosis sel tubulus, piknotik inti, perdarahan dan limfosit pada glomerulus dengan kerusakan luas melibatkan 75%-100% korteks.

3.6 Pengolahan Data dan Analisis Data

3.6.1 Pengolahan Data

Langkah-langkah dalam pengolahan data adalah :

1. Pemeriksaan data (*Editing*)

Pemeriksaan data (*Editing*) dilakukan untuk memeriksa ketepatan dan kelengkapan data yang telah dikumpulkan, apabila data belum lengkap ataupun terdapat kesalahan data.

2. Pemberian kode (*Coding*)

Pemberian kode (*Coding*) data dilakukan apabila data sudah terkumpul kemudian dikoreksi ketepatan dan kelengkapannya. Selanjutnya data diberikan kode oleh peneliti secara manual sebelum diolah ke dalam komputer.

3. Memasukkan data (*Entry*)

Data yang telah dibersihkan kemudian dimasukkan ke dalam program komputer.

4. Pembersihan data (*Cleaning*)

Pemeriksaan semua data yang telah dimasukkan ke dalam komputer guna menghindari terjadinya kesalahan dalam pemasukan data.

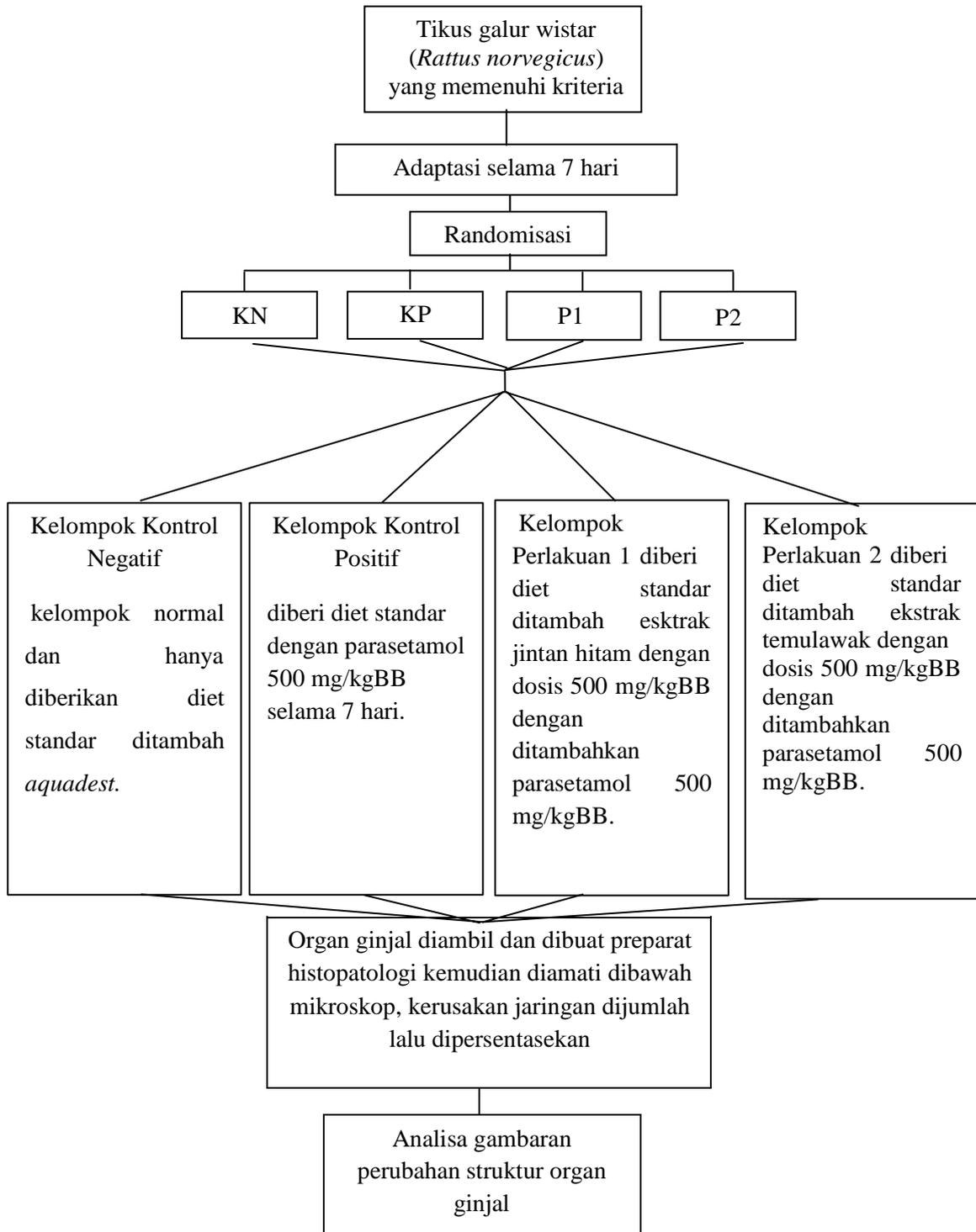
5. Menyimpan data (*Saving*)

Menyimpan data untuk siap dianalisis.

3.6.2 Analisis Data

Data dari hasil pengamatan histopatologis yang telah dikumpulkan, dan diskoring kemudian dianalisis. Tahap pertama dilakukan analisis secara statistik menggunakan uji *nonparametric* yaitu *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan *post hoc Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar semua kelompok perlakuan.

3.7 Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur Penelitian

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Uji Fitokimia Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dan Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*)

Bahan uji berupa ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) yang telah dilakukan uji kualitatif fitokimia di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

Tabel 4. 1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*)

| No | Parameter Uji | Pengamatan | Hasil Pengujian | Metode Pengujian |
|----|---------------|------------------|-----------------|------------------|
| 1 | Uji Alkaloid | Endapan Coklat | + | Kualitatif |
| 2 | Uji Kuinon | Hitam | - | |
| 3 | Uji Flavonoid | Merah Jingga | + | |
| 4 | Uji Steroid | Merah Kecoklatan | - | |

Tabel diatas menunjukkan bahwa ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) memiliki kandungan flavonoid dan alkaloid.

Tabel 4. 2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*)

| No | Parameter Uji | Pengamatan | Hasil Pengujian | Metode Pengujian |
|----|---------------|--------------------------------------|-----------------|------------------|
| 1 | Uji Flavonoid | Lapisan bawah coklat | + | Kualitatif |
| 2 | Uji Saponin | Terbentuk busa yang tidak tahan lama | - | |
| 3 | Uji Alkaloid | Endapan merah jingga | + | |
| 4 | Uji Tanin | Coklat Kehijauan | + | |
| 5 | Uji Steroid | Coklat | - | |
| 6 | Uji Terpenoid | Atas coklat, bawah kemerahan | + | |

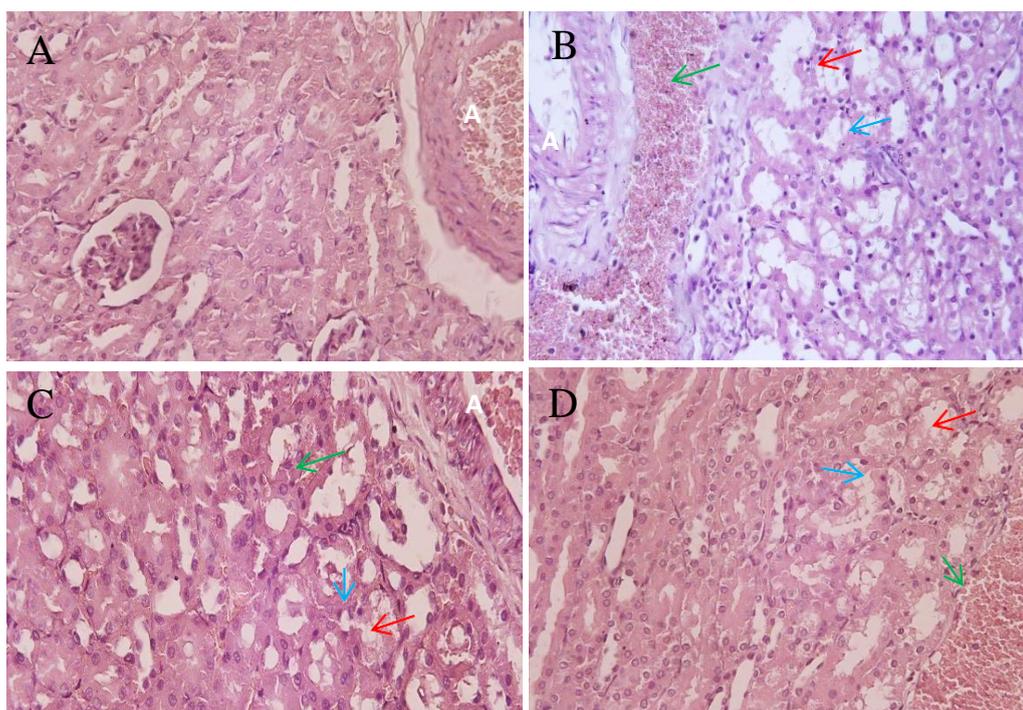
Dari tabel diatas menunjukkan bahwa ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) memiliki kandungan flavonoid, alkaloid, tanin dan terpenoid.

Telah dilakukan penelitian dengan jumlah sampel 6 ekor tikus setiap kelompok dan 2 ekor tikus cadangan untuk setiap kelompok. Selama pengerjaan terdapat 3 ekor tikus yang mati, 2 tikus dari KN dan 1 tikus dari KP. Sebanyak 2 tikus tidak diketahui penyebab kematiannya. Hipotesis kematian tikus tersebut bisa karena stress selama masa adaptasi dan perlakuan, stress bisa disebabkan karena tidak ada peraturan baku tentang suhu dan keadaan laboratorium tempat penyimpanan hewan coba, selain itu selama proses *handling*, perawatan, pemberian pakan, penggantian sekam dilakukan oleh banyak individu, seharusnya hal ini dilakukan oleh salah seorang laboran yang memang ahli dan terlatih yang mengetahui bagaimana seharusnya hewan coba diperlakukan sehingga tidak terjadi stress pada hewan coba tersebut. Sedangkan 1 tikus lainnya mati post

pemberian perlakuan, diduga ekstrak masuk bukan ke saluran cerna, melainkan masuk ke saluran pernafasan.

4.1.2 Gambar Histopatologi Ginjal dan Hasil Skoring Pengamatan pada Masing-masing Kelompok

Pemeriksaan hasil histopatologi ginjal diamati oleh ahli patologi anatomi di Laboratorium Histologi Universitas Sumatera Utara menggunakan mikroskop *Olympus CX 22* dengan perangkat lunak *TrueChrome III* perbesaran 40x. Hasil pengamatan pada jaringan ginjal dari setiap kelompok dan hasil penilaian skoring dapat dilihat di bawah ini.



Gambar 4. 1 (A) Struktur ginjal tikus normal skor 0 pada kontrol negatif (KN), arteri arkuata (A). Perbesaran 40x. (B) Histopatologi jaringan ginjal tikus skor 3 pada kontrol positif (KP), terlihat degenerasi tubulus (merah), sel nekrosis dengan piknotik inti (biru), perdarahan (hijau), arteri arkuata (A) dengan luas kerusakan 50%-75% pada korteks. Perbesaran 40x. (C) Histopatologi jaringan ginjal tikus skor 1 pada perlakuan 1 (P1) terlihat degenerasi tubulus (merah), sel nekrosis

dengan piknotik inti (biru), perdarahan (hijau), arteri arkuata (A) dengan luas kerusakan <25% pada korteks. Perbesaran 40x. **(D)** Histopatologi jaringan ginjal tikus skor 2 pada perlakuan 2 (P2), terlihat degenerasi tubulus (merah), sel nekrosis dengan piknotik inti (biru), perdarahan (hijau), dengan luas kerusakan 25%-50% pada korteks. Perbesaran 40x.

Tabel 4. 3 Hasil Skoring Pada Pengamatan Penelitian dari Masing-masing Kelompok

| Skor | KN | KP | P1 | P2 |
|------|-------|-------|-------|-------|
| 0 | 0,66% | 0% | 0% | 0% |
| 1 | 0,33% | 0% | 0,66% | 0,16% |
| 2 | 0% | 0,33% | 0,33% | 0,66% |
| 3 | 0% | 0,33% | 0% | 0,16% |
| 4 | 0% | 0,33% | 0% | 0% |

4.2 Analisa Data

Berdasarkan data gambaran histopatologi ginjal tikus akan dilakukan uji *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan skoring yang signifikan di antara KN, KP, P1 dan P2. Uji *Kruskal Wallis* adalah uji nonparametrik berbasis peringkat yang tujuannya untuk menentukan adakah perbedaan signifikan secara statistik antara dua atau lebih kelompok variabel independen pada variabel dependen yang berskala data numerik (interval/rasio) dan skala ordinal. Oleh karena uji ini merupakan uji non parametris, maka tidak perlu lagi ada uji normalitas. Tabel 4.4 disajikan hasil uji *Kruskal-Wallis*.

Tabel 4. 4 Uji *Kruskal-Wallis*

| P | N | P-Value |
|----|---|---------|
| KN | 6 | 0,000 |
| KP | 6 | |
| P1 | 6 | |
| P2 | 6 | |

Berdasarkan hasil uji *Kruskal-Wallis* pada Tabel 4.4, diperoleh nilai $p = 0,000 < 0,05$, maka disimpulkan terdapat perbedaan skoring yang signifikan di antara KN, KP, P1 dan P2. Selanjutnya, dilakukan uji *post hoc Mann-Whitney* untuk mengetahui perbaikan gambaran histopatologi ginjal dengan pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dosis 500 mg/kgBB dengan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dosis 500 mg/kgBB, kelompok mana yang memiliki perbedaan perbaikan gambaran histopatologi ginjal.

Tabel 4.5 Uji *Mann-Whitney*

| Perbandingan Skoring | Sig. | P | Kemaknaan |
|----------------------|-------|-------|------------------|
| KP dan KN | 0.003 | <0,05 | Signifikan |
| KP dan P1 | 0.004 | <0,05 | Signifikan |
| KP dan P2 | 0.014 | <0,05 | Signifikan |
| KN dan P1 | 0.014 | <0,05 | Signifikan |
| KN dan P2 | 0.004 | <0,05 | Signifikan |
| P1 dan P2 | 0.075 | >0,05 | Tidak Signifikan |

Dari tabel di atas, didapatkan hasil bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol positif (KP) dengan kelompok kontrol negatif (KN), kelompok perlakuan 1 (P1), dan kelompok perlakuan 2 (P2). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat efek pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus yang diinduksi parasetamol.

Kelompok perlakuan 1 (P1) tidak berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan 2 (P2). Hal ini menunjukkan pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dan pemberian ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) memiliki efektivitas yang sama terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus yang diinduksi parasetamol.

4.3 Pembahasan

4.3.1 Uji Fitokimia Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dan Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*)

Berdasarkan hasil uji kualitatif fitokimia membuktikan bahwa ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) memiliki kandungan flavonoid dan alkaloid. Hasil ini sesuai dengan penelitian Seran yang mengidentifikasi beberapa kandungan kimia dalam jintan hitam (*Nigella sativa*) diantaranya flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, minyak atsiri, dan terpenoid. Flavonoid bersifat nefroprotektif karena memiliki sistem antioksidan yang bekerja memproteksi kematian sel akibat induksi oksidan melalui mekanisme independen antioksidan.⁴⁸ Adapun hasil uji kuinon negatif. *Thymoquinone* adalah derivat dari kuinon memiliki efek nefroprotektif yang merupakan bahan utama dalam jintan hitam (*Nigella sativa*) dengan memainkan peran penting dalam pertahanan sistem antioksidan dan menghilangkan radikal bebas, seperti hidrogen radikal peroksida dan superoksida, dan ia mempertahankan tiol protein membran.¹⁰

Berdasarkan hasil uji kualitatif fitokimia membuktikan bahwa ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) memiliki kandungan flavonoid, alkaloid, tanin dan terpenoid. Sesuai dengan penelitian Halim dkk yang mengidentifikasi adanya terpenoid, phenol, flavonoid, saponin dan alkaloid dalam ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*).⁴⁹ Namun yang memegang peranan penting sebagai nefroprotektor pada temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) adalah kandungan kurkumin dan xanthorrhizol (merupakan suatu zat aktif yang diisolasi

dari minyak atsiri temulawak) sebagai antioksidan yang fungsinya adalah menangkal radikal bebas dan mencegah terjadinya stres oksidatif.¹⁸

4.3.2 Pembahasan Mengenai Hasil Pengamatan Gambaran Histopatologi Ginjal dan Skoring pada Masing-masing Kelompok

Ginjal adalah organ penting yang berperan dalam manusia dan hewan. Fungsi umum dari ginjal adalah untuk mengatur tekanan darah, keseimbangan asam-basa, keseimbangan elektrolit dan ekstraseluler volume cairan. Mereka juga menghilangkan zat-zat dari tubuh termasuk produk metabolisme, beragam racun dan zat asing lainnya seperti obat-obatan, pestisida dan bahan tambahan makanan.^{36,50}

Pada penelitian ini diamati aktivitas nefroprotektor pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) terhadap kerusakan histologis ginjal akibat paparan parasetamol. Kerusakan histologis ginjal merupakan nilai skor kerusakan daerah korteks ginjal yang dievaluasi dari perubahan yang terjadi pada tubulus proksimal dan glomerulus berupa tubulus degenerasi, nekrosis sel tubulus, jumlah inti yang mengalami piknosis inti (penyusutan inti), perdarahan dan jumlah limfosit pada glomerulus.⁴³

Fokus kerusakan pada penelitian ini terlihat pada tubulus-tubulus ginjal disekitar pembuluh darah yang memperdarahi ginjal, hal ini mengikuti prinsip *drug-induced nephrotoxicity* yang merusak ginjal secara tidak langsung melalui aliran darah.⁵¹ Perkiraan hal lain mencakup distribusi parasetamol ke organ ginjal kurang maksimal, sehingga kerusakan gambaran ginjal terbatas pada aliran-aliran

darah yang baru memasuki ginjal seperti yang didapatkan pada penelitian kali ini dimana terdapat banyak gambaran degenerasi tubulus dan nekrosis pada tubulus yang berada disekitar arteri arkuata. Adanya faktor lingkungan yang mungkin tidak bisa dikontrol pada penelitian ini, faktor yang mungkin mempengaruhi kejadian ini adalah aktivitas fisik dari tikus tersebut, infeksi virus atau bakteri yang tidak dapat dicegah.

Berdasarkan hasil pengamatan histopatologi ginjal kelompok kontrol negatif (KN) yang hanya diberikan minum dan makan standart didapatkan skor 0 sebanyak 0,66 % dan skor 1 sebanyak 0,33%. Ini didukung dengan dijumpai gambaran tubulus normal walau juga terlihat gambaran nekrosis dan perdarahan yang minimal. Hal ini terjadi karena semua sel normal secara fisiologis akan mengalami proses apoptosis.⁵²

Pada kelompok positif (KP) yaitu kelompok yang diberi parasetamol dosis 500 mg/KgBB didapatkan skor 2, 3 dan 4 dengan jumlah yang sama yaitu 0,33%. Dimana dijumpai gambaran tubulus degenerasi, sel nekrosis dengan piknotik inti dan perdarahan dengan luas kerusakan 50%->75% pada korteks.

Pada kelompok perlakuan 1 (P1) yang diberi ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dosis 500 mg/kgBB dan parasetamol dosis 500 mg/kgBB didapatkan hasil skor 1 sebanyak 0,66% dan skor 2 sebanyak 0,33%. Dari gambaran histopatologi dijumpai tubulus degenerasi, sel nekrosis dengan piknotik inti dan perdarahan dengan luas kerusakan <25% hingga 50% pada korteks. Sedangkan pada kelompok perlakuan 2 (P2) yang diberi ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dosis 500 mg/KgBB dan parasetamol dosis 500 mg/KgBB

didapatkan skor 1 sebanyak 0,16%, skor 2 0,66%, dan skor 3 0,16%. Dimana dijumpai gambaran tubulus degenerasi, sel nekrosis dengan piknotik inti dan perdarahan dengan luas kerusakan 25%-75% pada korteks.

Dari hasil skoring menunjukkan bahwa pemberian parasetamol dosis 500 mg/kgBB dapat merusak ginjal dan pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dosis 500 mg/kgBB terkesan lebih berefek dalam memproteksi ginjal dari kerusakan akibat parasetamol dibandingkan pemberian ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dosis 500 mg/kgBB. Namun hasil skoring masing-masing kelompok selanjutnya akan dianalisis untuk melihat ada tidaknya perbedaan signifikan antar kelompok tersebut.

Berdasarkan studi histopatologis, daerah korteks ginjal terutama tubulus proksimal merupakan bagian yang paling banyak mengalami kerusakan pada kasus nefrotoksitas.⁷ Hal ini terjadi karena efek toksisitas parasetamol yang terjadi akibat konversi parasetamol menjadi metabolit yang sangat aktif, elektrofilik, dan bersifat toksik bagi hati serta ginjal, yaitu NAPQI oleh enzim sitokrom P-450 mengakibatkan kehilangan GSH seluler, NAPQI juga menstimulasi pembentukan molekul ROS yang akan bereaksi dengan protein seluler serta memicu peroksidasi lipid. Peningkatan peroksidasi lipid ditandai dengan naiknya kadar MDA yang merupakan senyawa penanda stres oksidatif yang selanjutnya menyebabkan kerusakan tubular yang dapat ditandai dengan degenerasi tubulus, dilatasi tubulus, nekrosis, perdarahan, dan inti piknotik.¹⁰ Tubulus proksimal merupakan lokasi yang paling sering mengalami kerusakan akibat toksisitas dikarenakan sitokrom P450 di ginjal sebagian besar berada di tubulus proksimal.⁵³

Namun pada penelitian ini, hasil pengamatan mikroskopis histologi ginjal pada KP yang diberikan parasetamol dominan didapatkan gambaran degenerasi tubulus di sekitar arteri arkuata, nekrosis dan perdarahan yang luas menuju daerah korteks, namun tidak dijumpai adanya gambaran limfosit pada glomerulus dan dilatasi tubulus. Setiap ginjal dipasok oleh arteri renalis yang bercabang di hilus yang bercabang menjadi beberapa arteri interlobaris. Arteri interlobaris berlanjut di ginjal di antara piramid ke arah korteks. Di taut kortikomedular, arteri interlobaris bercabang menjadi arteri arkuata, yang melengkung di basis piramid dan membentuk arteri interlobularis. Pembuluh darah ini bercabang lagi menjadi arteriol aferen, yang membentuk kapiler di glomerulus korpuskulum ginjal. Arteriol eferen meninggalkan korpuskulum ginjal dan membentuk kompleks anyaman kapiler peritubular di sekitar tubulus korteks.²⁶ Dari anatomi aliran darah diketahui bahwa kerusakan terparah dari kortek ginjal yang menggunakan zat bersifat nefrotoksik berada disekitar arteri arkuata.

4.3.3 Pembahasan Mengenai Analisa Data

Hasil analisis jumlah kerusakan histologi ginjal menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan ($p = 0,003 < 0,05$) antara KP dan KN yang berarti kerusakan histologi ginjal lebih besar pada KP yang diberi parasetamol dibandingkan KN yang tidak diberi parasetamol. Hal ini sesuai dengan penelitian Ali Yousuf, dkk bahwa pemberian parasetamol dosis 500 mg/kg BB selama 7 hari dapat menyebabkan kerusakan histologi ginjal melalui pembentukan metabolit NAPQI yang melampaui persediaan *glutathion* dan memicu terjadinya kerusakan sel ginjal.^{11,54}

Kelompok kontrol negatif (KN) hanya diberikan minum dan makan standart. Dalam kelompok kontrol negatif (KN) juga terlihat gambaran nekrosis dan perdarahan minimal. Hal ini terjadi karena semua sel normal secara fisiologis akan mengalami proses apoptosis.⁵² Dan dianggap sebagai derajat normal.⁵⁵ Namun pengaruh variabel luar pada kelompok kontrol tidak dapat dikendalikan seperti penggunaan unit pengelola hewan yang belum sepenuhnya memenuhi kriteria. Faktor pengukuran suhu yang kurang pas, cahaya lampu hidup 24 jam, lingkungan ruangan unit pengolahan hewan coba dan tempat pembiakan hewan coba yang sering dipakai berulang tanpa dibersihkan terlebih dahulu menyebabkan tikus terkena kutu, infeksi virus ataupun bakteri, keluar masuknya mahasiswa ke unit pengelola hewan yang sedang melakukan penelitian menyebabkan hewan coba menjadi stress, serta makanan dan beeding tikus yang belum terstandarisasi. Untuk kedepannya perlu dilakukan pengontrolan ulang dan standarisasi kembali Unit Pengolahan Hewan Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara sebelum digunakan untuk penelitian dan pembelajaran kedepannya. Hal ini sangat perlu dilakukan agar tidak menjadi kerugian besar untuk peneliti-peneliti selanjutnya dan hasil yang didapatkan maksimal sesuai yang diharapkan. Dimana seharusnya hewan coba ditempatkan pada ruangan bersuhu 21°C, dengan siklus 12 jam hidup-mati lampu. Hewan coba diperlakukan sesuai standar dari *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (published by the National Academy Press and washington, D. C)*.⁵⁶

P1 yang diberi ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dan parasetamol menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p = 0,004 < 0,05$) dengan KP yang hanya diberi parasetamol. Kerusakan histologi ginjal pada kelompok P1 dalam rentang skor 1 hingga skor 2 (terdapat gambaran degenerasi tubulus, nekrosis dan perdarahan dengan luas kerusakan $< 25\% - 50\%$ pada korteks). Hal ini sesuai dengan penelitian Canayakin dkk pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dosis 1000 mg/kgBB adalah dosis paling efektif namun dosis 500 mg/kgBB sudah memiliki efek nefroprotektif terhadap efek toksik parasetamol karena jintan hitam (*Nigella sativa*) memiliki mekanisme antioksidan yang dapat menekan terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS).¹⁰ Penelitian lain dengan dosis yang lebih rendah oleh Hosseinian dkk dengan pemberian ekstrak jintan hitam dosis 100-200 mg/kgBB selama 6 hari sudah dapat menurunkan kerusakan histologi ginjal yang di sini menggunakan cisplatin untuk menginduksi kerusakan ginjal.¹⁴

Efek nefroprotektor ini dikaitkan dengan bahan aktif *Thymoquinone* dan flavonoid mencegah terjadinya deplesi enzim antioksidan yaitu GSH.^{38,48} GSH adalah tripeptida, yaitu, ditemukan di banyak jaringan mamalia dan dapat menghilangkan radikal bebas dan NAPQI, yang merupakan perantara parasetamol reaktif.⁵⁷

P1 merupakan kelompok perlakuan menggunakan ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dengan dosis 500 mg/kgBB dan parasetamol dosis 500 mg/kgBB didapatkan perbedaan signifikan ($p = 0,014 < 0,05$) dengan KN yang memiliki gambaran histologi ginjal normal. Dari sini diketahui bahwa pemberian ekstrak

jintan hitam (*Nigella sativa*) belum dapat melindungi secara maksimal terhadap efek toksik parasetamol yang menyebabkan kerusakan histologi ginjal.

P2 yang diberikan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dan parasetamol menunjukkan kerusakan histologi ginjal dengan perbedaan signifikan ($p = 0,014 < 0,05$) terhadap kelompok KP yang hanya diberi parasetamol. P2 terjadi kerusakan histologi ginjal dalam rentang skor 2 hingga skor 3 (terdapat gambaran degenerasi tubulus, nekrosis dan perdarahan dengan luas kerusakan 25%-75% pada korteks). Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan kandungan antioksidan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) memiliki efek nefroprotektif terhadap efek toksik parasetamol.¹⁹ Efek ini dikaitkan dengan kandungan kurkumin dalam temulawak yang dapat berfungsi sebagai antioksidan menangkal radikal bebas dan mencegah terjadinya stres oksidatif dan menekan pembentukan NF-kB yang merupakan faktor transkripsi sejumlah gen penting dalam proses imunitas dan inflamasi, salah satunya untuk membentuk TNF- α .^{17,18} Efek nefroprotektif ternyata juga ditunjukkan oleh xanthorrhizol memiliki efek antiinflamasi, antioksidan, dan nefroprotektif. Antiinflamasi yang ditunjukkan adalah xanthorrhizol menekan aktivitas COX-1 dan iNOS dengan cara menghambat produksi Prostaglandin E2 (PGE2) dan Nitrit Oksida (NO). Sedangkan, efek antioksidan yaitu menekan peroksidasi lipid yang diinduksi oleh H2O2.¹⁸

P2 merupakan kelompok perlakuan menggunakan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan dosis 500 mg/kgBB dan parasetamol dosis 500 mg/KgBB didapatkan perbedaan signifikan ($p = 0,004 < 0,05$) dengan KN yang

memiliki gambaran histologi ginjal normal. Dari sini diketahui bahwa pemberian ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) belum dapat melindungi secara maksimal terhadap efek toksik parasetamol yang menyebabkan kerusakan histologi ginjal. Namun penelitian oleh cekmen dkk pemberian ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dosis 200 mg/kgBB sudah memiliki potensi sebagai nefroprotektor.⁵⁸

Efek protektif yang belum mencapai sempurna pada penelitian ini maka mungkin perlu di pastikan dan dengan masih berbeda-bedanya dosis efektif yang dinyatakan oleh peneliti, serta bervariasinya metode yang digunakan dalam mendapatkan ekstrak, maka diperlukan penelitian yang terstandar dan kajian fitokimia untuk menentukan dosis yang paling efektif, penelitian ini hanya melakukan analisis fitokimia secara kualitatif dan ternyata kandungan flavonoid memang ada pada ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), untuk menentukan berapa kadar sebenarnya dari ekstrak ini perlu penelitian uji kuantitatif dengan menggunakan uji HPLC (*High performance liquid chromatography*).

Hasil analisis kerusakan histologi ginjal pada P1 yang diberi ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan ($p = 0,075 > 0,05$) terhadap P2 yang diberi ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*). Yang berarti kedua ekstrak tersebut memiliki efektivitas nefroprotektor yang sama.

4.4 Keterbatasan Penelitian

Adapun keterbatasan dalam penelitian ini adalah : kemungkinan kesalahan dari pemberian ekstrak adalah ketika proses penyuntikan ataupun pencekokan, berisiko untuk berkurangnya dosis yang diberikan dari yang seharusnya, dikarenakan hewan coba tidak dipuasakan terlebih dahulu sehingga saat pencekokan ekstrak yang diberi beberapa tikus memuntahkannya sedikit akibat isi lambung melebihi kapasitas, hal ini juga berhubungan dengan hasil ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) belum melindungi secara maksimal terhadap efek toksik parasetamol.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Pemberian parasetamol dengan dosis toksik selama 7 hari telah menunjukkan adanya kerusakan pada ginjal tikus.
2. Terdapat efek protektif pada ginjal tikus yang diberikan ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) pada ginjal yang telah dirusak oleh parasetamol dengan dosis 500 mg/kgBB.
3. Terdapat pengaruh protektif temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) yang telah di induksi oleh parasetamol dengan dosis 500 mg/kgBB.
4. Ekstrak Jintan hitam (*Nigella sativa*) dosis 500 mg/kgBB dan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) 500 mg/kgBB memiliki efektivitas yang sama sebagai nefroprotektor.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian selanjutnya mengenai pengaruh ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) serta ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan dosis yang lebih besar.
2. Perlu dilakukan penelitian selanjutnya mengenai perbandingan efektivitas ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) maupun ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) yang sudah jadi dalam kemasan dengan ekstrak yang dibuat sendiri.

DAFTAR PUSTAKA

1. Biol BC, Hegazy MGA, Emam MA, Khattab HI, Helal NM. Biological activity of *Echinops spinosus* on inhibition of paracetamol-induced renal inflammation. 2018;11(0000):1-11.
2. Kidney RATS, High G, Of D. Pengaruh Pemberian Propolis Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih yang Diberikan Parasetamol Dosis Tinggi. 2017;9(1):9-15.
3. Sohail N, Hira K, Tariq A, Sultana V, Ehteshamul-haque S. Marine macroalgae attenuates nephrotoxicity and hepatotoxicity induced by cisplatin and acetaminophen in rats. 2019;(Dili).
4. Ruan H, Luo J, Wang L, Wang J, Zhang J. Jo ur l P re of. *Int J Biol Macromol*. 2019.
5. M AB, Listyaningsih E, Handayani S. Gambaran Histologis Sel Ginjal Mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi Parasetamol ditambahkan Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) Pendahuluan Indonesia merupakan negara tropis dengan potensi vegetasi yang sangat besar . Penelitian tentang daun kemangi. 2016;7(1).
6. Efek Nefroprotektif Teripang Emas (*Stichopus Variegatus*) Pada Tikus Jantan Dewasa Galur Wistar Yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksis.pdf.
7. Chinnappan SM, George A, Thaggikuppe P, et al. Nephroprotective Effect of Herbal Extract *Eurycoma longifolia* on Paracetamol-Induced Nephrotoxicity in Rats. 2019;2019.
8. Moshai-nezhad P, Hosseini SM, Yahyapour M, Iman M. Protective effect of ivy leaf extract on paracetamol-induced oxidative stress and nephrotoxicity in mice. 2019;8(1):64-68.
9. Abdeen A, Abdelkader A, Abdo M, Wareth G, Aboubakr M, Aleya L. Protective effect of cinnamon against acetaminophen-mediated cellular damage and apoptosis in renal tissue. 2019:240-249.
10. Canayakin D, Bayir Y, Baygutalp NK, et al. Paracetamol-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats: the protective role of *Nigella sativa*. 2016;0209.
11. Ali MY, Morshed MR, Hossen MS, et al. Antioxidant Properties and Dose-Dependent Effects of Monkey Fruits (*Artocarpus lakoocha*) against Paracetamol-Induced Hepato-Renal Toxicity in Rats. *Am J Pharmacol Toxicol*. 2018;13(1):16-29.

12. Safarsyah AI. Hadits nabi saw tentang obat dalam tinjauan ilmu kedokteran modern. 2018;12(2).
13. Yenita Y. Uji Efektivitas Pemberian Minyak Jintan Hitam (*nigella sativa* L.) terhadap Kadar Gula Darah Mencit Diabetes Melitus yang Diberi Aloksan. 2017;2(2):101-115.
14. Hosseinian S, Hadjzadeh M, Roshan NM, Khazaei M. of Kidney Diseases and Transplantation Original Article Renoprotective Effect of *Nigella sativa* against Cisplatin-induced Nephrotoxicity and Oxidative Stress in Rat. 2018;29(1):19-29.
15. Hamdy R, Salama M, Abd-el-hameed NA. Nephroprotective Effect of *Nigella sativa* and *Matricaria chamomilla* in Cisplatin Induced Renal Injury. 2011;2011(July):185-195.
16. Omran ST, Ahmed JH. Evaluation of The Protective Effect of *Nigella sativa* (Black Cumin) Oil Against Vancomycin-Induced Nephrotoxicity in Rats. 2019;12(3).
17. Sholihah R, Haris MS, Abror YK. Analysis of APO – B Serum Level in Balb/C Mice Hypercholesterolemic Against Temulawak Extract (*Curcuma xanthoriza* Roxb). 2019.
18. Shakti SW, Ismail A, Bambangwitjahyo RB. Pengaruh Pemberian Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) Dosis Bertingkat Terhadap Gambaran Mikrokropis Ginjal Mencit Balb / c Jantan. 2019;8(1):509-522.
19. Klarissa C. Uji Efek Pemberian Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* roxb.) terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Parasetamol. 2016.
20. An P, Issn J. *Pharmacophore*. 2014;5(1):160-182.
21. Mada UG, Mada UG, Sciences N, Tanjung J, Lumpur K. In vivo antioxidant activities of *Curcuma longa* and *Curcuma xanthorrhiza* : a. 2020;4(February):13-19.
22. Wibowo DS, Widjaya P. *Anatomi Tubuh Manusia*. Bandung: Graha Ilmu; 2007.
23. Senll RS. *Anatomi Klinis Berdasarkan Sistem*. (Suwahjo A, Liestyawan YA, eds.). Jakarta; 2014.
24. Schunke M, Schulte E, Schumacher U. *Prometheus Atlas Anatomi Manusia Organ Dalam*. 3rd ed. (Sugiharto L, Suyono YJ, eds.). Jakarta: EGC; 2016.
25. Drake R, Vogl A, Mitchell A. *Gray's Anatomy For Student*. 2nd ed. Canada: Churchill Livingstone Elsevier; 2010.

26. Mescher AL. *Histologi Dasar Junqueira Teks & Atlas*. 14th ed. (Susanti F, Wijaya HS, Agustina L, Agustin S, Sadikin RE, eds.). Jakarta: EGC; 2014.
27. Eroschenko VP. *Atlas Histologi Diflore Dengan Korelasi Fungsional*. 11th ed. Jakarta: EGC; 2012.
28. Kidney: Renal Corpuscle (Glomerulus). American Urology Association.
29. Sherwood L. *Fisiologi Manusia Dari Sel Ke Sistem*. 8th ed. (Ong HO, Mahode AA, Ramadhanni D, eds.). Jakarta: EGC; 2014.
30. Gunawan SG. *Farmakologi Dan Terapi*. 5th ed. (Nafrialdi RS, Elysabeth, eds. Jakarta: FKUI; 2007.
31. Benista MJ, Nowak JZ. Paracetamol : Mechanism of Action , Applications and Safety Concern. 2014;71(1):11-23.
32. Nephroprotective Activity of Ethanol Extract of Curcuma Mangga val . In Paracetamol-Induced Male Mice. 2018;11(1):2017-2019.
33. Widagdo CT, Naibaho P, Jayadi T, et al. Pengaruh Pemberian Ekstrak Curcuma longa Dengan Tingkat Toksisitas Parasetamol pada Gaster, Hepar dan Renal Mencit Jantan Galur Swiss. 2016:109-119.
34. Islam MT, Khan R, Kumar S. An updated literature - based review : phytochemistry , pharmacology and therapeutic promises of Nigella sativa L . *Orient Pharm Exp Med*. 2019;(0123456789).
35. Mardisiwi RS. Pertumbuhan Tanaman dan Produksi Timokuinon Jintan Hitam (Nigella sativa L.) pada Beberapa Komposisi Media Tanam dan Interval Penyiraman. *Inst Pertan Bogor*. 2017.
36. Srinivasan V, Panneerselvam R, Gunasekaran S, Palani S. Ethanolic extract of Melia Azadirachta against acetaminophen induced nephrotoxicity. *Int J PharmTech Res*. 2014;6(1):70-79.
37. Srinivasan K. Cumin (Cuminum cyminum) and black cumin (Nigella sativa) seeds : traditional uses , chemical constituents , and nutraceutical effects. 2018;(January):1-16.
38. Ali J, Arshad A, Asif P, Rashid H, Imran M. Biomedicine & Pharmacotherapy Protective e f f e c t s of Cinnamomum zeylanicum L . (Darchini) in acetaminophen-induced oxidative stress , hepatotoxicity and nephrotoxicity in mouse model. 2019;109(November 2018):2285-2292.
39. Mada UG, Mada UG, Sciences N, Tanjung J, Lumpur K. Review on in vitro antioxidant activities of Curcuma species commonly used as. 2019.
40. Aries M. Pengetahuan Tentang Manfaat Kesehatan Temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb.) Dan Uji Klinis Minuman Instan Temulawak Terhadap

- Limfosit T, B, Dan Sel NK Pada Obesitas. 2012.
41. Y.I.P MA, Lanny S, Budiono, Kurniawan I, Stephen. Ekstraksi Antioksidan dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). 2011.
 42. Mukhriani. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *J Kesehat UIN Alauddin Makassar*. 2011.
 43. Ozatik FY, Teksen Y, Kadioglu E, Ozatik O, Bayat Z. Effects of hydrogen sulfide on acetaminophen-induced acute renal toxicity in rats. *Int Urol Nephrol*. 2019;0(0):0.
 44. Federer W. *Experimental Design, Theory and Application*. New York, Mac Millan; 1963.
 45. Adrianto FN. Uji Potensi Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) Asal Indonesia Sebagai Obat Antiparkinson. 2014.
 46. Yurleni. Penggunaan Beberapa Metode Ekstraksi Pada Rimpang Curcuma Untuk Memperoleh Komponen Aktif Secara Kualitatif. 2018;11(1):430-439.
 47. Swarayana IMI, Sudira IW, Berata IK. Perubahan Histopatologi Hati Mencit (*Mus musculus*) yang Diberikan Ekstrak Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*). 2012;4(2):119-125.
 48. Seran IC. Pengaruh Ekstrak Etanol Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa* L.) terhadap Antihiperglikemik dan Histologi Ginjal pada Tikus Diabetes Nefropati yang Diinduksi Aloksan. 2019:1-80.
 49. Anjusha S, Gangaprasad A, Halim MRA, et al. Hepatoprotective Effect of Artichoke Leaves Aqueous Extract in Ccl4 Intoxicated Rats. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2012;3(3):978-979.
 50. Wudil A, Sarki S. The effect of aqueous stem bark extract of *Erythrina mildbraedii* on acetaminophen induced nephrotoxicity in rats. *Bayero J Pure Appl Sci*. 2015;8(1):10.
 51. Miyahara T. Drug-induced renal disorders. *Nippon rinsho Japanese J Clin Med*. 1978;Suppl(3):2320-2321.
 52. Vinay Kumar, Ramzi S. Cotran SLR. *Buku Ajar Patologi Robbins Volume 1*. VII. Jakarta: EGC; 2007.
 53. Azzami NA, Nugroho TE, Serum U. Parasetamol dan Morfin Terhadap Kadar Ureum Serum. 2019;8(1):323-332.
 54. Kandemir FM, Kucukler S, Eldutar E, Caglayan C. Chrysin Protects Rat Kidney from Paracetamol-Induced Oxidative Stress , Inflammation , Apoptosis , and Autophagy: A Multi-Biomarker Approach.

55. Khrestyawan. Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma Cacao*) Terhadap Kerusakan Sel Ginjal Mencit (*mus Mucukus*) Yang Diinduksi Parasetamol. 2010;0(November):210.
56. Kushwah, D S. Salman, M T. Singh, P. Verma, V K. Ahmad A. Protective Effects of Ethanolic Extract of *Nigella sativa* Seed in Paracetamol Induced Acute Hepatotoxicity In vivo. *Pakistan J Biol Sci.* 2014;17(4):517-522.
57. Yayla M, Halici Z, Unal B, Bayir Y, Akpinar E, Gocer F. Protective effect of Et-1 receptor antagonist bosentan on paracetamol induced acute liver toxicity in rats. *Eur J Pharmacol.* 2014;726(1):87-95.
58. Cekmen M, Ilbey YO, Ozbek E, Simsek A, Somay A, Ersoz C. Curcumin prevents oxidative renal damage induced by acetaminophen in rats. *Food Chem Toxicol.* 2009;47(7):1480-1484.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Dosis Parasetamol, Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dan Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) Berdasarkan Rata-rata BB

Dosis Parasetamol : 500 mg/KgBB

Dosis Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) : 500 mg/KgBB

Dosis Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) : 500 mg/KgBB

| |
|--------------------------------------|
| = Dosis (mg/kg BB) = A mg/kgBB |
| = A x rata-rata BB tikus sample (kg) |
| =B mg ekstrak = B ml ekstrak |

Data Berat Badan Sebelum Perlakuan dan Dosis

| Kelompok | Tikus | Berat Badan (gr) | Dosis Berdasarkan Rata-rata BB (mg) |
|-----------------------|---------------------------|------------------|-------------------------------------|
| Kelompok Positif (K1) | I | 110,2 | Aquadres (p.o) |
| | II | 96,7 | |
| | III | 114 | |
| | IV | 172,8 | |
| | V | 100,8 | |
| | VI | 127,3 | |
| | VII | 109 | |
| | VIII | | |
| | Rata-rata BB Tikus | 118,68 | |
| Kelompok Negatif (K2) | I | 124,2 | |
| | II | 130,2 | |
| | III | 107,6 | |
| | IV | 80 | |
| | V | 108,3 | |
| | VI | 127,9 | |
| | VII | 107,9 | |
| | VIII | 141,8 | |
| | Rata-rata BB Tikus | 132,55 | |
| Perlakuan 1 (P1) | I | 92,3 | |
| | II | 144 | |
| | III | 109 | |

| | | | |
|------------------|---------------------------|---------------|-------------|
| | IV | 204 | |
| | V | 113,1 | |
| | VI | 127,4 | |
| | VII | 150,6 | |
| | VIII | 101,1 | |
| | Rata-rata BB Tikus | 130,18 | 3,84 |
| Perlakuan 2 (P2) | I | 193,4 | |
| | II | 137,9 | |
| | III | 181,2 | |
| | IV | 127,6 | |
| | V | 127,09 | |
| | VI | 167,1 | |
| | VII | 93,7 | |
| | VIII | 141,6 | |
| | Rata-rata BB Tikus | 146,19 | 3,41 |

Lampiran 2. Data Skoring Pengamatan

| NO | KP | KN | P1 | P2 |
|----|----|----|----|----|
| 1 | 2 | 0 | 2 | 2 |
| 2 | 4 | 1 | 1 | 2 |
| 3 | 4 | 0 | 1 | 3 |
| 4 | 3 | 1 | 1 | 1 |
| 5 | 2 | 0 | 1 | 2 |
| 6 | 3 | 0 | 2 | 2 |

Lampiran 3. Ethical Clearance



UMSU
Unggul | Cerdas | Terpercaya

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
FACULTY OF MEDICINE UNIVERSITY OF MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL
"ETHICAL APPROVAL"
No : 328/KEPK/FKUMSU/2019

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The Research protocol proposed by

Peneliti Utama : Kartika Handayani
Principal In Investigator

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara
Name of the Institution *Faculty of Medicine University of Muhammadiyah Sumatera Utara*

Dengan Judul
Title

"PERBANDINGAN EFEKTIVITAS NEFROPROTEKTOR EKSTRAK JINTAN HITAM (NIGELLASATIVA) DENGAN EKSTRAK TEMULAWAK (CURCUMAXANTHORRHIZA) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS (RATTUSNORVEGICUS) YANG DIINDUKSI PARASETAMOL"

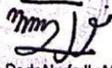
"COMPARISON OF THE EFFECTIVENESS OF NEPHROPROTECTOR BLACK CUMIN EXTRACT (NIGELLASATIVA) WITH TEMULAWAK EXTRACT (CURCUMAXANTHORRHIZA) IN HISTOPATHOLOGY OF RATS' KIDNEY (RATTUSNORVEGICUS) INDUCED BY PARACETAMOL"

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah
 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Resiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan
 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assesment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guadelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicator of each standard

Pemyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 16 Desember 2019 sampai dengan tanggal 16 Desember 2020
The declaration of ethics applies during the periode December 16, 2019 until December 16, 2020



Medan, 16 Desember 2019
 Ketua

 Dr. dr. Nurfadly, MKT

Lampiran 5. Uji Fitokimia



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PENELITIAN & PENGEMBANGAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
FAKULTAS KEDOKTERAN

Biro Administrasi : Jl. Gedung Arca No. 53 Medan 20238 Telp. 061 – 7350163 Ext. 11 Fax. 061-7363488
Email : fk.umsu@yahoo.com

Perihal : Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dan Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*)

Penelitian : Kartika Handayani (1608260029)

Judul Penelitian : Perbandingan Efektivitas Nefroprotektor Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dengan Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Parasetamol

Tempat Penelitian : Laboratorium Biokimia FK UMSU

Sampel Penelitian : Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dan Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*)

Hasil Penelitian :

Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*)

| No. | Parameter Uji | Pengamatan | Hasil Pegujian | Metode Pengujian |
|-----|---------------|------------------|----------------|------------------|
| 1. | Uji Alkaloid | Endapan coklat | + | Kualitatif |
| 2. | Uji Kuinon | Hitam | - | |
| 3. | Uji Flavonoid | Merah jingga | + | |
| 4. | Uji Steroid | Merah kecoklatan | - | |

Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*)

| No. | Parameter Uji | Pengamatan | Hasil Pegujian | Metode Pengujian |
|-----|---------------|--------------------------------------|----------------|------------------|
| 1. | Uji Flavonoid | Lapisan bawah coklat | + | Kualitatif |
| 2. | Uji Saponin | Terbentuk busa yang tidak tahan lama | - | |
| 3. | Uji Alkaloid | Endapan merah jingga | + | |
| 4. | Uji Tanin | Coklat kehijauan | + | |
| 5. | Uji Steroid | coklat | - | |
| 6. | Uji Terpenoid | Atas coklat, bawah kemerahan | + | |

Mengetahui,
Kepala Bagian Biokimia,

(dr. Isra Thristy, M.Biomed)

Medan, 14 Januari 2020

Pelaksana,

(Putri Jumairah, S.Si)

Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian



Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dan Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*)



Uji Fitokimia Ekstrak Jintan hitam dan temulawak



Adaptasi hewan coba



Proses pemberian makan hewan coba

(Lanjutan)



Pembagian kelompok Penelitian



Pemberian Ekstak sesuai dosis

dekapitasi pada tikus



Nekropsi Jaringan

Lampiran 7. Hasil Uji Statistik

Kruskal-Wallis Test

Test Statistics^{a,b}

| | Skoring Renal |
|-------------|---------------|
| Chi-Square | 18,314 |
| df | 3 |
| Asymp. Sig. | ,000 |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok
Perlakuan

Mann-Whitney Test

Ranks

| | Kelompok Perlakuan | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|---------------|--------------------|----|-----------|--------------|
| Skoring Renal | KN | 6 | 3,50 | 21,00 |
| | KP | 6 | 9,50 | 57,00 |
| | Total | 12 | | |

Test Statistics^a

| | Skoring Renal |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | ,000 |
| Wilcoxon W | 21,000 |
| Z | -2,994 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,003 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,002 ^b |

a. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan

b. Not corrected for ties.

(lanjutan)

Mann-Whitney Test**Ranks**

| | Kelompok Perlakuan | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|---------------|--------------------|----|-----------|--------------|
| Skoring Renal | KN | 6 | 4,17 | 25,00 |
| | P1 | 6 | 8,83 | 53,00 |
| | Total | 12 | | |

Test Statistics^a

| | Skoring Renal |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 4,000 |
| Wilcoxon W | 25,000 |
| Z | -2,447 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,014 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,026 ^b |

a. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test**Ranks**

| | Kelompok Perlakuan | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|---------------|--------------------|----|-----------|--------------|
| Skoring Renal | KN | 6 | 3,67 | 22,00 |
| | P2 | 6 | 9,33 | 56,00 |
| | Total | 12 | | |

Test Statistics^a

| | Skoring Renal |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 1,000 |
| Wilcoxon W | 22,000 |
| Z | -2,844 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,004 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,004 ^b |

a. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan

b. Not corrected for ties.

(lanjutan)

Mann-Whitney Test**Ranks**

| | Kelompok Perlakuan | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|---------------|--------------------|----|-----------|--------------|
| Skoring Renal | KP | 6 | 9,33 | 56,00 |
| | P1 | 6 | 3,67 | 22,00 |
| | Total | 12 | | |

Test Statistics^a

| | Skoring Renal |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 1,000 |
| Wilcoxon W | 22,000 |
| Z | -2,844 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,004 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,004 ^b |

a. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test**Ranks**

| | Kelompok Perlakuan | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|---------------|--------------------|----|-----------|--------------|
| Skoring Renal | KP | 6 | 8,92 | 53,50 |
| | P2 | 6 | 4,08 | 24,50 |
| | Total | 12 | | |

Test Statistics^a

| | Skoring Renal |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 3,500 |
| Wilcoxon W | 24,500 |
| Z | -2,459 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,014 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,015 ^b |

a. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan

b. Not corrected for ties.

(lanjutan)

Mann-Whitney Test**Ranks**

| | Kelompok Perlakuan | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|---------------|--------------------|----|-----------|--------------|
| Skoring Renal | P1 | 6 | 4,83 | 29,00 |
| | P2 | 6 | 8,17 | 49,00 |
| | Total | 12 | | |

Test Statistics^a

| | Skoring Renal |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 8,000 |
| Wilcoxon W | 29,000 |
| Z | -1,782 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,075 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,132 ^b |

a. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Lampiran 9. Artikel Penelitian

ARTIKEL PENELITIAN

PERBANDINGAN EFEKTIVITAS NEFROPROTEKTOR EKSTRAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa*) DENGAN EKSTRAK TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS (*Rattus Novergicus*) YANG DIINDUKSI PARASETAMOL

Kartika Handayani¹, Des Suryani², Humairah Medina Liza Lubis³

¹Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

²Departemen Histologi Fakultas Kedokteran Muhammadiyah Sumatera Utara

³Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Uata

Korespondensi : Des Suryani
Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

Abstrak

Latar belakang: Penggunaan parasetamol dosis berlebih dapat menyebabkan nefrotoksik. Jintan hitam dan temulawak mengandung antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas hasil metabolisme parasetamol. **Tujuan:** Membandingkan efektivitas nefroprotektor ekstrak jintan hitam dan ekstrak temulawak pada gambaran histopatologi ginjal tikus diinduksi parasetamol. **Metode:** *True experimental*, rancangan *Post Test Only Control Design*. 24 ekor tikus dibagi dalam 4 kelompok: kontrol negatif diet pakan standar dan *aquades*, kelompok positif parasetamol dosis 500 mg/kgBB, perlakuan 1 ekstrak jintan hitam dosis 500 mg/kgBB, dan perlakuan 2 ekstrak temulawak dosis 500 mg/kgBB. Setelah 30 menit P1 dan P2 diberi parasetamol dosis 500 mg/KgBB. Tikus dibedah untuk diambil ginjal dan dibuat preparat histopatologinya. Derajat degenerasi, nekrosis dan perdarahan dari tubulus proksimal dinilai dengan skoring, perbandingan skoring antar kelompok dinilai dengan uji *kruskal wallis* **Hasil:** Terdapat efek nefroprotektor jintan hitam dan temulawak, dengan efektifitas yang sama terhadap kerusakan ginjal yang diinduksi parasetamol. **Kesimpulan:** Jintan hitam bisa dikembangkan lebih lanjut sebagai nefroprotektor.

Kata kunci : Ekstrak jintan hitam, ekstrak temulawak, nefroprotektor, Parasetamol

Korespondensi : Des Suryani, FK UMSU, *E-mail* : dessuryani@umsu.ac.id

**COMPARISON OF THE EFFECTIVENESS OF NEPHROPROTECTOR
BLACK CUMIN EXTRACT (*Nigella sativa*) WITH CURCUMA EXTRACT
(*Curcuma xanthorrhiza*) IN HISTOPATHOLOGY OF RATS' KIDNEY (*Rattus
novergicus*) INDUCED BY PARACETAMOL**

Kartika Handayani¹, Des Suryani², Humairah Medina Liza Lubis³

¹Faculty of Medicine, University Muhammadiyah of Sumatra Utara

²Departement of Histology Faculty of Medicine, University Muhammadiyah of Sumatra
Utara

³Departement of Anatomi Phatology Faculty of Medicine, University Muhammadiyah of
Sumatra Utara

Corresponding Author : Des Suryani
University Muhammadiyah of Sumatra Utara

ABSTRACT

Background: Over-use of paracetamol can cause nephrotoxicity. Black cumin and curcuma contain antioxidants that can ward off free radicals produced by paracetamol metabolism. **Objective:** To compare the effectiveness of nephroprotector of black cumin extract and curcuma extract on the histopathological picture of rats induced by paracetamol. **Method:** True experimental, Post Test Only Control Design. 24 rats were divided into 4 groups: negative control standard diet and aquades, positive group paracetamol dose 500 mg / kgBB, treatment 1 extract of black cumin extract 500 mg / kgBB, and treatment 2 curcuma extract 500 mg / kgBB. After 30 minutes P1 and P2 were given a dose of paracetamol 500 mg / kg. Rats were dissected for kidney removal and histopathological preparations were made. Degeneration, necrosis and bleeding of the proximal tubules were assessed by scoring, comparison of scores between groups was assessed by the kruskal wallis test. **Results:** There were nephroprotector effects of black cumin and curcuma, with the same effectiveness on kidney damage induced by paracetamol. **Conclusion:** Black cumin can be developed further as a nephroprotector.

Keywords: Black cumin extract, curcuma extract, nephroprotector, paracetamol

Corresponding Author : Des Suryani, Faculty of Medicine, University Muhammadiyah of Sumatra Utara, E-mail : dessuryani@umsu.ac.id

PENDAHULUAN

Acetaminophen (N-acetyl-p-aminophenol (APAP), yang dikenal sebagai parasetamol, adalah analgesik dan antipiretik yang paling umum digunakan sebagai obat penghilang rasa sakit dan demam. Parasetamol adalah obat bebas, sehingga penggunaannya oleh masyarakat bisa tidak terkontrol, parasetamol yang digunakan dengan dosis berlebih dapat menyebabkan efek nefrotoksik.¹ Sebagian besar penelitian menggunakan dosis tunggal parasetamol dalam kisaran 600 mg/kg hingga 2000 mg/kg yang diberikan secara oral atau intraperitoneal (IP) untuk menginduksi terjadinya toksisitas pada tikus.^{2,3} Nefrotoksitas juga dapat diinduksi dengan memberikan dosis yang lebih rendah kisaran 200 mg/kg hingga 500 mg/kg tetapi berulang.^{1,4,5} Dosis harian yang diulang 500 mg/kg parasetamol selama 7 hari dengan rute oral dapat menginduksi kerusakan pada tubulus proksimal dan inflamasi pada sel podosit serta mesangial glomerulus.⁶

Jintan hitam (*Nigella sativa*) merupakan tanaman obat yang termasuk dalam famili *Ranunculaceae*. Diketahui bahwa Nabi Muhammad SAW dalam hadisnya yang diriwayatkan oleh Abdullah bin Muhammad bin Abi Syaibah Ibrahim bin „Utsman menyatakan jintan hitam (*Habbatussauda*, *Nigella sativa*) mengandung semua jenis perbaikan kecuali kematian.⁷ Jintan hitam (*Nigella sativa*) memiliki sifat anti-oksidan dan anti-inflamasi karena kandungan thymoquinone didalamnya. Berbagai penelitian telah membuktikan efek nefroprotektif jintan hitam namun dosis dan ekstrak yang digunakan dari berbagai penelitian masih bervariasi dalam kisaran 50 mg/kg BB hingga 1000 mg/kg BB.^{3,8}

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) merupakan tanaman asli yang tumbuh di Indonesia. Bagian

tanaman ini yang sering digunakan adalah rimpang yang mengandung berbagai komponen aktif diantaranya adalah kurkumin.⁹ Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kurkumin memiliki aktivitas antioksidan dan bersifat nefroprotektor.^{10,11} Klarissa menyatakan bahwa ekstrak temulawak yang diberikan secara oral dengan dosis 1600 mg/Kg BB pada tikus selama 7 hari dapat mengurangi kerusakan sel ginjal tikus yang diinduksi parasetamol.

Berdasarkan hal tersebut, kedua bahan alami yaitu ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) sama-sama memiliki antioksidan yang berperan sebagai nefroprotektor, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang perbandingan efektivitas nefroprotektor ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*).

METODE

Penelitian ini adalah penelitian experimental yang bersifat *The Post Test Only Control Group* pada tikus Galur Wistar putih. Bahan yang dipakai adalah ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan registrasi BPOM dan dilakukan uji kualitatif fitokimia di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, pemeliharaan dan perlakuan hewan coba dilakukan di Unit Pengelolaan Hewan Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara sedangkan pengamatan hasil histopatologi jaringan dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

Populasi pada penelitian ini adalah tikus galur wistar putih (*Rattus norvegicus*). Populasi didapat dari Unit Pengelolaan Hewan Laboratorium (UPHL) Departemen Farmakologi

Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Penentuan besar sampel dihitung menggunakan rumus Federer: $(t-1)(n-1) \geq 15$.¹² Sehingga jumlah hewan coba yang diperlukan dalam penelitian ini adalah sebanyak 24 ekor dengan tiap kelompok diberi 2 ekor cadangan, jumlah total tikus yang dibutuhkan sebanyak 32 ekor. Seluruh tikus diisolasi selama seminggu, dan ditimbang lalu dibagi menjadi 4 kelompok secara acak, kelompok terdiri dari 6 ekor tikus, tikus cadangan pada tiap-tiap kelompok adalah 2 ekor tikus, dengan penjelasan sebagai berikut:

- Kelompok kontrol negatif (KN) adalah kelompok normal dan hanya diberikan diet standart ditambah *aquadest*.
- Kelompok kontrol positif (KP), diberi pakan standar dengan parasetamol 500 mg/kgBB/hari *per oral (p.o)*.⁶
- Kelompok perlakuan 1 (P1), diberi diet standar ditambah ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*)³ dosis 500 mg/kgBB/hari lalu setelah 30 menit diberikan parasetamol dosis 500 mg/kgBB/hari *per oral (p.o)*.
- Kelompok perlakuan 2 (P2), diberi diet standar ditambah ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*)¹¹ dosis 500mg/kgBB/hari setelah 30 menit diberikan parasetamol 500 mg/kgBB/hari *per oral (p.o)*.

Perlakuan dilakukan setiap hari dengan waktu yang sama selama 7 hari. Kemudian tikus didekapitasi dan diambil organ ginjalnya untuk dibuat preparat histopatologi.

Preparat histopatologi diperiksa di bawah mikroskop masing-masing pada lima lapang pandang mikroskopik dengan pembesaran 40x. Sasaran yang dibaca adalah perubahan struktur histopatologi pada daerah tubulus kontortus proksimal dengan parameter tubulus normal, tubulus degenerasi,

nekrosis sel tubulus, jumlah inti yang mengalami piknosis inti (penyusutan inti), dan jumlah limfosit pada glomerulus, kemudian parameter tersebut dijumlah lalu dipersentase. Dan selanjutnya disesuaikan dengan kriteria skoring penilaian tingkat kerusakan kortesk ginjal. Sistem skoring yang digunakan berdasarkan kerusakan ginjal yaitu :¹³

- 0: normal
- 1: mild, <25% kerusakan pada korteks.
- 2: moderate, 25%-50% kerusakan pada korteks.
- 3: Severe : 50%-75% kerusakan pada korteks.
- 4: kerusakan luas melibatkan 75%-100% korteks.

Pembacaan data dari hasil pengamatan histopatologis yang telah dikumpulkan, dikomfirmasi keahlian patologi anatomi, dan diskoring kemudian dianalisis menggunakan uji *nonparametric* yaitu *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan *post hoc Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar semua kelompok perlakuan.

HASIL

Pemeriksaan histopatologi ginjal dilakukan oleh ahli patologi anatomi di Laboratorium Histologi Universitas Sumatera Utara menggunakan mikroskop *Olympus CX 22* dengan perangkat lunak *TrueChrome III* dengan perbesaran 40x. Hasil pengamatan pada jaringan ginjal dari setiap kelompok dan hasil penilaian skoring dapat dilihat di bawah ini.

Tabel 1. Hasil Skoring Pada Pengamatan Penelitian dari Masing-masing Kelompok

| Skor | KN | KP | P1 | P2 |
|------|-------|-------|-------|-------|
| 0 | 0,66% | 0% | 0% | 0% |
| 1 | 0,33% | 0% | 0,66% | 0,16% |
| 2 | 0% | 0,33% | 0,33% | 0,66% |

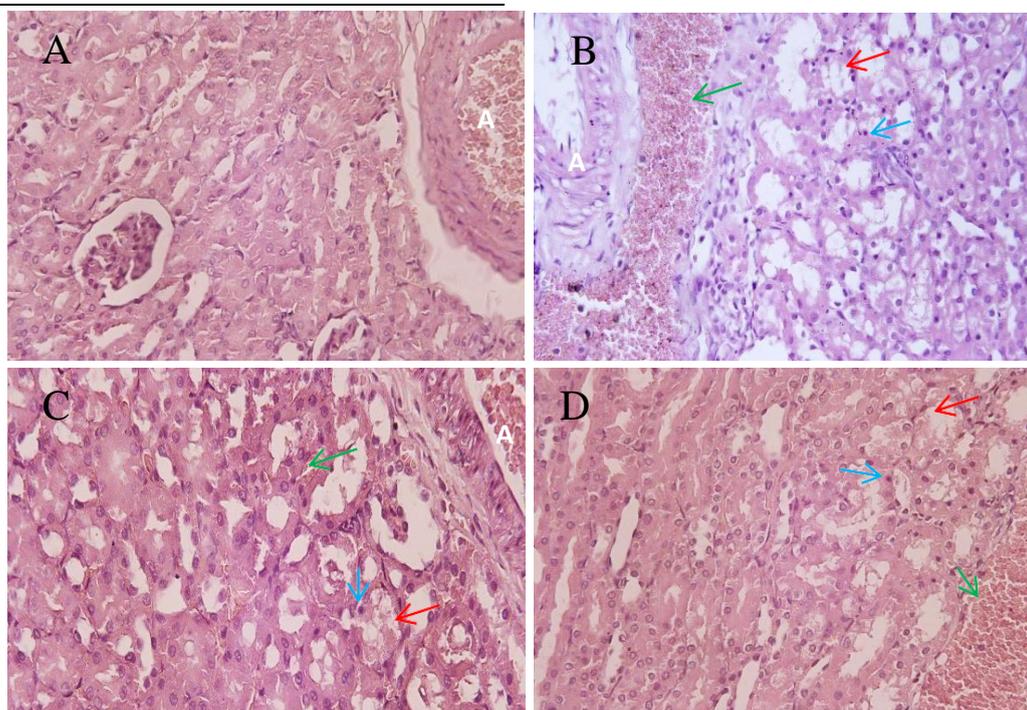
| | | | | |
|---|----|-------|----|-------|
| 3 | 0% | 0,33% | 0% | 0,16% |
| 4 | 0% | 0,33% | 0% | 0% |

Tabel 2. Uji kruskal wallis Hasil Skoring Pada Pengamatan Penelitian dari Masing-masing Kelompok

| NO | KN | KP | P1 | P2 | <i>p</i> |
|----|----|----|----|----|----------|
| 1 | 0 | 2 | 2 | 2 | 0.000 |
| 2 | 1 | 4 | 1 | 2 | |
| 3 | 0 | 4 | 1 | 3 | |
| 4 | 1 | 3 | 1 | 1 | |
| 5 | 0 | 2 | 1 | 2 | |
| 6 | 0 | 3 | 2 | 2 | |

Tabel 3. Uji Mann-Whitney

| Perbandingan Skoring | Sig. | P |
|----------------------|-------|-------|
| KP dan KN | 0.003 | <0,05 |
| KP dan P1 | 0.004 | <0,05 |
| KP dan P2 | 0.014 | <0,05 |
| KN dan P1 | 0.014 | <0,05 |
| KN dan P2 | 0.004 | <0,05 |
| P1 dan P2 | 0.075 | >0,05 |



Gambar 1. (A) Struktur ginjal tikus normal skor 0 pada kontrol negatif (KN), arteri arkuata (A). Perbesaran 40x. (B) Histopatologi jaringan ginjal tikus skor 3 pada kontrol positif (KP), terlihat degenerasi tubulus (merah), sel nekrosis dengan piknotik inti (biru), perdarahan (hijau), arteri arkuata (A) dengan luas kerusakan 50%-75% pada korteks. Perbesaran 40x. (C) Histopatologi jaringan ginjal tikus skor 1 pada perlakuan 1 (P1) terlihat degenerasi tubulus (merah), sel nekrosis dengan piknotik inti (biru), perdarahan (hijau), arteri arkuata (A) dengan luas kerusakan <25% pada korteks. Perbesaran 40x. (D) Histopatologi jaringan ginjal tikus skor 2 pada perlakuan 2 (P2), terlihat degenerasi tubulus (merah), sel nekrosis dengan piknotik inti (biru), perdarahan (hijau), dengan luas kerusakan 25%-50% pada korteks. Perbesaran 40x.

Parasetamol dapat merusak ginjal terlihat dari ada perbedaan derajat kerusakan ginjal antara kelompok KP dengan KN, temulawak dan jintan hitam memiliki efek hepatoprotektor namun belum maksimal yang terlihat dari masih adanya perbedaan signifikan antara kontrol negatif dengan P1 dan P2, kemudian antara jintan hitam dan kurkuma terlihat tidak ada perbedaan efektifitas nefroprotektor.

DISKUSI

Ginjal adalah organ penting yang berperan dalam manusia dan hewan. Fungsi umum dari ginjal adalah untuk mengatur tekanan darah, keseimbangan asam-basa, keseimbangan elektrolit dan ekstraseluler volume cairan. Mereka juga menghilangkan zat-zat dari tubuh termasuk produk metabolisme, beragam racun dan zat asing lainnya seperti obat-obatan, pestisida dan bahan tambahan makanan.^{14,15}

Fokus kerusakan pada penelitian ini terlihat pada tubulus-tubulus ginjal disekitar pembuluh darah yang memperdarahi ginjal, hal ini mengikuti prinsip *drug-induced nephrotoxicity* yang merusak ginjal secara tidak langsung melalui aliran darah.¹⁶ Perkiraan hal lain mencakup distribusi parasetamol ke organ ginjal kurang maksimal, sehingga kerusakan gambaran ginjal terbatas pada aliran-aliran darah yang baru memasuki ginjal seperti yang didapatkan pada penelitian kali ini dimana terdapat banyak gambaran degenerasi tubulus dan nekrosis pada tubulus yang berada disekitar arteri arkuata. Adanya faktor lingkungan yang mungkin tidak bisa dikontrol pada penelitian ini, faktor yang mungkin mempengaruhi kejadian ini adalah aktivitas fisik dari tikus tersebut, infeksi virus atau bakteri yang tidak dapat dicegah.

Pada penelitian ini diamati aktivitas nefroprotektor pemberian

ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) terhadap kerusakan histologis ginjal akibat paparan parasetamol. Kerusakan histologis ginjal merupakan nilai skor kerusakan daerah korteks ginjal yang dievaluasi dari perubahan yang terjadi pada tubulus proksimal dan glomerulus berupa tubulus degenerasi, nekrosis sel tubulus, jumlah inti yang mengalami piknosis inti (penyusutan inti), perdarahan dan jumlah limfosit pada glomerulus.¹³

Hasil analisis jumlah kerusakan histologi ginjal menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan ($p = 0,003 < 0,05$) antara KP dan KN yang berarti kerusakan histologi ginjal lebih besar pada KP yang diberi parasetamol dibandingkan KN yang tidak diberi parasetamol. Hal ini sesuai dengan penelitian Ali Yousuf, dkk bahwa pemberian parasetamol dosis 500 mg/kgBB selama 7 hari dapat menyebabkan kerusakan histologi ginjal melalui pembentukan metabolit NAPQI yang melampaui persediaan *glutathione* dan memicu terjadinya kerusakan sel ginjal.^{6,17}

Berdasarkan studi histopatologis, daerah korteks ginjal terutama tubulus proksimal merupakan bagian yang paling banyak mengalami kerusakan pada kasus nefrotoksitas.⁵ Hal ini terjadi karena efek toksisitas parasetamol yang terjadi akibat konversi parasetamol menjadi metabolit yang sangat aktif, elektrofilik, dan bersifat toksik bagi hati serta ginjal, yaitu NAPQI oleh enzim sitokrom P-450 mengakibatkan kehilangan GSH seluler, NAPQI juga menstimulasi pembentukan molekul ROS yang akan bereaksi dengan protein seluler serta memicu peroksidasi lipid. Peningkatan peroksidasi lipid ditandai dengan naiknya kadar MDA yang merupakan senyawa penanda stres oksidatif yang selanjutnya menyebabkan kerusakan tubular yang dapat ditandai dengan

degenerasi tubulus, dilatasi tubulus, nekrosis, perdarahan, dan inti piknotik.³ Tubulus proksimal merupakan lokasi yang paling sering mengalami kerusakan akibat toksisitas dikarenakan sitokrom P-450 di ginjal sebagian besar berada di tubulus proksimal.¹⁸

Namun pada penelitian ini, hasil pengamatan mikroskopis histologi ginjal pada KP yang diberikan parasetamol dominan didapatkan gambaran degenerasi tubulus di sekitar arteri arkuata, nekrosis dan perdarahan yang luas menuju daerah korteks, namun tidak dijumpai adanya gambaran limfosit pada glomerulus dan dilatasi tubulus. Setiap ginjal dipasok oleh arteri renalis yang bercabang di hilus yang bercabang menjadi beberapa arteri interlobaris. Arteri interlobaris berlanjut di ginjal di antara piramid ke arah korteks. Di taut kortikomedular, arteri interlobaris bercabang menjadi arteri arkuata, yang melengkung di basis piramid dan membentuk arteri interlobularis. Pembuluh darah ini bercabang lagi menjadi arteriol aferen, yang membentuk kapiler di glomerulus korpuskulum ginjal. Arteriol eferen meninggalkan korpuskulum ginjal dan membentuk kompleks anyaman kapiler peritubular di sekitar tubulus korteks.¹⁹ Dari anatomi aliran darah diketahui bahwa kerusakan terparah dari korteks ginjal yang menggunakan zat bersifat nefrotoksik berada disekitar arteri arkuata.

Kelompok kontrol positif (KP) hanya diberikan minum dan makan standart. Dalam kelompok kontrol positif (KP) juga terlihat gambaran nekrosis dan perdarahan minimal. Hal ini terjadi karena semua sel normal secara fisiologis akan mengalami proses apoptosis.²⁰ Dan dianggap sebagai derajat normal.²¹ Namun pengaruh variabel luar pada kelompok kontrol tidak dapat dikendalikan seperti pengaturan suhu yang kurang pas, cahaya lampu hidup 24 jam sehingga

tikus tidak dapat beristirahat dengan baik, lingkungan ruangan unit pengolahan hewan coba dan tempat pembiakan hewan coba yang sering dipakai berulang tanpa dibersihkan terlebih dahulu menyebabkan tikus terkena kutu, infeksi virus ataupun bakteri. Dimana seharusnya hewan coba ditempatkan pada ruangan bersuhu 21°C, dengan siklus 12 jam hidup-mati lampu. Hewan coba diperlakukan sesuai standar dari *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (published by the National Academy Press and Washington, D. C.)*.²²

P1 yang diberi ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dan parasetamol menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p = 0,004 < 0,05$) dengan KP yang hanya diberi parasetamol. Kerusakan histologi ginjal pada kelompok P1 dalam rentang skor 1 hingga skor 2 (terdapat gambaran degenerasi tubulus, nekrosis dan perdarahan dengan luas kerusakan <25%-50% pada korteks). Hal ini sesuai dengan penelitian Canayakin dkk pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dosis 1000 mg/kgBB adalah dosis paling efektif namun dosis 500 mg/kgBB sudah memiliki efek nefroprotektif terhadap efek toksik parasetamol karena jintan hitam (*Nigella sativa*) memiliki mekanisme antioksidan yang dapat menekan terbentuknya *Reactive Oxygen Species (ROS)*.³ Penelitian lain dengan dosis yang lebih rendah oleh Hosseinian dkk dengan pemberian ekstrak jintan hitam dosis 100-200 mg/Kg BB selama 6 hari sudah dapat menurunkan kerusakan histologi ginjal yang di sini menggunakan cisplatin untuk menginduksi kerusakan ginjal.²³

Efek nefroprotektor ini dikaitkan dengan bahan aktif *Thymoquinone* dan flavonoid mencegah terjadinya depleksi enzim antioksidan yaitu GSH.^{24,25} GSH adalah tripeptida, yaitu, ditemukan di banyak jaringan mamalia dan dapat menghilangkan

radikal bebas dan NAPQI, yang merupakan perantara parasetamol reaktif.²⁶

P1 merupakan kelompok perlakuan menggunakan ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dengan dosis 500 mg/kgBB dan parasetamol dosis 500 mg/kgBB didapatkan perbedaan signifikan ($p = 0,014 < 0,05$) dengan KN yang memiliki gambaran histologi ginjal normal. Dari sini diketahui bahwa pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) belum dapat melindungi secara maksimal terhadap efek toksik parasetamol yang menyebabkan kerusakan histologi ginjal.

P2 yang diberikan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dan parasetamol menunjukkan kerusakan histologi ginjal dengan perbedaan signifikan ($p = 0,014 < 0,05$) terhadap kelompok KP yang hanya diberi parasetamol. P2 terjadi kerusakan histologi ginjal dalam rentang skor 2 hingga skor 3 (terdapat gambaran degenerasi tubulus, nekrosis dan perdarahan dengan luas kerusakan 25%-75% pada korteks). Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan kandungan antioksidan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) memiliki efek nefroprotektif terhadap efek toksik parasetamol.¹¹ Efek ini dikaitkan dengan kandungan kurkumin dalam temulawak yang dapat berfungsi sebagai antioksidan menangkal radikal bebas dan mencegah terjadinya stres oksidatif dan menekan pembentukan NF- κ B yang merupakan faktor transkripsi sejumlah gen penting dalam proses imunitas dan inflamasi, salah satunya untuk membentuk TNF- α .^{9,10} Efek nefroprotektif ternyata juga ditunjukkan oleh xanthorrhizol memiliki efek antiinflamasi, antioksidan, dan nefroprotektif. Antiinflamasi yang ditunjukkan adalah xanthorrhizol menekan aktivitas COX-1 dan iNOS dengan cara menghambat produksi

Prostaglandin E2 (PGE2) dan Nitrit Oksida (NO). Sedangkan, efek antioksidan yaitu menekan peroksidasi lipid yang diinduksi oleh H2O2.¹⁰

P2 merupakan kelompok perlakuan menggunakan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan dosis 500 mg/kgBB dan parasetamol dosis 500 mg/kgBB didapatkan perbedaan signifikan ($p = 0,004 < 0,05$) dengan KN yang memiliki gambaran histologi ginjal normal. Dari sini diketahui bahwa pemberian ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) belum dapat melindungi secara maksimal terhadap efek toksik parasetamol yang menyebabkan kerusakan histologi ginjal. Namun penelitian oleh cekmen dkk pemberian ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dosis 200 mg/kgBB sudah memiliki potensi sebagai nefroprotektor.²⁷

Efek protektif yang belum mencapai sempurna pada penelitian ini maka mungkin perlu di pastikan dan dengan masih berbeda-bedanya dosis efektif yang dinyatakan oleh peneliti, serta bervariasinya metode yang digunakan dalam mendapatkan ekstrak, maka diperlukan penelitian yang terstandar dan kajian fitokimia untuk menentukan dosis yang paling efektif, penelitian ini hanya melakukan analisis fitokimia secara kualitatif dan ternyata kandungan flavonoid memang ada pada ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), untuk menentukan berapa kadar sebenarnya dari ekstrak ini perlu penelitian uji kuantitatif dengan menggunakan uji HPLC (*High performance liquid chromatography*).

Hasil analisis kerusakan histologi ginjal pada P1 yang diberi ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan ($p = 0,075 > 0,05$) terhadap P2 yang diberi ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*). Yang berarti

kedua ekstrak tersebut memiliki efektivitas nefroprotektor yang sama.

KESIMPULAN

1. Pemberian parasetamol dengan dosis toksik selama 7 hari telah menunjukkan adanya kerusakan pada ginjal tikus.
2. Terdapat efek protektif pada ginjal tikus yang diberikan ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) pada ginjal yang telah dirusak oleh parasetamol dengan dosis 500 mg/kgBB/hari.
3. Terdapat pengaruh protektif temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) yang telah di induksi oleh parasetamol dengan dosis 500 mg/kgBB/hari.
4. Ekstrak Jintan hitam (*Nigella sativa*) dosis 500 mg/kgBB/hari dan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) 500 mg/kgBB/hari memiliki efektivitas yang sama sebagai nefroprotektor.

DAFTAR PUSTAKA

1. Biol BC, Hegazy MGA, Emam MA, Khattab HI, Helal NM. Biological activity of *Echinops spinosus* on inhibition of paracetamol-induced renal inflammation. 2018;11:1-11.
2. Moshai-nezhad P, Hosseini SM, Yahyapour M, Iman M. Protective effect of ivy leaf extract on paracetamol-induced oxidative stress and nephrotoxicity in mice. 2019;8(1):64-68.
3. Canayakin D, Bayir Y, Baygutalp NK, et al. Paracetamol-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats : the protective role of *Nigella sativa*. 2016;0209.
4. Kidney RATS, High G, Of D. Pengaruh Pemberian Propolis Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih yang Diberikan Parasetamol Dosis Tinggi. 2017;9(1):9-15.
5. Chinnappan SM, George A, Thaggikuppe P, et al. Nephroprotective Effect of Herbal Extract *Eurycoma longifolia* on Paracetamol-Induced Nephrotoxicity in Rats. 2019;2019.
6. Ali MY, Morshed MR, Hossen MS, et al. Antioxidant Properties and Dose-Dependent Effects of Monkey Fruits (*Artocarpus lakoocha*) against Paracetamol-Induced Hepato-Renal Toxicity in Rats. *Am J Pharmacol Toxicol*. 2018;13(1):16-29.
7. Safarsyah AI. Hadits nabi saw tentang obat dalam tinjauan ilmu kedokteran modern. 2018;12(2).
8. Hamdy R, Salama M, Abd-el-hameed NA. Nephroprotective Effect of *Nigella sativa* and *Matricaria chamomilla* in Cisplatin Induced Renal Injury. 2011;2011(July):185-195.
9. Sholihah R, Haris MS, Abror YK. Analysis of APO – B Serum Level in Balb/C Mice Hypercholesterolemic Against Temulawak Extract (*Curcuma xanthoriza* Roxb). 2019.
10. Shakti SW, Ismail A, Bambangwitjahyo RB. Pengaruh Pemberian Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) Dosis Bertingkat Terhadap Gambaran Mikrokropis Ginjal Mencit Balb / c Jantan. 2019;8(1):509-522.
11. Klarissa C. Uji Efek Pemberian Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* roxb.) terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Parasetamol. 2016.
12. Federer W. *Experimental Design, Theory and Application*. New York, Mac Millan; 1963.
13. Ozatik FY, Teksen Y, Kadioglu E, Ozatik O, Bayat Z. Effects of hydrogen sulfide on acetaminophen-induced acute renal toxicity in rats. *Int Urol Nephrol*. 2019;0(0):0.
14. Srinivasan V, Panneerselvam R, Gunasekaran S, Palani S. Ethanolic

- extract of *Melia Azadirachta* against acetaminophen induced nephrotoxicity. *Int J PharmTech Res.* 2014;6(1):70-79.
15. Wudil A, Sarki S. The effect of aqueous stem bark extract of *Erythrina mildbraedii* on acetaminophen induced nephrotoxicity in rats. *Bayero J Pure Appl Sci.* 2015;8(1):10.
 16. Miyahara T. Drug-induced renal disorders. *Nippon rinsho Japanese J Clin Med.* 1978;Suppl(3):2320-2321.
 17. Kandemir FM, Kucukler S, Eldutar E, Caglayan C. Chrysin Protects Rat Kidney from Paracetamol-Induced Oxidative Stress , Inflammation , Apoptosis , and Autophagy : A Multi-Biomarker Approach.
 18. Azzami NA, Nugroho TE, Serum U. Parasetamol dan Morfin Terhadap Kadar Ureum Serum. 2019;8(1):323-332.
 19. Mescher AL. *Histologi Dasar Junqueira Teks & Atlas.* 14th ed. (Susanti F, Wijaya HS, Agustina L, Agustin S, Sadikin RE, eds.). Jakarta: EGC; 2014.
 20. Vinay Kumar, Ramzi S. Cotran SLR. *Buku Ajar Patologi Robbins Volume 1.* VII. Jakarta: EGC; 2007.
 21. Khrestyawan. Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma Cacao*) Terhadap Kerusakan Sel Ginjal Mencit (*mus Mucukus*) Yang Diinduksi Parasetamol. 2010;0(November):210.
 22. Kushwah, D S. Salman, M T. Singh, P. Verma, V K. Ahmad A. Protective Effects of Ethanolic Extract of *Nigella sativa* Seed in Paracetamol Induced Acute Hepatotoxicity In vivo. *Pakistan J Biol Sci.* 2014;17(4):517-522.
 23. Hosseinian S, Hadjzadeh M, Roshan NM, Khazaei M. of Kidney Diseases and Transplantation Original Article Renoprotective Effect of *Nigella sativa* against Cisplatin-induced Nephrotoxicity and Oxidative Stress in Rat. 2018;29(1):19-29.
 24. Seran IC. Pengaruh Ekstrak Etanol Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa* L.) terhadap Antihiperqlikemik dan Histologi Ginjal pada Tikus Diabetes Nefropati yang Diinduksi Aloksan. 2019:1-80.
 25. Ali J, Arshad A, Asif P, Rashid H, Imran M. Biomedicine & Pharmacotherapy Protective e ffects of *Cinnamomum zeylanicum* L . (Darchini) in acetaminophen-induced oxidative stress , hepatotoxicity and nephrotoxicity in mouse model. 2019;109:2285-2292.
 26. Yayla M, Halici Z, Unal B, Bayir Y, Akpinar E, Gocer F. Protective effect of Et-1 receptor antagonist bosentan on paracetamol induced acute liver toxicity in rats. *Eur J Pharmacol.* 2014;726(1):87-95.
 27. Cekmen M, Ilbey YO, Ozbek E, Simsek A, Somay A, Ersoz C. Curcumin prevents oxidative renal damage induced by acetaminophen in rats. *Food Chem Toxicol.* 2009;47(7):1480-1484.