



**EFEK EKSTRAK KULIT BATANG MANGROVE (*Sonneratia alba*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL  
TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI CISPLATIN**

**SKRIPSI**

Oleh

**Novyanti Nur Arini**

**NIM 132010101048**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2016**



**EFEK EKSTRAK KULIT BATANG MANGROVE (*Sonneratia alba*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL  
TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI CISPLATIN**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Ilmu Kedokteran (S1) dan mencapai gelar Sarjana  
Kedokteran

Oleh

**Novyanti Nur Arini**

**NIM 132010101048**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2016**

### PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

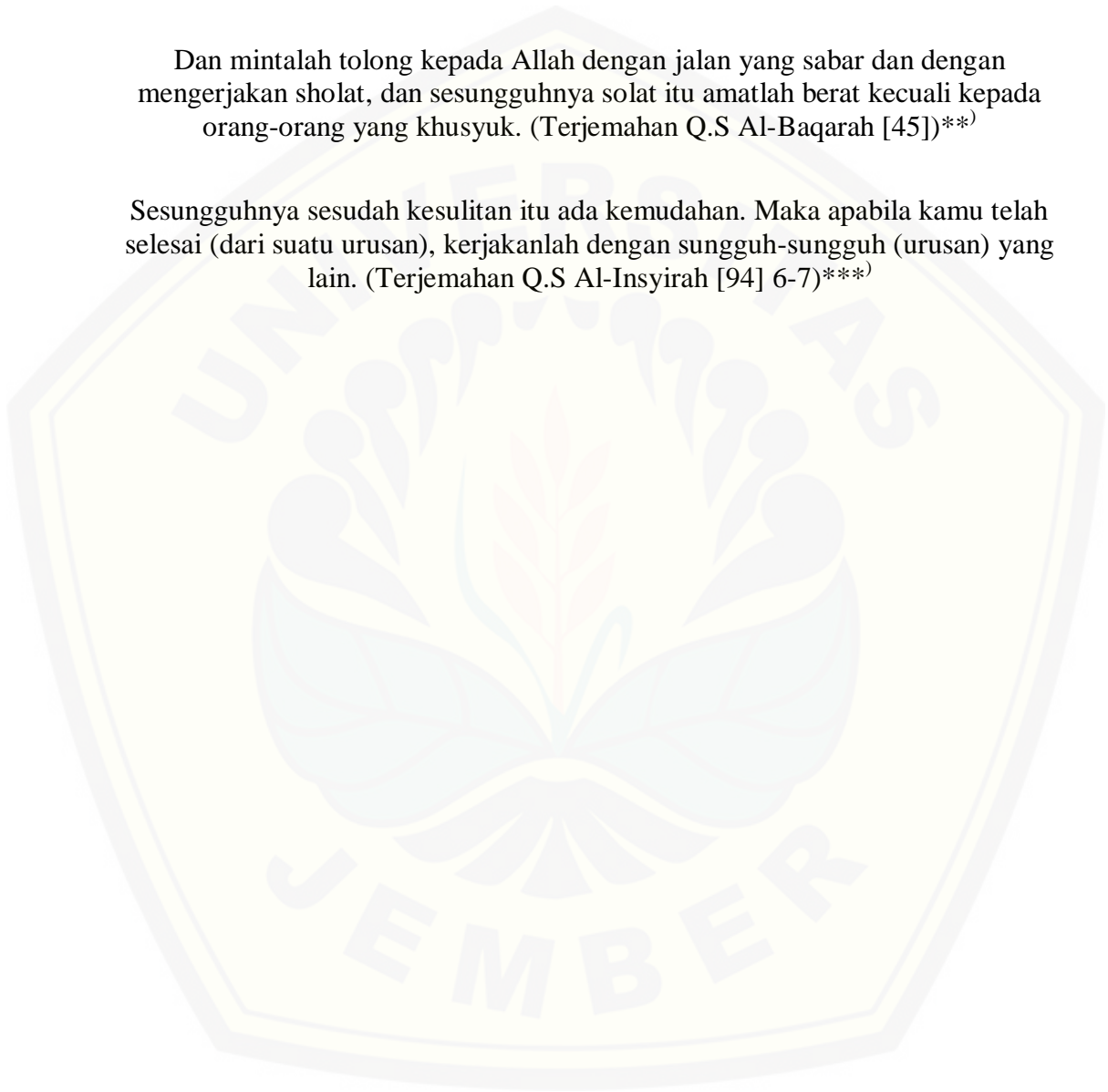
1. Allah SWT dengan rahmat dan seluruh ketentuan-Nya yang telah diberikan kepada saya;
2. Bapak Trimulyanto, Ibu Rini Widowati yang senantiasa selalu memberikan doa, bimbingan, dukungan, harapan, dan kasih sayang tiada henti, serta pengorbanan yang tak ternilai hingga saya dapat berada pada kondisi saat ini;
3. Seluruh keluarga besar bapak dan ibu yang selalu mendoakan dan mendukung sepenuh hati;
4. Para pahlawan tanpa tanda jasa yang telah memberikan ilmu dan mendidiku penuh kesabaran untuk menjadikanku manusia yang berilmu dan bertakwa;
5. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang menjadi kebanggaan saya terakreditasi A.

## MOTO

Allah tidak membebankan seseorang melainkan dengan kesanggupannya.  
(Terjemahan Q.S Al-Baqarah [286])\*<sup>)</sup>

Dan mintalah tolong kepada Allah dengan jalan yang sabar dan dengan mengerjakan sholat, dan sesungguhnya solat itu amatlah berat kecuali kepada orang-orang yang khusyuk. (Terjemahan Q.S Al-Baqarah [45])\*\*<sup>)</sup>

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain. (Terjemahan Q.S Al-Insyirah [94] 6-7)\*\*\*)<sup>)</sup>



---

\*) \*\*) Departemen Agama Republik Indonesia. 1981. Al Qur'an dan Terjemahannya. Semarang: PT Kumudasmoro Grafindo

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Novyanti Nur Arini

NIM : 132010101048

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Efek Ekstrak Kulit Batang Mangrove (*Sonneratia alba*) terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Wistar yang diinduksi Cisplatin” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali dalam pengutipan substansi yang sudah disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 3 Januari 2017  
Yang menyatakan,

Novyanti Nur Arini  
NIM 132010101048

**SKRIPSI**

**EFEK EKSTRAK KULIT BATANG MANGROVE (*Sonneratia alba*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI CISPLATIN**

Oleh

Novyanti Nur Arini  
NIM 132010101048

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : dr. Elly Nurus Sakinah, M. Si.

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Rena Normasari, M. Biomed.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Efek Ekstrak Kulit Batang Mangrove (*Sonneratia alba*) terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Wistar yang diinduksi Cisplatin” telah diuji dan disahkan pada

hari, tanggal : Selasa, 3 Januari 2017

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Penguji I,

Penguji II,

dr. Al Munawir, M.Kes., Ph.D.  
NIP 19690901 199903 1 003

dr. Cicih Komariah, Sp. M.  
NIP 19740928 200501 2 001

Penguji III,

Penguji IV,

dr. Elly Nurus Sakinah, M. Si.  
NIP 19840916 200801 2 003

dr. Rena Normasari, M. Biomed.  
NIP 19830512 200812 2 002

Mengesahkan  
Dekan,

dr. Enny Suswati, M.Kes  
NIP 19700214 199903 2 001



## RINGKASAN

**Efek Ekstrak Kulit Batang Mangrove (*Sonneratia alba*) terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Wistar yang diinduksi Cisplatin;** Novyanti Nur Arini, 132010101048; 2016; 49 halaman; Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Nefrotoksisitas akibat penggunaan cisplatin memiliki angka mortalitas yang cukup tinggi. Cisplatin dapat mengakibatkan gagal ginjal akut, hipomagnesium, nekrosis tubuler akut yang secara patofisiologi merupakan akibat overproduksi dari sitokin pro-inflamasi seperti *Tumor Necrosis Factor-Alpha* (TNF- $\alpha$ ) dan *Superoksida Anion* ( $O_2^-$ ). Cisplatin menyebabkan kematian sel apoptosis yang ditandai dengan *apoptotic bodies* pada korteks ginjal. Apoptosis dipicu melalui jalur intrinsik oleh kegagalan metabolik dan jalur ekstrinsik oleh aktivasi *death receptor*. Cisplatin menimbulkan stress oksidatif pada kedua jalur tersebut sehingga memerlukan antioksidan.

Pengendalian dengan antioksidan diperlukan untuk mencegah kerusakan korteks ginjal akibat penggunaan cisplatin. *Sonneratia alba* merupakan salah satu tanaman yang telah terbukti sebagai antioksidan, antibakteri dan antidiare. Tanin pada *Sonneratia alba* dapat meningkatkan aktivasi enzim SOD sehingga produksi radikal bebas *Superoksida Anion* ( $O_2^-$ ) dapat ditekan. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) terhadap gambaran histopatologi degenerasi hidrofik, nekrosis, dan dilatasi tubulus ginjal tikus wistar yang diinduksi cisplatin.

Penelitian ini merupakan penelitian *true eksperimental design* dengan rancangan *post test only group design*. Sejumlah 25 ekor tikus wistar dengan berat 200 gram dan usia 2-3 bulan dibagi dalam lima kelompok kelompok normal K(n), kelompok kontrol negatif K(-), kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), dan kelompok perlakuan 3 (P3). Sampel tikus diberi perlakuan setelah diadaptasi selama tujuh hari. Perlakuan yang diberikan berupa pemberian ekstrak kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) pada P1 (dosis 4,5 mg/kgBB), P2 (dosis 9 mg/kgBB) dan P3 (dosis 18 mg/kgBB) selama 10 hari secara per oral, kemudian dilanjutkan dengan induksi cisplatin pada hari ke 10 secara intra peritoneal pada semua kelompok, kecuali K(n). Hasil menunjukkan kerusakan gambaran degenerasi hidrofik, nekrosis dan dilatasi dengan nilai paling rendah dari K(n) (skor  $0,267 \pm 0,305$ ). Kemudian diikuti oleh P3 (skor  $0,4 \pm 0,346$ ). Pada P2 (skor  $0,467 \pm 0,416$ ) didapatkan rerata kerusakan lebih tinggi dari P3. Sedangkan pada P1 (skor  $1,333 \pm 0,115$ ) yang memiliki nilai kerusakan lebih tinggi dibandingkan tiga kelompok lainnya yakni K(n), P2, dan P3. K(-) (skor  $1,8 \pm 0,0$ ) memiliki gambaran kerusakan tertinggi. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji



*Post Hoc* dan menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan ( $p \leq 0,05$ ). Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan ekstrak metanol kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) mempunyai potensi antioksidan kaya kandungan tanin dan berfungsi sebagai pencegahan nefrotoksisitas yang diinduksi cisplatin.



## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Ekstrak Kulit Batang Mangrove (*Sonneratia alba*) terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Wistar yang diinduksi Cisplatin”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. dr. Enny Suswati, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si dan dr. Rena Normasari, M.Biomed. selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu dan tenaga untuk membimbing dan memotivasi saya dalam melakukan penelitian dan menyusun skripsi ini sebaik-baiknya;
3. Ibu Rini Widowati, S.Pd dan Bapak Trimulyanto, S.Pd tercinta atas dukungan moril, materi, doa dan semua curahan kasih sayang. Kebahagiaan kalian adalah segalanya untukku;
4. Teman seperjuanganku Kiki Martha A., Tristira Uvina, Thalita Yuni A., Cicik Tri J., Asis Fitriana D., Anindya Sekar T., Nurul Haryani, terimakasih atas semangat untuk saling berbagi ilmu, dukungan, serta canda tawa selama menempuh pendidikan di FK;
5. Sahabat-sahabatku Firda Ratnasari S., Aving Grafiar H., Andika Sulistian, Zulfa, Dini Gerisha, Syahrul dan Edi Sutrisno yang meski sementara tapi kehadirannya berarti buat saya selama di Jember;
6. Teknisi Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Mas Agus Murdojohadi, dan Teknisi Laboratorium Farmakologi fakultas Kedokteran, Mbak Lilik terima kasih atas bantuan dan kerjasama, dukungan serta masukan selama penelitian ini;

7. Keluarga angkatan 2013 (Vesalius) yang selalu saling mendukung dan menjadi teman seperjuangan demi mendapatkan gelar sarjana kedokteran;
8. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 3 Januari 2017

Penulis



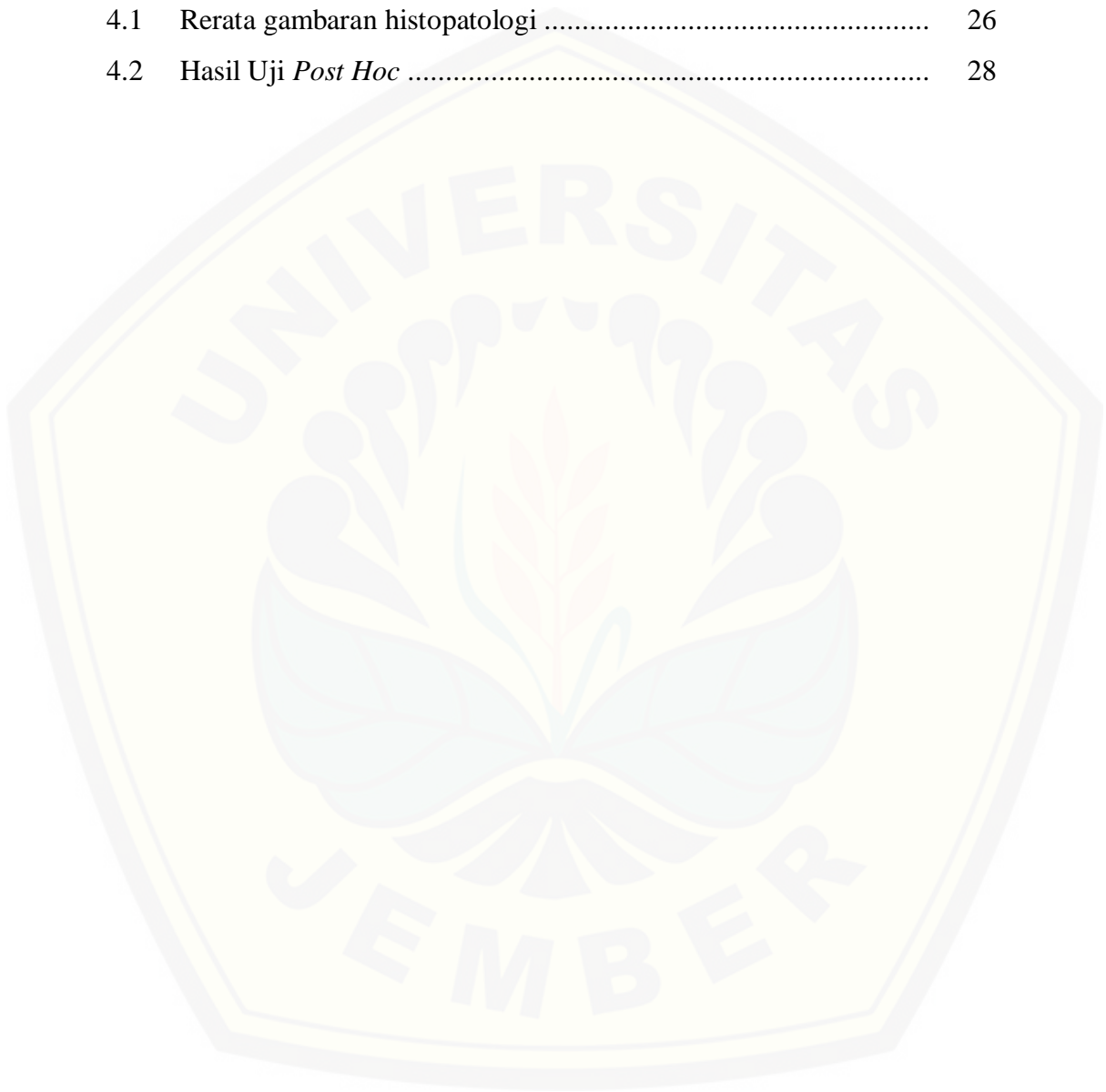
## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN BIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvi
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	3
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
<b>2.1 Mangrove (<i>Sonneratia Alba</i>)</b> .....	4
2.1.1 Taksonomi Mangrove ( <i>Sonneratia Alba</i> ).....	4
2.1.2 Morfologi Mangrove ( <i>Sonneratia Alba</i> ).....	4
2.1.3 Antioksidan dalam Mangrove ( <i>Sonneratia Alba</i> ).....	5
<b>2.2 Cisplatin</b> .....	8
2.2.1 Farmakodinamik Cisplatin.....	8
2.2.2 Farmakokinetik Cisplatin.....	8
2.2.3 Cisplatin menimbulkan nefrotoksisitas.....	9
<b>2.3 Ginjal</b> .....	11
2.3.1 Anatomi Ginjal.....	12
2.3.2 Histologi Ginjal.....	13
2.3.3 Patofisiologi Kerusakan Ginjal.....	14
<b>2.4 Kerangka Konsep</b> .....	16
<b>2.5 Hipotesis</b> .....	17
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	18

<b>3.1 Jenis Penelitian</b> .....	18
<b>3.2 Rancangan Penelitian</b> .....	18
<b>3.3 Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	19
<b>3.4 Populasi dan Sampel Penelitian</b> .....	19
3.4.1 Populasi .....	19
3.4.2 Sampel Penelitian .....	19
3.4.2.1 Kriteria Inklusi .....	19
3.4.2.2 Kriteria Eksklusi .....	19
3.4.3 Besar Sampel .....	19
<b>3.5 Variabel Penelitian</b> .....	20
<b>3.6 Defisini Operasional</b> .....	20
<b>3.7 Alat dan Bahan</b> .....	21
3.7.1 Alat .....	21
3.7.2 Bahan .....	22
<b>3.8 Prosedur</b> .....	22
3.8.1 Pemilihan Sampel .....	22
3.8.2 Persiapan Sampel Tikus .....	22
3.8.3 Pembuatan Ekstraksi Metanol <i>Sonneratia alba</i> .....	22
3.8.4 Penginduksian Ekstrak pada Tikus .....	23
3.8.5 Penginduksian Cisplatin pada Tikus .....	23
3.8.6 Terminasi Hewan Coba .....	23
3.8.7 Pembuatan dan Pengamatan Gambaran Histo PA .....	24
<b>3.9 Analisis Data</b> .....	24
<b>3.10 Alur Penelitian</b> .....	24
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	25
<b>4.1 Hasil Penelitian</b> .....	25
4.1.1 Hasil Ekstraksi dan Maserarsi .....	25
4.1.2 Gambaran Histopatologi .....	25
<b>4.2 Analisis Data</b> .....	28
<b>4.3 Pembahasan</b> .....	28
<b>BAB 5. KESIMPULAN</b> .....	31
<b>5.1 Kesimpulan</b> .....	31
<b>5.2 Saran</b> .....	31
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	32
<b>LAMPIRAN</b> .....	36

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
3.1 Penilaian Histopatologi .....	21
4.1 Rerata gambaran histopatologi .....	26
4.2 Hasil Uji <i>Post Hoc</i> .....	28



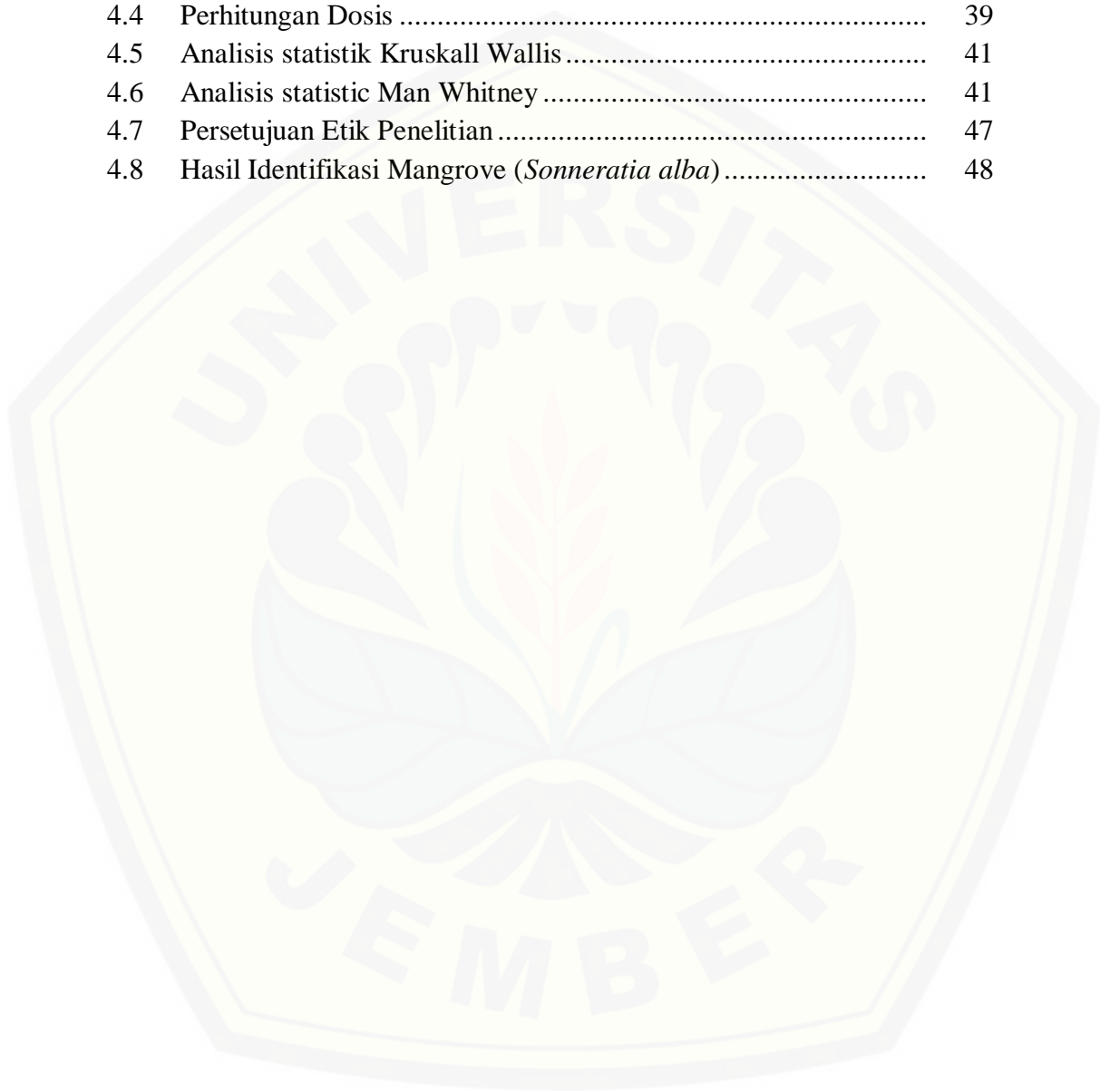


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Kulit Batang Mangrove <i>Sonneratia Alba</i> .....	5
2.2 Struktur Kimia Saponin.....	6
2.3 Struktur Kimia Tannin.....	7
2.4 Glomerulus dan Tubulus Renalis .....	13
2.5 Akut Tubular Nekrosis .....	13
3.1 Skema Rancangan Penelitian.....	18
3.2 Sediaan Cisplatin.....	20
3.3 Alur Penelitian .....	24
4.1 Grafik rerata kerusakan histopatologi .....	26
4.2 Hasil histopatologi ginjal.....	27

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
4.1 Skoring degenerasi hidrofik.....	36
4.2 Skoring dilatasi tubulus .....	37
4.3 Skoring nekrosis.....	38
4.4 Perhitungan Dosis .....	39
4.5 Analisis statistik Kruskal Wallis .....	41
4.6 Analisis statistic Man Whitney .....	41
4.7 Persetujuan Etik Penelitian .....	47
4.8 Hasil Identifikasi Mangrove ( <i>Sonneratia alba</i> ).....	48



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Cisplatin merupakan obat kemoterapi yang digunakan sebagai sitostatika yang efektif untuk membunuh sel tumor padat yang kehilangan pengendalian pembelahan secara normal (Fauci, 2008). Data penggunaan cisplatin di Rumah Sakit Dokter Hasan Sadikin Bandung tahun 2007 yang menunjukkan 36% dari 369 pasien keganasan sebanyak 133 pasien keganasan lebih cocok menjalani kemoterapi dengan cisplatin (Kristianti, 2008). Pada bulan Juli hingga Desember 2012 di Rumah Sakit Kanker Dharmas Jakarta dari 53 pasien keganasan yang menjalani kemoterapi dengan cisplatin sebanyak 42 pasien ditemukan mengalami penurunan fungsi ginjal dari derajat ringan hingga berat. Cisplatin memiliki efek samping nefrotoksisitas yang cukup berbahaya dan telah dibuktikan sejak 25 tahun yang lalu (Prasetyaningrum, 2012). Dari penelitian membuktikan pemberian cisplatin 20 mg/kgBB selama 5 hari dapat menurunkan laju filtrasi glomerulus sebesar 11,7 %. Pada pemberian cisplatin 40 mg/kg BB selama 5 hari terjadi penurunan laju filtrasi glomerulus sebesar 15,8 %. Dosis di atas 50 mg/kgBB dapat menimbulkan toksisitas pada ginjal, saraf, hematologi dan organ pendengaran. Toksisitas hematologi seperti anemia yang terjadi pada minggu kelima penggunaan cisplatin dikaitkan dengan munculnya nefrotoksik terlebih dahulu yakni timbulnya kerusakan tubulus ginjal sehingga gagal memproduksi kadar eritropoetin secara normal (Elisna, 2012). Karena insiden efek samping nefrotoksisitas dari penggunaan cisplatin tergolong masih cukup tinggi sehingga memerlukan tindakan pencegahan (Prasetyaningrum, 2012).

Mekanisme nefrotoksik akibat penggunaan cisplatin dipicu dari dua jalur sehingga menimbulkan apoptosis. Melalui jalur intrinsik yang dipicu kegagalan metabolik mitokondria dan jalur ekstrinsik yang dipicu *death receptor*. Apoptosis terjadi melalui aktivasi enzim-enzim *caspase* sehingga dapat mendegradasi berbagai macam substrat di dalam sel (Marie, 2009).

Pengendalian pada nefrotoksisitas yang diinduksi cisplatin selalu mengalami perkembangan dalam hal pengobatan. Untuk mengurangi nefrotoksisitas ini telah dilakukan banyak penelitian baik dengan pengurangan pemberian dosis cisplatin dan pemberian bahan yang mengandung antioksidan akan tetapi hal ini dilaporkan tidak memberi dampak baik yang signifikan. Pemberian antioksidan seperti vitamin C, selenium, N- Acetylsistein, theophiline, silbum marianum juga pernah diberikan (Turgut, 2008). Pengobatan herbal silbum marianum dilaporkan memberi reaksi alergi ataupun diare. Dikarenakan masih kurangnya zat antioksidan yang memiliki efek samping minimal sehingga penulis tertarik meneliti zat antioksidan dari ekstrak kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) (Santosa, 2012).

Hasil penelitian Budiyanto (2015) membuktikan bahwa ekstrak kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) memiliki *Inhibition Concentration* (IC50) 12,2 µg/ml sehingga dapat dinyatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat. Suatu antioksidan dikatakan kuat jika memiliki nilai IC50 kurang dari 50 µg/ml. Ekstrak *S.alba* ini lebih baik jika dibandingkan dengan ekstrak antioksidan lain seperti ekstrak chloroform rumput laut hijau (*Ulva reticulata*) dengan IC50 270,31 µg/ml, ekstrak etanol daun kemuning (*Murraya paniculata*) dengan IC50 126,17 µg/ml dan ekstrak metanol daun katuk (*Sauropus androgunus*) dengan IC50 80,69 µg/ml ataupun dari ekstrak etanol biji buah pinang (*Areca Catechu*) dengan IC50 sebesar 77 µg/mL. Dari hasil penelitian-penelitian sebelumnya, kemampuan antioksidan kulit batang mangrove *S.alba* diduga kuat akibat tingginya kandungan senyawa antioksidan tanin, dan sedikit busa saponin. Semakin banyak kandungan tanin, semakin besar aktivitas antioksidannya karena tanin tersusun dari senyawa polifenol yang memiliki aktivitas penangkap radikal bebas. Kulit batang mangrove *Sonneratia alba* memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi sehingga dapat dipertimbangkan sebagai salah satu sumber antioksidan alami.

Dikarenakan penelitian tentang antioksidan kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) sebagai terapi nefrotoksisitas akibat cisplatin masih belum banyak dieksplorasi. Sehingga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang

aktivitas antioksidan kulit batang mangrove jenis (*Sonneratia alba*) yang diduga mempunyai potensi nefroprotektor.

### **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian di atas, maka rumusan masalah yang dapat diambil adalah apakah terdapat efek ekstrak kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) terhadap gambaran histopatologi korteks ginjal tikus *wistar* (*Rattus novvergicus*) yang diinduksi cisplastin?

### **1.3 Tujuan**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek ekstrak kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) terhadap gambaran histopatologi korteks ginjal tikus *wistar* (*Rattus novvergicus*) yang diinduksi cisplastin.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

- a. Memberi informasi mengenai pengaruh ekstrak mangrove (*Sonneratia alba*) sebagai antioksidan yang dapat mencegah radikal bebas dan diharapkan dapat meningkatkan nilai guna dari mangrove *Sonneratia alba* yang belum banyak dimanfaatkan.
- b. Mendukung pencapaian visi dan misi dari Fakultas Kedokteran Universitas Jember terutama dibidang pemanfaatan bahan alam sesuai fokus Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam bidang agromedis.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Mangrove *Sonneratia Alba*

#### 2.1.1 Taksonomi *Sonneratia alba*

Klasifikasi ilmiah tanaman mangrove (*Sonneratia alba*) adalah sebagai berikut (Safnowandi, 2015).

Kingdom	: Plantae
Sub Regnum	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Mangnoliophyta
Kelas	: Mangnoliophyta
Ordo	: Myrtales
Family	: Sonneratiaceae
Genus	: <i>Sonneratia</i>
Spesies	: <i>Sonneratia alba</i> Smith

#### 2.1.2 Morfologi Mangrove (*Sonneratia Alba*)

Pohon *Sonneratia alba* ini memiliki ketinggian kurang lebih 15 meter dengan kulit kayu berwarna putih tua hingga coklat dan terdapat celah longitudinal yang halus. Akar muncul dari tanah sebagai akar nafas/ pneumatofor yang tingginya kira-kira 25 cm berbentuk lancip, berwarna coklat muda hingga tua, kulit mudah mengelupas, dan bagian dalam akar berwarna merah. Habitat ini lebih banyak pada daerah pesisir pantai. Pohon ini dapat dilihat pada gambar 2.1 (Safnowandi, 2015).





Gambar 2.1 Gambar Kulit Batang (*Sonneratia alba*) (Pierre, 2014)

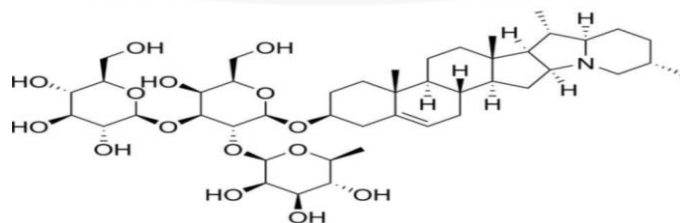
Struktur lain seperti daun *Sonneratia alba* tersusun berseberangan pada cabang yang sama. Daun berbentuk bulat telur atau obovatus, dan ujung daun bentuk emarginate. Ganggang daunnya memiliki panjang rata-rata 6-15 mm, bunganya membentuk kelompok satu hingga tiga bunga berkelompok. Dikelilingi daun mahkota berwarna putih dan mudah rontok. Kelopak bunganya berjumlah 6-8. Bentuk daun seperti lonceng dengan warna bagian luar hijau dan di dalam kemerahan. Bentuk buah seperti bola yang ujungnya bertangkai dan bagian dasar terbungkus kelopak bunga, sifat buah tidak membuka pada saat telah matang. Ukuran buah 3,5-4,5 cm dengan warna hijau, permukaan halus dengan kelopak bentuk cawan yang menutupi dasar buah dan berisi 200 biji (Safnowandi, 2015).

### 2.1.3 Antioksidan dalam *Sonneratia alba*

Kandungan antioksidan dapat diukur dengan parameter IC50 yang menunjukkan konsentrasi dari senyawa yang mampu menghambat 50 % molekul molekul yang tidak stabil karena muatan elektronnya tidak berpasangan. Dengan menggunakan metode DPPH untuk uji antioksidan senyawa polar, karena kristal DPPH hanya dapat larut dengan baik dan memberikan absorbansi maksimum pada pelarut etanol ataupun metanol (Amrun, 2005). Pada ekstrak kulit batang

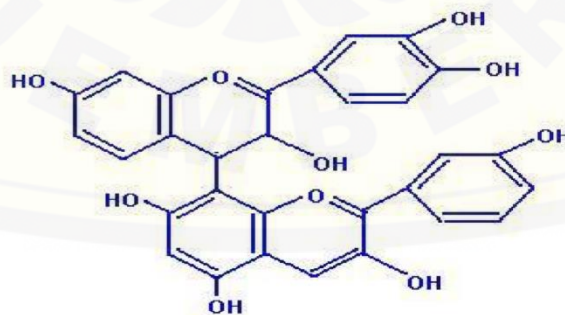
mangrove diperoleh nilai *Inhibition Concentration* (IC<sub>50</sub>) yang rendah berdasarkan kriteria Blois (<100 µg/ml termasuk golongan antioksidan kuat). Nilai IC<sub>50</sub> pada ekstrak metanol kulit batang mangrove sebesar 12,2 µg/ml yang kemudian dibandingkan dengan asam askorbat dengan nilai IC<sub>50</sub> 17,6 µg/ml. Dari penelitian yang menggunakan ekstrak khloroform pada kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) diperoleh IC<sub>50</sub> 41,9 µg/ml. Untuk uji senyawa metabolit tanin dapat dilakukan dengan uji fitokimia. Penentuan kandungan total tanin dilakukan dengan metode Folin Ciocalteau, sedangkan penentuan tanin terkondensasi dilakukan dengan metode Vanilin-HCl. Melalui rangkaian maserasi sampel dengan pelarut metanol, kemudian fraksinasi untuk mendapatkan senyawa yang memiliki kemurnian tinggi, yang kemudian baru diidentifikasi dengan uji fitokimia untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak sampel kering serbuk *Sonneratia alba*. Metodenya dengan menambahkan senyawa Fe kemudian dilihat hasilnya apabila terjadi perubahan warna hijau kehitaman, maka ekstrak kulit batang mangrove mengandung senyawa aktif tanin. Dari penelitian terdahulu didapatkan kandungan senyawa antioksidan yang ada dalam spesies ini adalah senyawa fenol, senyawa tanin, senyawa busa saponin, dan triterpenoid. Sedangkan senyawa alkaloid dan senyawa flavonoid nya tidak ditemukan di dalam kandungannya. Senyawa aktif tanin berperan mendenaturasi protein dan mencegah pencemaran bakteri (Naiborhu, 2002).

Saponin merupakan karbohidrat turunan yang banyak pada tanaman konsentrasi tinggi. Fungsi senyawa ini sebagai penyimpan karbohidrat, dan merupakan *waste product* dari metabolisme tumbuh-tumbuhan, dan pelindung dari serangga. Berikut gambar struktur saponin dapat dilihat pada gambar 2.2 (Naiborhu, 2002).



Gambar 2.2 Struktur Kimia Saponin (Naiborhu, 2002)

Tanin merupakan senyawa polifenol yang terbukti sebagai salah satu senyawa antioksidan yang bekerja dengan cara menghambat radikal bebas melalui proses oksidasi rantai transportasi elektron. Struktur tanin dapat dilihat pada gambar 2.3. Mekanisme kerja tanin dengan cara menghambat ion superoksida yang merupakan radikal bebas endogen. Tanin mengaktifkan enzim intraseluler superoksida dismutase yang terdapat dalam tiga bentuk yakni Cu-Zn SOD di sitoplasma sel, Mn-SOD di mitokondria, dan Cu-SOD yang terdapat di ekstraseluler. SOD bereaksi dengan pasangan elektron bebas dari molekul radikal bebas yang tidak stabil, dan berperan untuk mereduksi superoksida anion ( $O_2^-$ ) yang kemudian reaksi ini menghasilkan  $H_2O_2$ . Kemudian enzim katalase dan glutathione peroksidase mereduksi  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$ . Masing-masing enzim ini bekerja dengan sistem umpan balik. Peningkatan superoksida anion ( $O_2^-$ ) akan menghambat enzim glutathione peroksidase dan enzim katalase yang berfungsi sebagai antioksidan. Begitu pula sebaliknya, sehingga tubuh memerlukan antioksidan tambahan untuk melawan akumulasi radikal bebas yang berlebihan ini. Sehingga melalui sistem kerja umpan balik ini akan tercapai keseimbangan pada enzim-enzim antioksidan SOD, katalase, glutathione peroksidase, superoksida, dan peroksidase (Nairbohu, 2002).



Gambar 2.3 Struktur Kimia Tanin (Nairbohu, 2002)

## 2.2 Cisplatin

### 2.2.1 Farmakodinamik Cisplatin

Farmakodinamik merupakan pengaruh obat cisplatin (*dichlorodiamino platinum*) terhadap tubuh. Besarnya intensitas farmakologi yang muncul tergantung pada konsentrasi atau jumlah obat yang mencapai reseptor dan jenis ikatan obat-reseptor, yang dapat bersifat spesifik maupun non-spesifik. Durasi efek farmakologi tergantung pada lamanya obat tersebut tinggal di dalam reseptor. Untuk obat dengan kliren besar, waktu tinggal di dalam badan lebih singkat dibanding dengan obat yang mempunyai kliren kecil. Harga kliren inilah yang digunakan sebagai salah satu dasar pemberian dosis obat. Klirens kreatinin dari pasien pengguna cisplatin didapatkan nilai sebesar  $104,08 \pm 27,5$  mL/ menit. Pemberian cisplatin dengan cara i.v sebesar 50-200 mg/kgBB setiap 4 minggu atau satu siklus untuk dapat menimbulkan efek sitostatika pada manusia (Camelia, 2015).

Farmakodinamik obat juga dikaitkan dengan rentang terapeutik (*Therapeutic Range*) yakni konsentrasi obat di dalam serum yang menimbulkan efek klinis yang diharapkan. Umumnya, rentang terapeutik tidak dinyatakan dengan harga mutlak. Angka di dalam rentang terapeutik merupakan nilai rata-rata dari populasi individu konsentrasi obat terendah di dalam serum yang dapat memberikan efek klinis sampai dengan konsentrasi minimum yang menimbulkan efek toksik. Kenaikan konsentrasi obat cisplatin di dalam serum diikuti dengan kenaikan probabilitas respon farmakologi, dan secara simultan diikuti kenaikan efek toksik. Cisplatin merupakan kemoterapi yang efektif dengan spektrum yang luas. Efek terapinya bertambah bermakna dengan peningkatan dosis, akan tetapi dibatasi pada dosis lebih dari 50 mg/kgBB (Andhika, 2006).

### 2.2.2 Farmakokinetik

Farmakokinetik merupakan respon organ terhadap obat. Fase farmakokinetik merupakan perjalanan obat mulai titik masuk obat ke dalam badan hingga mencapai tempat aksinya. Obat harus mencapai tempat aksi dalam konsentrasi yang cukup agar dapat menimbulkan respon atau untuk memberikan



efek terapi atau farmakologi. Proses absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi berjalan bersama waktunya masing-masing. Parameter farmakokinetik merupakan besaran yang diturunkan secara matematis dari konsentrasi obat aktif di dalam serum/urin/cairan selama waktu tertentu, yang menggambarkan proses absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi. Parameter-parameter farmakokinetik merupakan alat untuk menentukan pengaturan dosis obat (*drug regimen dose*). Di bagi menjadi dua yakni parameter primer dan sekunder. Parameter primer dipengaruhi secara langsung oleh faktor fisiologi, misalnya klirens (Cl), volume distribusi (Vd) dan konstanta kecepatan absorpsi (Ka). Parameter sekunder yang tidak dipengaruhi secara langsung oleh faktor fisiologi misalnya waktu paro eliminasi ( $t_{1/2}$ ) 20-30 menit, konstanta kecepatan eliminasi (k), dan daerah di bawah kurva AUC (Area Under the Curve). Farmakokinetik dibutuhkan untuk memperoleh terapi yang efektif, aman dan terhindar dari efek samping. Cisplatin didistribusikan melalui iv secara cepat ke dalam jaringan, dengan konsentrasi tinggi pada ginjal, hati, ovarium, uterus dan paru – paru. Memiliki ikatan protein >90% sekitar 2 sampai 4 jam, metabolismenya bersifat nonenzimatik, tidak aktif dalam sel ataupun cairan darah dengan adanya gugus sulfidril, berikatan kovalen dengan glutathion dan tiosulfat. Ekskresi utamanya melalui urin tetapi tidak secara keseluruhan dan berlanjut sampai lebih dari 5 hari sebesar 50 % dosis, dan platina masih terdeteksi setelah 30 hari pemberian. Cisplatin yang tidak terikat protein diekskresikan secara cepat melalui tubula ginjal (Armon, 2009).

### 2.2.3 Cisplatin menimbulkan nefrotoksistas

Cisplatin masuk ke dalam sel melalui transport membrane Ctr 1 dan OCT 2 yang banyak terdapat di sel tubulus proksimal. Di dalam sel, ikatan klorida dari cisplatin diputus karena rendahnya konsentrasi klorida di dalam sel, ikatan yang kosong akan diisi oleh molekul air yang banyak di dalam sitoplasma sel sehingga ikatan ini menjadi sangat reaktif. Cisplatin yang reaktif ini dapat dengan mudah berikatan dengan guanin dari DNA sel yang mudah membelah, seperti pada sel kanker ataupun sel yang memiliki struktur dominan guanin seperti ginjal. Hal ini akan merangsang gen p53 untuk mendeteksi kerusakan DNA kemudian

membantu perbaikan DNA melalui penghentian fase G1 dari siklus sel dan memicu gen yang memperbaiki DNA. Sel yang mengalami kerusakan DNA dan tidak dapat diperbaiki lagi, oleh gen p53 sel akan diarahkan apoptosis (Yenita, 2012).

Di dalam sel ginjal terdapat substrat antioksidan golongan thiols, yakni GSH yang dapat berikatan dengan cisplatin reaktif untuk menggantikan ikatan pasangan elektron bebas cisplatin yang terlepas. Semakin banyak ikatan cisplatin dengan GSH, maka ikatan cisplatin dengan guanine DNA sel tubulus renalis jadi semakin sedikit. Hal ini dapat menurunkan ROS yang terjadi. Begitu pula sebaliknya semakin tinggi proses pembelahan sel, maka cystein semakin sedikit sehingga sintesis GSH akan berkurang (Marie, 2008).

Saat GSH berada di luar sel, GSH akan diuraikan menjadi *asam glutamic* dan kompleks cystein glysin oleh enzim  $\gamma$  glutamil transpeptidase (GGT). Di luar sel, ikatan cisplatin-glisin cystein dipisahkan oleh enzim AP-N (*diaminopeptidase N*) sehingga ikatan cisplatin glisin tetap di luar sel dan ikatan cisplatin cystein masuk ke dalam sel. Di dalam sel, ikatan ini dikatalase oleh enzim Cystein S Konjugase Beta Lyase menjadi reaktif-thiol yang dapat menginduksi kematian sel melalui proses apoptosis (Marie, 2008).

Proses kematian sel akibat apoptosis memiliki ciri yakni adanya perubahan morfologi sel. Perubahan ini seperti sel yang mengisut, kondensasi kromatin, dan membran sel yang membentuk tonjolan. Kemudian sel tersebut akan membentuk pecahan-pecahan sel atau *apoptotic bodies* yang berada di sekitar sel yang mati tersebut. Fragmen sel ini akan cepat difagositosis oleh makrofag sebelum sel pecah dan menyebabkan kerusakan pada jaringan (Marie, 2008).

Apoptosis yang terjadi melalui jalur *caspase dependent* terbagi menjadi jalur intrinsik dan jalur ekstrinsik. Jalur ekstrinsik dipicu oleh ikatan reseptor TNF alpha yakni sitokin yang diproduksi oleh makrofag dan merupakan mediator penting dari apoptosis jalur ekstrinsik. Ikatan TNF-R 2 atau Fas Reseptor dengan protein trans membran ligand FasL dapat membentuk *death-inducing signaling complex* (DISC) yang berisi *fas associated death domain* (FADD), *caspase-8*, dan *caspase-10*. Sehingga merangsang FADD dan TNF- *receptor associated death*



*domain* (TRADD) untuk mengaktifkan *procaspase* 8 menjadi *caspase* 8 reaktif. *Caspase* initiator 8 akan memicu *caspase* eksekutioner 3 untuk mengapoptosis sel. Jalur intrinsik dipicu oleh stress sel yang dapat mengganggu fungsi mitokondria sehingga membran sel nya mengalami depolarisasi dan sitokrom c keluar ke cytosol. Sitokrom c akan mengikat *caspase* 9 membentuk apoptosome. Apoptosome ini lalu mengaktifkan *caspase* 3. Rangkaian aktivasi dari *caspase* ini akan membuat protein sitoplasma dan DNA kromosom mengalami degradasi. Kadar kalsium tinggi setelah cedera apoptosis sel merupakan awal dari proses kematian sel jalur intrinsik. Kadar kalsium yang tinggi pada sitoplasma akan memicu penumpukkan kalsium dalam matriks mitokondria dan mengakibatkan pengurangan sintesis ATP. Kerusakan rantai transportasi membran cenderung menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS) secara berlebihan sehingga mengakibatkan stress oksidatif (Marie, 2008).

Dari serangkaian mekanisme di atas dapat menurunkan basolateral  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase yang menurunkan reabsorpsi  $\text{Na}^+$  tubulus proksimal sehingga  $\text{NaCl}$  dalam makula densa meningkat dan memicu autoregulasi vasokonstriksi dari arteriol afferent glomerulus. Proses ini menyebabkan terlepasnya mikrovili tubulus proksimal bersama debris seluler yang dapat membentuk substrat yang menyumbat tubulus dan menimbulkan obstruksi. Sumbatan ini dapat menimbulkan kerusakan sel tubulus yang nantinya menimbulkan kebocoran cairan intratubuler yang akan masuk ke dalam sirkulasi peritubuler. Keseluruhan proses ini dapat menimbulkan kerusakan sel ginjal yang ditandai dengan terlepasnya epitel tubulus proksimal bersama dengan ekskresi urin, sehingga warna urin menjadi keruh (Marie, 2008).

Degenerasi hidrofik merupakan kerusakan yang ditimbulkan dari paparan zat toksik seperti cisplatin sehingga dapat meningkatkan radikal bebas dan mengganggu metabolisme di dalam sel. Gangguan metabolisme sel biasanya didahului oleh berkurangnya oksigen karena pengaruh senyawa toksik tersebut. Degenerasi hidrofik ditandai dengan pembengkakan pada endoplasmik retikulum dan mitokondria serta akumulasi air di dalam rongga-rongga sel. Secara mikroskopik, tampak vakuol-vakuol yang jernih tersebar dalam sitoplasma.

Induksi zat toksik akan membentuk vakuol-vakuol kecil dan beberapa vakuol besar. Perubahan ini bersifat reversibel, yaitu jika rangsang yang menimbulkan cedera dapat dihentikan, maka sel-sel akan kembali normal (Elvi, 2015).

Apabila paparan zat toksik berlangsung cukup lama, maka sel akan mencapai suatu titik hingga sel tidak dapat lagi mengkompensasi dan tidak dapat melanjutkan metabolisme. Ditandai dengan terbentuk banyak vakuol besar yang dapat mendesak inti ke tepi sel. Perubahan yang reversibel dari degenerasi hidrofik akan menjadi irreversibel, yaitu kematian nekrosis yang merupakan proses pasif dari disintegrasi sel. Proses peluruhan epitel tubulus yang terus-menerus dapat mengikis sel sehingga lumen akan melebar 2-3 kali diameter tubulus normal dan terbentuk dilatasi tubulus renalis (Elvi, 2015).

## **2.3 Ginjal**

### **2.3.1 Anatomi Ginjal**

Ginjal merupakan organ penyusun dari system perkemihan yang juga termasuk di dalamnya ureter, kandung kemih, dan uretra. Letaknya retro peritoneum rongga abdomen, ginjal kanan lebih rendah letaknya daripada ginjal kiri karena terdapat organ hepar di sebelah kanannya. Sistem urinaria berguna untuk mempertahankan homeostatis. Sistem urinaria terdiri dari dua ginjal yang memproduksi urin, dua ureter yang membawa urin ke dalam sebuah kandung kemih untuk penampungan sementara dan uretra yang mengalirkan urin keluar tubuh melalui orifisium uretra eksterna (Ethel, 2004).

Ginjal merupakan organ berbentuk kacang berwarna merah tua, panjangnya 12,5 cm dengan tebal 2,5 cm (kurang lebih sebesar kepalan tangan). Setiap ginjal memiliki berat antara 125-175 gram pada laki-laki dan 115-155 gram pada perempuan. Ginjal terletak pada dinding abdomen posterior yang berdekatan dengan dua pasang iga terakhir. Organ ini terletak di antara otot-otot punggung dan peritoneum rongga abdomen atas. Tiap-tiap ginjal memiliki sebuah kelenjar adrenal yang berada di atasnya. Setiap ginjal diselubungi tiga lapisan jaringan ikat. Yang terdiri dari fascia renalis paling luar fungsinya melekatkan pada struktur di sekitarnya dan mempertahankan posisi organ. Lapisan lemak perirenal

fungisinya untuk membantali ginjal dan memfiksasi agar tetap pada posisinya. Lapisan paling dalam berupa kapsul fibrosa yang membungkus ginjal (Ethel, 2004).

### 2.3.2 Histologi Ginjal

Setiap ginjal memiliki sisi medial cekung yang disebut hilus tempat masuknya saraf, keluarnya ureter serta masuk dan keluarnya pembuluh darah dan pembuluh limfe. Permukaan lateralnya cembung dan dilapisi lapisan fibrosa. Bagian ujung atas disebut pelvis renalis dan terbagi atas dua hingga tiga calyx major. Cabang yang lebih kecil muncul dari dari setiap calyx major disebut calyx minor. Area yang mengelilingi calyx disebut sinus renalis yang mengandung sejumlah jaringan adipose (Mescher, 2011).

Setiap ginjal terdiri dari 1-1,4 juta unit fungsional yang disebut nefron. Cabang utama setiap nefron terdiri dari korpuskel ginjal yang terdiri dari glomerulus dan kapsula bowman pars viseralis dan pars parietalis tubulus renalis. Pada bagian medula terdapat lengkung henle tebal dan tipis dan tubulus koligentes (Eroschenko, 2010).



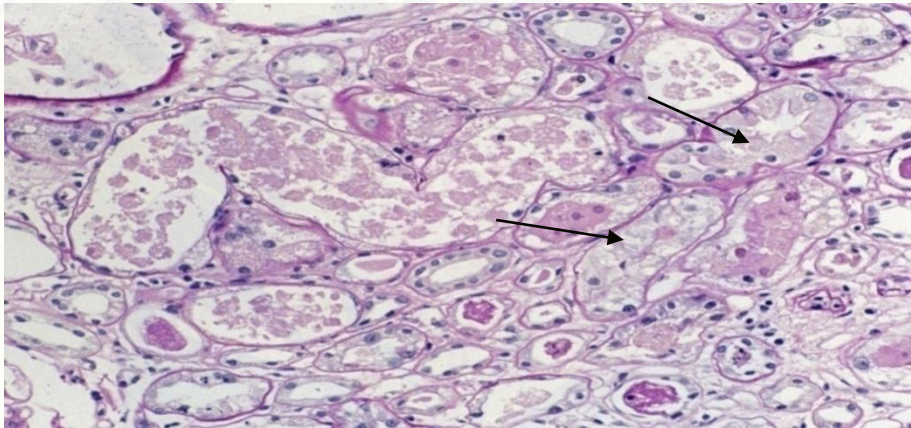
Gambar 2.4 Glomerulus, tubulus kontortus distal, tubulus proksimal (Eroschenko, 2010)

Pada glomerulus yang tersusun gelungan kapiler arteriole afferen yang masuk & efferen yang keluar terletak dekat dengan vaskuler pole endotel kapiler dengan tipe fenestrated. Dan dikelilingi kapsula bowman yang tersusun dari sel

selapis pipih. Yang dapat dilihat pada gambar 2.4. Selain itu dapat dilihat perbedaan tubulus kontortus proksimal yang panjang dan asidofilik dengan batas yang tidak jelas, inti sedikit dan banyak brush border dibandingkan dengan tubulus distal yang pucat, batas jelas dan inti banyak. Seperti yang terdapat pada gambar 2.4 (Eroschenko, 2010).

### 2.3.3 Patofisiologi Kerusakan Ginjal akibat Paparan Radikal Bebas

Gambaran struktur ginjal dapat dilihat adanya kerusakan degenerasi hidrofik dan nekrosis pada gambar 2.5.



Gambar 2.5 Akut tubular nekrotik dengan degenerasi hidrofik dan nekrosis (Weedman, 2003).

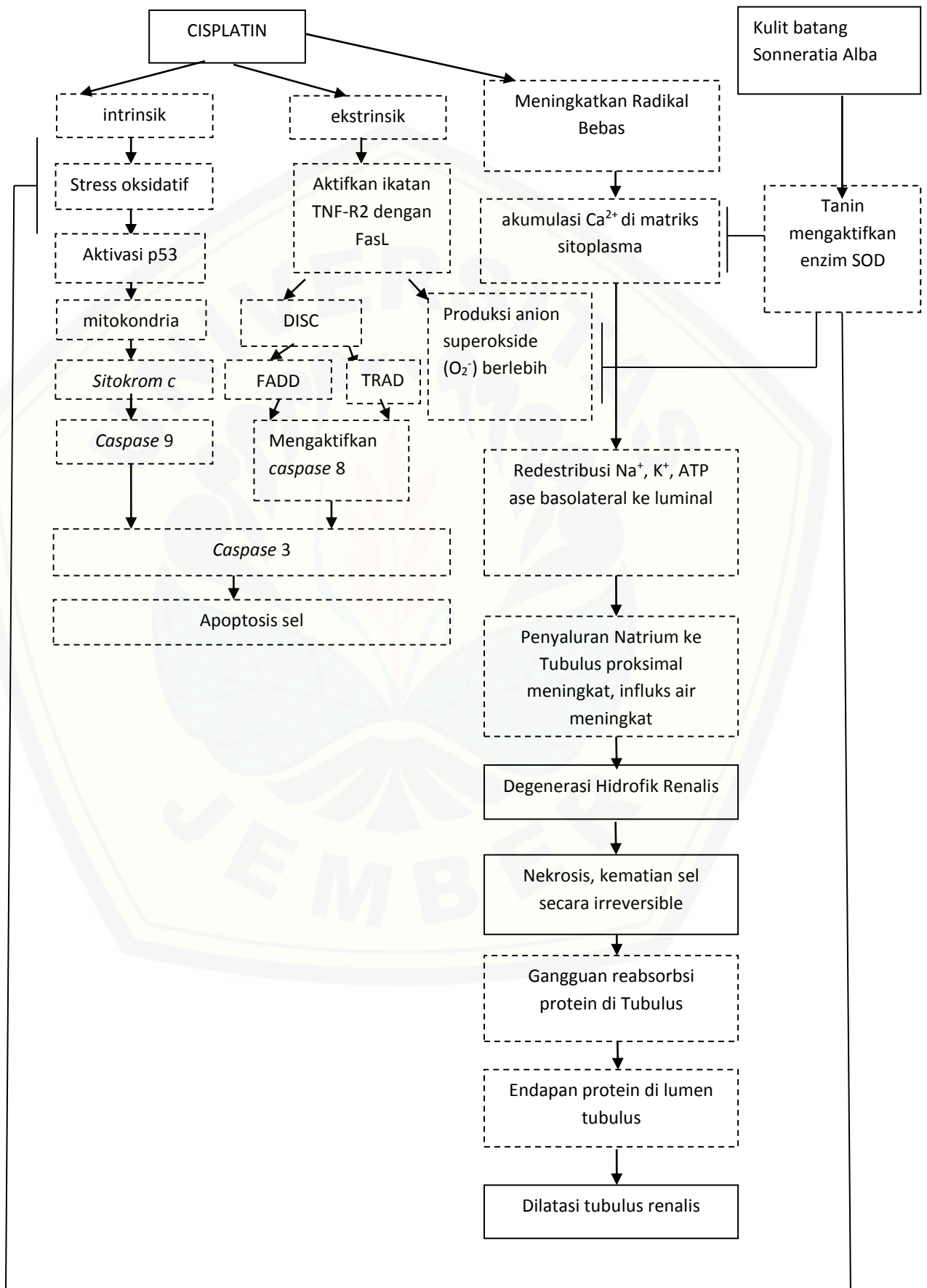
Data yang dikumpulkan berupa data primer yaitu perbandingan kerusakan tubulus proksimal ginjal dari setiap kelompok. Penilaian tubulus proksimal ginjal abnormal ditentukan dengan melihat sel-sel epitel yang menyusun tubulus proksimal. Dikatakan abnormal apabila terdapat pembengkakan sel-sel penyusun epitel sehingga lumen tubulus proksimal menjadi menyempit bahkan menutup. Secara mikroskopis akan terlihat jelas tubulus yang lumennya menyempit dan menutup. Gambaran seperti itulah yang dapat dilihat dan dihitung sebagai tubulus proksimal yang abnormal (Whyte, 2008).

Hal ini dikarenakan cisplatin dapat menimbulkan radikal bebas sehingga dapat menyebabkan apoptosis sel yang menimbulkan gangguan di vaskularisasi



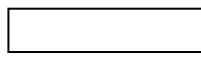
dan tubuler yang berujung ATN ( *Akut tubular nekrosis* ) apabila tidak ditangani dengan tepat dapat menginduksi gagal ginjal akut karena *intrinsic renal disease*. Cisplatin dapat mengganggu imbalan Na, K, ATP ase sehingga dapat menurunkan reabsorpsi natrium di dalam tubulus kontortus proksimal sehingga dalam keadaan gagal ginjal juga dapat menimbulkan azotemia. Pada gambaran histopatologi renalis, gambaran nekrosis akut tubuler dan degenerasi sel epithelium tubulus renalis ditimbulkan dari akumulasi zat toksik. Zat toksik dari bahan platinum ini memiliki molekul yang ringan sehingga dapat dengan mudah melalui barrier membran glomerulus dan tertimbun pada gradient yang lebih tinggi seperti di tubulus proksimal renalis. Akumulasi toxic platinum ini disebabkan karena produksi radikal bebas lebih besar dari zat antioksidan di dalam sel yang tidak dapat mengeliminasi secara sempurna (Whyte, 2008).

2.4 Kerangka Konsep

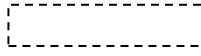




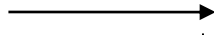
Keterangan :



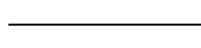
: Diteliti



: Tidak diteliti



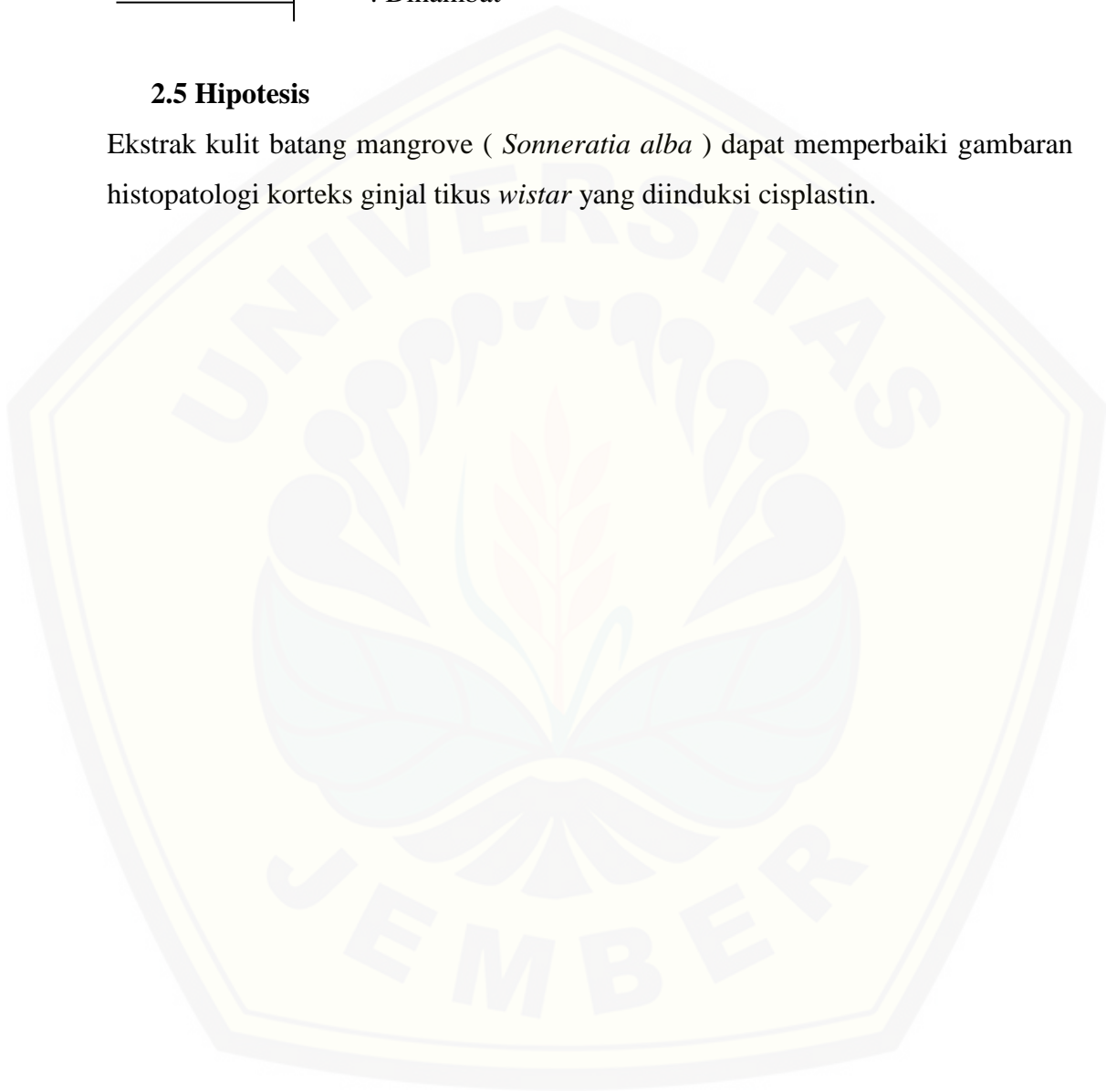
: Berpengaruh



: Dihambat

### 2.5 Hipotesis

Ekstrak kulit batang mangrove ( *Sonneratia alba* ) dapat memperbaiki gambaran histopatologi korteks ginjal tikus *wistar* yang diinduksi cisplastin.



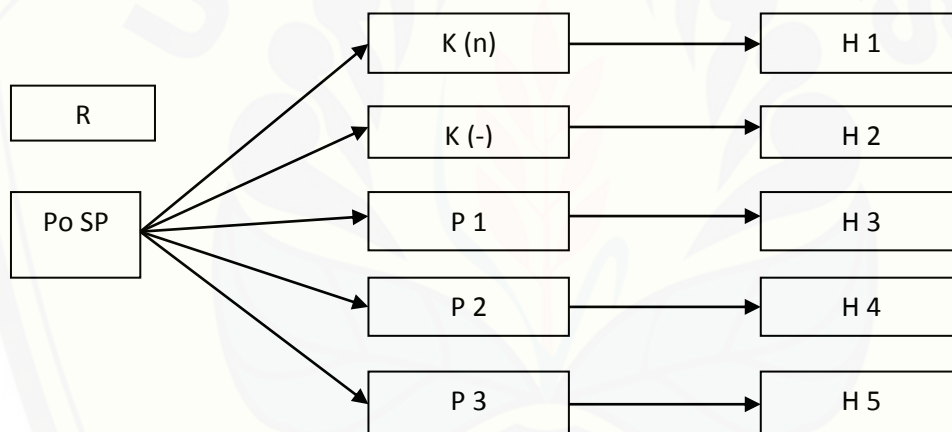
### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *true eksperimental* dengan *rancangan post test only control group design*.

#### 3.2 Rancangan penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test only control group design*. Pengambilan data hanya dilakukan saat hewan coba diterminasi dengan membandingkan hasil penilaian dari kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Rancangan penelitian ditunjukkan pada table 3.1.



Gambar 3.1 Gambar Skema Rancangan Penelitian

Keterangan :

R : Randomisasi

P : Populasi

S : Sampel

N : Data kelompok kontrol normal (Aquadec for injection + pelet + aquades)

K (-) : Data kelompok kontrol negatif (pemberian cisplatin 5mg/kgBB + aquades)

P 1 : Kelompok perlakuan 1 ( pemberian cisplatin 5mg/kgBB + sonde ekstrak mangrove 4,5mg/kgBB + aquades)

P 2 : Kelompok perlakuan 2 ( pemberian cisplatin 5 mg/kgBB + sonde ekstrak mangrove 9mg/kgBB + aquades)

P 3 : Kelompok perlakuan 3 ( pemberian cisplatin 5 mg/kgBB + sonde ekstrak mangrove 18mg/kgBB + aquades)

### 3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember (adaptasi hewan coba dan perlakuan) serta ekstraksi kulit batang mangrove *Sonneratia alba* di Laboratorium Botani FMIPA. Terminasi hewan coba di laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Penelitian ini berlangsung pada bulan April - November 2016.

### 3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

#### 3.4.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah 25 tikus jantan galur *wistar* yang didapatkan dari Laboratorium Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

#### 3.4.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan adalah populasi yang memenuhi kriteria inklusi.

##### a. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *wistar* dengan usia 2-3 bulan dengan berat badan 100-200 gram, sehat, bergerak aktif, dan tidak cacat.

##### b. Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah tikus yang lemas dan mati sebelum proses randomisasi.

#### 3.4.3 Besar Sampel

Dalam rancangan penelitian ini jumlah sampel tiap kelompok ditentukan berdasarkan Rumus Federer.

$$(t-1)(r-1) \geq 15 \text{ (t= perlakuan, r= jumlah ulangan, t=5)}, \text{ sehingga;}$$

$$(5-1)(r-1) \geq 15$$

$$r-1 \geq 3,75$$

$$r \geq 4,75$$

Hasil tersebut dibulatkan menjadi minimal 5 pengulangan. Namun peneliti melakukan penambahan sebesar 20% dari jumlah sampel sebagai langkahantisipasi kematian tikus putih. Berdasarkan hal tersebut, tikus *wistar* yang digunakan sebanyak 25 ekor (Putri, 2007).

### 3.5 Variabel Penelitian

Variabel - variabel yang digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut;

- a. Variabel Bebas : Pemberian ekstrak kulit batang mangrove *Sonneratia alba*
- b. Variabel Terikat : Gambaran histopatologi ginjal tikus
- c. Variabel Kontrol : Jenis dan pemeliharaan hewan coba, lama perlakuan, prosedur penelitian, pemberian makan dan minum secara berkala, berat badan tikus.

### 3.6 Definisi Operasional

- a. Ekstrak kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) dibuat dengan cara mengekstraksi zat aktif dari mangrove (*Sonneratia alba*) menggunakan pelarut metanol. Dengan perbandingan 1:10. Dengan konsentrasi 5 µg/ml, 10 µg/ml, 20 µg/ml (Herawati, 2011).
- b. Cisplastin merupakan obat anti kanker yang kami dapatkan dari apotek Bima Jember dan disediakan oleh PBF Enseval. Cisplastin diinjeksikan secara *intra peritoneal* 1 ml untuk tikus dengan berat 200 gram dan 0,9 ml untuk tikus dengan berat 180 gram (Lampiran 4.4). Sediaan seperti gambar 3.2.



Gambar 3.2 Sediaan cisplastin 50mg/50ml dan 10mg/10ml (Kalbe, 2015)

- c. Histopatologi ginjal merupakan struktur ginjal yang mengalami keadaan patologis, dalam hal ini adalah akut tubular nekrotik dengan proses kerusakan jaringan ginjal berupa gambaran degenarasi epitel tubulus proksimal,

nekrosis, dan dilatasi tubulus. Degenerasi hidrofik yang terjadi karena gangguan metabolisme energi di dalam sel, terutama mekanisme transpor aktif pada  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase. Sehingga sel tidak mampu memompa ion natrium ke luar dari sel. Jumlah ion natrium dalam sel yang berlebihan menyebabkan influks air sehingga lumen tubulus proksimal mengalami penyempitan hingga menutup. Degenerasi hidrofik merupakan awal dari kematian sel secara nekrosis. Tahap nekrosis sel dimulai dari piknosis yang ditandai dengan kromatin inti menebal kemudian karioreksis dan kariolisis hingga sel tidak bisa menyerap warna lagi. Sel epitel yang terus meluruh lama-lama akan menimbulkan dilatasi tubulus yang ditandai dengan pelebaran diameter tubulus 2-3 kali ukuran normal (Wigati, 2013).

Tabel 3.1 Penilaian Histopatologi (Wigati, 2013; Ni Luh, 2013).

Item	Skor
Tidak ditemukan nekrosis inti, degenerasi tubulus, dilatasi tubulus proksimal tiap lapang pandang	0
Ditemukan lesi fokal seperti nekrosis inti, degenerasi tubulus, dilatasi tubulus proksimal tiap lapang pandang	1
Ditemukan lesi difus /merata seperti nekrosis inti, degenerasi tubulus, dilatasi tubulus proksimal tiap lapang pandang	2

### 3.7 Alat dan Bahan

#### 3.7.1 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah, blender, corong bucher, kertas saring, beker glass, penyaring, shaker, labu ukur, obyek glass, mikroskop cahaya, disposable syringe, lemari pendingin, magnetic stirrer, rotary evaporator, kertas Whattman 41, hand scoon, masker, kandang berukuran 40x30x15 cm, dan alas sekam padi, spuit 1 cc, spuit 3 cc.

### 3.7.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah metanol 80%, NaCMC 5 gram, aquades, sediaan cisplatin 50 mg/50 ml, pellet/ makanan, vorteks, kulit batang mangrove 3 kg dan giemsa.

## 3.8 Prosedur

### 3.8.1 Pemilihan Sampel

Hewan coba tikus *wistar (Rattus novergicus)* jantan yang sehat dengan usia 2-3 bulan dan berat badan 100-200 gram sebanyak 30 ekor yang terbagi dalam lima kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari enam ekor hewan coba. Tikus yang dipilih harus memiliki tubuh yang sehat dan normal.

### 3.8.2 Persiapan Sampel Tikus

Hewan coba diadaptasikan dalam kandang selama tujuh hari untuk menghindari stres. Tempat makan dan minum setiap hari diisi ulang untuk menghindari timbulnya penyakit. Tikus diberikan makan standar dan minum secara *ad libitum*. Kotoran tikus dibersihkan setiap 3 hari sekali untuk menghindari stres.

### 3.8.3 Pembuatan Ekstrak Metanol Kulit Batang Mangrove *Sonneratia alba*

Determinasi kulit batang *Sonneratia alba* untuk memastikan jenis mangrove yang akan digunakan dalam penelitian. Dengan menggunakan seperangkat alat gelas, alat maserasi, dan *rotary evaporator* yang akan digunakan selama proses pembuatan ekstrak. Kulit batang mangrove dikeringkan selama 2 minggu hingga warnanya berubah menjadi coklat tua. Potong kecil-kecil dengan ukuran 2x1 cm sehingga mudah untuk dihancurkan. Simplisia kering di larutkan dengan metanol 80 % dengan perbandingan 1:10 dengan pengulangan atau remaserasi 3x24 jam. Filtrat ditampung dalam botol dan ditutup *aluminium foil*. Evaporasi filtrat dengan *rotary evaporator* pada suhu 70°C selama 1 jam untuk larutan 500 ml.



#### 3.8.4 Penginduksian Ekstrak pada Tikus

Pemberian ekstrak kulit batang *Sonneratia alba* secara oral selama 10 hari. Langkah pertama dimulai dengan pengambilan ekstrak dengan sonde yang ujungnya terbuat dari karet. Untuk mengencerkan ekstrak diberi pelarut Na CMC 0,5 % yang dilarutkan dengan aquades lalu distirer kemudian dilarutkan dengan ekstrak kental. Pemberian sonde dimasukan secara perlahan sampai lambung.

#### 3.8.5 Penginduksian Cisplatin pada Tikus

Tikus pada kelompok perlakuan dan kontrol negatif diinjeksi cisplatin dengan dosis 5 mg/kgBB intraperitoneal 1 jam setelah pemberian ekstrak kulit batang mangrove *Sonneratia alba* (Gholamreza, 2005).

#### 3.8.6 Terminasi Hewan Coba

Prosedur nekropsi jaringan diawali dengan hewan coba dimasukkan ke dalam tabung kontainer yang berisi gas anastesi ether, selain karena efek yang kuat dan prosesnya cepat juga mudah didapat. Selanjutnya cek apakah benar-benar sudah mati jika belum masukkan kembali pada tabung kontainer. Letakkan tikus dengan posisi ventral dan tusuk dengan pin pada 4 ekstermitas yakni di kaki belakang pada muskulus gastrocnemius dan pada metacarpal untuk mengurangi kerusakan jaringan. Selanjutnya siram dengan alcohol 70% untuk mengurangi kontaminasi ruangan dan untuk mensterilkan pembedahan. Insisi mulai dari region *mentalis* hingga *pecten oss pubis*. Kemudian kavitas abdomen dibuka hingga abdomen terbuka seluruhnya baru bisa mengambil organ yang dibutuhkan seperti ginjal. Klem arteri renalis lalu potong dengan gunting bedah. Siapkan cairan fiksatif formalin 4-10% untuk melebarkan pori-pori sampel jaringan sehingga makromolekul mudah masuk ke dalam sel dan membantu proses parafiniasi dan pewarnaan (Galang, 2015).

### 3.8.7 Pembuatan dan Pengamatan Gambaran Histo PA

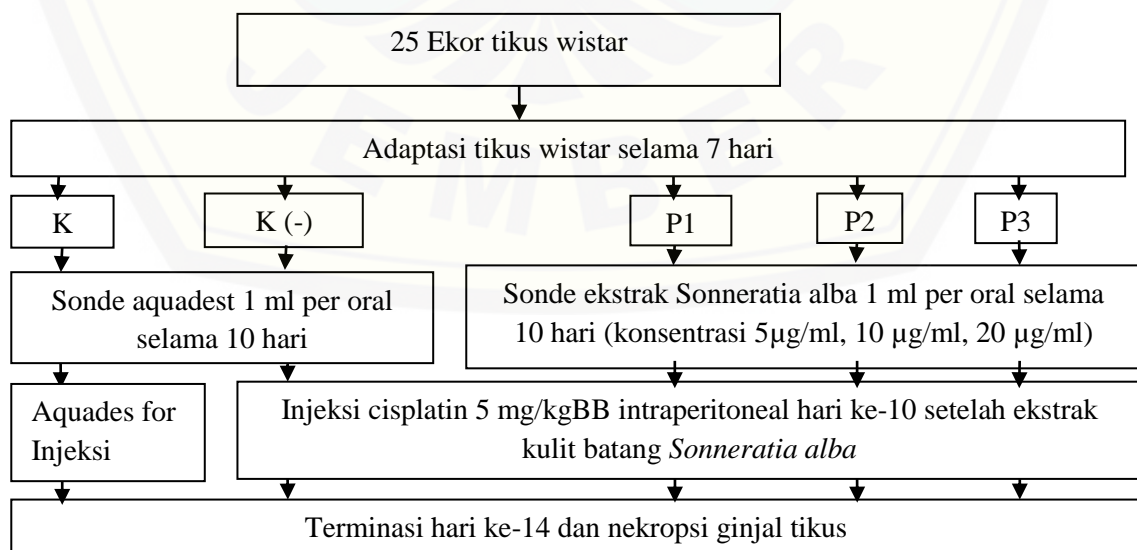
Durasi waktu minimal untuk merendam sampel di formalin 10 % yakni 24 jam baru bisa dilanjutkan proses pembuatan preparat dengan dehidrasi cairan etanol, clearing untuk mengeluarkan alkohol selama 120 menit, dan blocking hingga pemotongan dan pewarnaan preparat. Sampel maksimal disimpan dalam cairan fiksatif tidak lebih dari 3 minggu karena akan memengaruhi hasil pemotongan (Galang, 2015).

Masing-masing sampel ginjal tikus dibuat sediaan histopathologi dan dibaca dalam enam pandang dengan perbesaran 400 kali apabila dalam perbesaran 100 kali tidak ditemukan sel yang dimaksud. Sasaran yang dibaca adalah perubahan abnormal gambaran histopatologi pada ginjal dengan membandingkan sel normal, degenerasi hidrofik, dilatasi tubulus dan nekrosis sel (Wigati, 2013).

### 3.9 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini berupa data kategorik ordinal, sehingga menggunakan analisis data non parametrik uji Kruskal Wallis. Kemudian dilakukan uji signifikansi data dengan Man Whitney bila  $p \leq 0,05$  maka data signifikan.

### 3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.3 Alur Penelitian

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan penelitian ini adalah efek ekstrak kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) dapat memperbaiki gambaran korteks ginjal tikus *wistar* yang diinduksi cisplastin.

### 5.2 Saran

Saran pada penelitian ini adalah:

- a. Perlu dilakukan pengukuran parameter yang lain seperti serum BUN dan kreatinin sebagai pembanding untuk memperkuat penelitian ini.
- b. Perlu dilakukan isolasi dan identifikasi struktur komponen antioksidan pada mangrove *Sonneratia alba*.
- c. Perlu dilakukan penelitian yang sama dengan penambahan metode fraksinasi untuk mendapatkan kemurnian zat yang lebih tinggi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdul, R., R. Sugeng. 2005. Daya antioksidan ekstrak etanol Daun Kemuning (*Murraya paniculata (L) Jack*) secara in vitro. *Majalah Farmasi Indonesia*. 16(3): 136-140.
- Amrun, M.H., Umiyah. 2005. Pengujian Anti radikal Bebas Difenilpikril Hidrazil (DPPH) Ekstrak Buah Kenitu (*Chrysophyllum Cainito L.*) Dari Daerah Sekitar Jember. *Jurnal Ilmu Dasar*. 6(2): 110-114.
- Andhika, R. 2006. Pengaruh Pemberian 2 Siklus Rejimen Kemoterapi yang Mengandung Cisplatin pada Eritropoetin dan Fungsi Ginjal Pasien Tumor Padat Ganas. [Thesis].
- Armon, F. 2009. Optimasi Penetapan Kadar Sisplatin dalam Campuran Infus Sisplatin dengan Ondansentron Hidroklorida Menggunakan Pereaksi Dietilditiokarbamate Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. [Thesis].
- Asmariati, Y.D., H. Busman, T. Susantiningsih. 2014. Protective Effect Of Binahong Leaf (*Anredera Cordifolia (Ten.) Steenis*) Extract Against Ethanol -Induced Proximal Tubule Renal Histopathological Features Of Sprague Dawley Strains White Rats. *Medical Faculty of Lampung University Press*.
- Benoehr, P., P. Krueth, C. Bokemeyer, A. Grenz, H. Osswald, J.T. Hartmann. 2005. Nephroprotection by theophylline in patients with cisplatin chemotherapy: a randomized, single-blinded, placebo-controlled trial. *J Am Society Nephrol*: 16(2): 452-58.
- Budiyanto, A. 2015. Potensi Antioksidasi, inhibitor tirosinase dan nilai toksisitas dari beberapa spesies tanaman mangrove di Indonesia. Bogor: Intitute Pertanian Bogor.
- Camelia, K. N., A. Oehadian, A. H. Martakusumah, Y. A. Dewi. 2015. Perbandingan Akurasi Berbagai Formula untuk Mengestimasi Laju Filtrasi Glomerulus pada Penderita Karsinoma Nasofaring Stadium Lanjut Sebelum Mendapat Kemoterapi Cisplatin. Vol 47 (1).
- Dickey, D.T., Y.J. Wu, L.L. Muldoon, E. A. Neuwelt. 2005. Protection against cisplatin induced toxicities by N-acetylcysteine and sodium thiosulfate as assessed at the molecular, cellular, and in vivo levels. *J Pharmacol Exp Ther*. 314(3): 1052- 58.

- Edy, M. 2008. Ekstrak Etanolik Biji Buah Pinang (*Areca catechu L.*) mampu menghambat proliferasi dan memacu apoptosis sel MCF-7. *Majalah Fasmasi Indonesia*. 19(1): 12-19.
- Elisna, S., M. Nina, H. Achmad. 2012. Efficacy and Toxicity Chemotherapy With Cisplatin + Etoposide Regimen in Advanced Stage non - Small Cell Lung Cancer. Departemen Pulmonologi dan Ilmu Kedokteran Respirasi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Rumah Sakit Persahabatan, Jakarta: *Jurnal Respirasi Indonesia*. 32(1).
- Elvi, S. 2015. Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Insektisida Golongan Piretroid (*Sipermetrin*). Fakultas Kedokteran Universitas Hassanudin. Makassar. [Skripsi].
- Eroschenko, P. Victor. 2010. *Atlas Histologi di Fiore dengan Korelasi Fungsional Edisi 11*. Jakarta: EGC.
- Ethel, S. 2003. *Anatomi dan Fisiologi untuk Pemula*. Jakarta: EGC.
- Fatimah, C.Z. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgynus (L) Merr.*). *Jurnal Biologi Sumatera*. 3(1): 7 – 10.
- Fauci dan Longo. 2008. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. Edisi 17. New York: Mc-Graw Hill.
- Friday, J.B. 2014. *Sonneratia* is a tall mangrove species with pneumatophores. <https://www.flickr.com/photos/jbfriday/14592819118>[Diakses pada 25 Januari 2004].
- Galang R. 2015. Gambaran Histologi Organ Ginjal, Hepar, dan Pankreas Tikus Sprague Dawley dengan Pewarnaan HE dengan Fiksasi 3 Minggu. [Skripsi]. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah Jakarta Press.
- Gholamreza, K., R. Mohammad, and T. Zahra. 2005. Cisplatin Nephrotoxicity and Protection by Milk Thistle Extract in Rats. Department of Pharmacodynamics and Toxicology, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad; Iran.
- Herawati, N. 2011. Potensi Antioksidan Ekstrak Kloroform Kulit Batang Tumbuhan Mangrove (*Sonneratia alba*). *Jurnal Chemica*. 12(1): 9-13. Makassar: Universitas Negeri Makassar Press.
- Herawati, N., N. Jalaluddin, La Daha, Firdaus. 2009. Potensi antioksidan ekstrak metanol kulit batang tumbuhan mangrove, *Sonneratia alba*. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 15(1): 23-25. Makassar: Universitas Negeri Makassar Press.



- Kalbe, M. 2015.  
<http://www.kalbemed.com/Products/Drugs/Generic/tabid/246/ID/18780/Cisplatin.aspx>=[Diakses pada 5 Mei 2015].
- Katzung, B., S.B. Masters, A.J. Trevor. 2012. Basic and clinical pharmacology. 12th ed. New York: McGraw-Hil.
- Kristianti, A. 2008. Pengaruh sisplatin dosis tinggi terhadap penurunan fungsi sel rambut luar koklea penderita tumor ganas dengan menggunakan DPOAE [tesis]. Bandung. Universitas Padjadjaran.
- Marie, H., Hanigana, M. Danyelle, Townsendb, and J.L. Arthur, Cooperc. 2009. Metabolism of Cisplatin to a Nephrotoxin, Department of Cell Biology, University of Oklahoma Health Sciences Center. Medical University of South Carolina. New York: Medical College National Institute of Health Public Access Toxicology. 257(3): 174–177.
- Marie, H. and D. Prasad. 2008. Cisplatin nephrotoxicity : moleculer mechanism. *National Institute of Health*. No.1: 47-61.
- Markum, H. M. S. 2009. *Buku Ilmu Ajar Penyakit Dalam*. Edisi V. Jakarta: Interna Publishing.
- Martina, R. and E. P. Elen. 2014. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.*) terhadap gambaran histologi organ ginjal dan hati tikus putih (*Rattus norvegicus L.*) dengan pemberian SRBC sebagai antigen. Medan: Universitas Negeri Medan.
- Mescher, A. L. 2011. *Histologi Dasar Janqueira*. Jakarta: ECG.
- Naiborhu, P.E. 2002. Ekstraksi dan manfaat ekstrak mangrove (*Sonneratia alba dan Sonneratia caesularis*) sebagai bahan alami antibakterial: pada patogen udang windu, *Vibrio harveyi* [tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Ni Luh, P. R. S., S. I. Wayan, B. O. W. Ida. 2013. Histopatologi Ginjal Tikus Putih Akibat Pemberian Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) Peroral. *Buletin Veteriner Udayana*. 5(1): 63-69.
- Prasetyaningrum, M. 2012. Evaluasi penurunan fungsi ginjal pasien yang mendapatkan kemoterapi cisplatin di Rumah Sakit Kanker Dharmais Jakarta Periode Juli- Desember 2012. Universitas Indonesia.
- Putri, M. S. 2007. Pengaruh pemberian asetaminofen berbagai dosis peroral pada gambaran histopatologi tubulus prokimal ginjal tikus wistar. Universitas Diponegoro.



- Ramesh, G. and W.B. Reeves. 2004. Salicylate reduces cisplatin nephrotoxicity by inhibition of tumor necrosis factor. *Kidney Int* .65: 490 – 498.
- Safnowandi. 2015. Struktur Komunitas Mangrove di Teluk Poton Bako Sebagai Buku Panduan Untuk Pemantapan Ekosistem Pada Guru Biologi SMA di Kabupaten Lombok Timur. *Jurnal Ilmiah IKIP Mataram*. 2(1): 365-379.
- Santosa, Y. I., D. Samiadi, N. A. Akbar, Pandji, F. Irani. 2012. Effects of Alpha Tocopherol Againsts Cisplatin-Induced Ototoxicity. Departemen Ilmu Kesehatan THT-KL Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang. MKB. Volume 44 No. 4.
- Pierre, G. 2014. *Sonneratia alba* J.Smith. [http://amapcollaboratif.cirad.fr/pages\\_logiciels/Mangrove\\_web/especes/s/sonal/sonal\\_11.html](http://amapcollaboratif.cirad.fr/pages_logiciels/Mangrove_web/especes/s/sonal/sonal_11.html) [ Diakses pada 23 Desember 2014].
- Thamrin, W. 2007. Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Rumput Laut Hijau *Ulva reticulata* Forsskal. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 5(1): 31-36.
- Tsuruya, K., T. Ninomiya, M. Tokumoto, M. Hirakawa, K. Matsutani, M. Taniguchi, K. Fukuda, H. Kanai, K. Kishihara, H. Hirakata, and M. Iida. 2003. Direct involvement of the receptor-mediated apoptotic pathways in cisplatin-induced renal tubular cell death. *Kidney Int*. 63: 72– 82.
- Turgut, F., O. Bayrak, F. Catal, R. Bayrak, A. F. Atmaca. 2008. Antioxidant and protective effects of silymarin on ischemia and reperfusion injury in the kidney tissues of rats. *Int urol Nephrol*. 40(2): 453-60.
- Weedman, B. 2003. Atlas of Renal Pathology. Department of Pathology, Vanderbilt University Medical Center, Nashville, TN. *American Journal Kidney of Disease*.
- Whyte, D. A., R.N. Fine. 2008. *Acute renal failure in children*. *Pediatr. Rev.* 29: 299-307.
- Wulandari, T. 2005. The effect of leaves extract of Sambiloto (*Andrographis paniculata*) on microanatomic structure of liver and serum glutamate pyruvate transaminase level of mice (*Mus musculus*) exposed to diazinon. *J Bioteknologi*. 4 (2).
- Yenita dan Aswiyanti, A. 2012. Korelasi antara Latent Membrane Protein-1 Virus Epstein-Barr dengan P53 pada Karsinoma Nasofaring (Penelitian Lanjutan). *Jurnal Kesehatan Anak*. 1 (1).

## LAMPIRAN

Tabel 4.1 Skoring degenerasi hidrofik renalis

		degenerasi hidrofik						
Perlakuan	pengulangan	1	2	3	4	5	6	skoring
kelompok normal	1	1	0	1	1	1	0	1
	2	1	0	1	0	0	0	0
	3	0	1	1	1	2	1	1
	4	0	1	0	0	0	1	0
	5	2	2	1	1	1	2	1
kontrol negative	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	2	2	2	2	2	1	2
	3	2	2	1	2	2	2	2
	4	2	2	2	1	2	2	2
	5	2	2	2	2	2	2	2
perlakuan 1	1	1	2	2	2	1	2	2
	2	1	2	2	2	2	2	2
	3	2	2	0	1	1	2	1
	4	1	1	1	1	1	1	1
	5	1	2	1	1	1	2	1
perlakuan 2	1	1	1	1	1	2	0	1
	2	1	0	0	0	0	1	0
	3	0	1	1	1	1	2	1
	4	0	2	2	2	1	1	1
	5	0	0	1	2	2	1	1
perlakuan 3	1	0	0	0	0	0	0	0
	2	1	2	1	1	1	2	1
	3	1	0	1	1	0	1	1
	4	0	0	1	0	0	1	0
	5	1	2	1	1	2	1	1

Tabel 4.2 Skoring parameter dilatasi tubulus renalis

perlakuan	pengulangan	dilatasi tubulus						Skoring
		1	2	3	4	5	6	
kelompok normal	1	0	0	0	0	0	1	0
	2	0	0	0	0	0	0	0
	3	1	0	0	0	1	1	0
	4	0	0	0	0	0	0	0
	5	1	0	1	1	1	0	0
kontrol negative	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	1	2	1	1	2	2	2
	3	2	2	1	1	1	2	2
	4	2	2	2	2	2	2	2
	5	2	1	2	2	1	2	2
perlakuan 1	1	2	2	2	2	1	1	2
	2	2	0	0	2	2	2	1
	3	1	0	1	1	0	2	1
	4	0	0	2	1	1	2	1
	5	0	1	1	1	1	1	1
perlakuan 2	1	0	1	0	1	0	0	0
	2	0	0	0	1	0	0	0
	3	0	1	0	0	0	1	0
	4	0	1	0	2	0	0	0
	5	0	0	1	1	1	0	0
perlakuan 3	1	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	1	0	0	0	0	0
	3	1	0	1	0	0	0	0
	4	0	1	1	1	0	0	0
	5	1	1	1	1	0	0	0

Tabel 4.3 Skoring gambaran nekrosis

perlakuan	ulangan	nekrosis						Skoring
		1	2	3	4	5	6	
kelompok normal	1	0	1	1	0	1	1	0
	2	1	1	0	1	0	0	0
	3	1	1	1	1	1	1	1
	4	1	0	0	1	0	0	0
	5	1	1	1	1	1	0	0
kontrol negatif	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	2	2	2	2	2	2	2
	3	2	2	1	2	2	1	2
	4	2	2	2	2	2	2	2
	5	2	2	1	2	2	2	2
perlakuan 1	1	2	2	1	1	1	2	2
	2	2	1	2	1	1	1	1
	3	1	1	2	2	2	2	2
	4	1	2	1	1	2	1	1
	5	1	1	1	1	1	1	1
perlakuan 2	1	2	2	1	1	1	0	1
	2	0	0	1	0	0	1	0
	3	0	1	0	1	1	0	0
	4	2	2	2	0	0	1	1
	5	1	1	1	1	1	0	1
perlakuan 3	1	1	0	0	0	0	1	0
	2	1	0	0	1	0	0	0
	3	1	1	0	1	2	0	1
	4	0	0	1	1	1	1	1
	5	1	0	1	1	1	1	1

dr. Rena Normasari, M. Biomed.  
NIP 19830512 200812 2 002

Novyanti Nur Arini  
132010101048

#### Lampiran 4.4

##### Perhitungan Dosis

1. Pemberian ekstrak *Sonneratia alba*  $5 \mu\text{g/ml} = 5 \cdot 10^{-3} \text{ mg/ml}$ .

Berat Badan Rata-rata Tikus =180 gram.

Konsentrasi sekali penyondean satu tikus

$$=5 \cdot 10^{-3} \times 180 = 0,9 \text{ mg/ml untuk tikus BB 200 gram}$$

Pembuatan larutan aquades dengan NaCMC 0,5 %.

NaCMC 5 gram dilarutkan dalam 1000 ml.

Volume Maks Tikus 5 ml, maka ambil volume di bawah 5 ml

$$=1 \text{ ml} \times 6 \times 10$$

$$=60 \text{ ml}$$

Pembuatan satu sirup untuk 10 hari perlakuan sonde ekstrak dengan 6 kali pengulangan.

$$=0,9 \times 6 \times 10$$

$$=54 \text{ mg/60 ml}$$

Sehingga dosis yang diberikan adalah  $0,9/200 = x \text{ mg/1000 gram}$

$$\text{Dosis} = 4,5 \text{ mg/kgBB}$$

2. Pemberian ekstrak *Sonneratia alba*  $10 \mu\text{g/ml} = 10^{-2} \text{ mg/ml}$ .

Berat Badan Rata-rata Tikus =180 gram.

Dosis sekali penyondean satu tikus

$$=10^{-2} \times 180 = 1,8 \text{ mg/ml untuk tikus BB 200 gram}$$

Pembuatan larutan aquades dengan NaCMC 0,5 %.

NaCMC 5 gram dilarutkan dalam 1000 ml.

Volume Maks Tikus 5 ml, maka ambil volume di bawah 5 ml

$$=1 \text{ ml} \times 6 \times 10$$

$$=60 \text{ ml}$$

Pembuatan satu sirup untuk 10 hari perlakuan sonde ekstrak dengan 6 kali pengulangan.

$$=1,8 \times 6 \times 10$$

$$=108 \text{ mg/60 ml}$$

Sehingga dosis yang diberikan adalah  $1,8/200=x$  mg/1000 gram

Dosis= 9 mg/kgBB

3. Pemberian ekstrak *Sonneratia alba*  $20 \mu\text{g/ml} = 2 \times 10^{-2}$  mg /ml.

Berat Badan Rata-rata Tikus =180 gram.

Dosis sekali penyondean satu tikus

$=2. 10^{-2} \times 180 = 3,6$  mg/ml

Pembuatan larutan aquades dengan NaCMC 0,5 %.

NaCMC 5 gram dilarutkan dalam 1000 ml.

Volume Maks Tikus 5 ml, maka ambil volume di bawah 5 ml

$=1 \text{ ml} \times 6 \times 10$

$=60 \text{ ml}$

Pembuatan satu sirup untuk 10 hari perlakuan sonde ekstrak dengan 6 kali pengulangan.

$=3,6 \times 6 \times 10$

$=216$  mg/60 ml

Sehingga dosis yang diberikan adalah  $3,6/200=x$  mg/1000 gram

Dosis=18 mg/kgBB

4. Pemberian dosis Cisplatin  $5 \text{ mg/kgBB} = 5 \text{ mg}/1000 \text{ gramBB}$

Dosis disesuaikan BB tikus masing-masing

Misal BB 200 gram, maka  $5/1000=y$  gram/200

$y=1 \text{ mg}$ .

Kandungan cisplatin  $50 \text{ mg}/50 \text{ ml} = 1 \text{ mg}/1 \text{ ml}$ .

Jadi untuk tikus dengan BB 200 gram diinjeksi 1 ml.

Misal BB 180 gram, maka  $5/1000=y$  gram/180

$y=0,9 \text{ mg}$ .

Kandungan cisplatin  $50 \text{ mg}/50 \text{ ml} = 1 \text{ mg}/1 \text{ ml}$ .

Jadi untuk tikus dengan BB 200 gram diinjeksi 0,9 ml.



## Lampiran 4.5

## Kruskal-Wallis Test

Ranks			
	kelompok	N	Mean Rank
kerusakan histopatologi	normal	15	22,23
	negatif	15	62,30
	perlakuan1	15	51,33
	perlakuan2	15	28,03
	perlakuan3	15	26,10
	Total	75	

Test Statistics <sup>a,b</sup>	
	kerusakan histopatologi
Chi-Square	45,526
Df	4
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

Lampiran 4.6  
Mann-Whitney Test

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kerusakan histopatologi	normal	15	9,33	140,00
	perlakuan1	15	21,67	325,00
	Total	30		

Test Statistics<sup>a</sup>

	kerusakan histopatologi
Mann-Whitney U	20,000
Wilcoxon W	140,000
Z	-4,173
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kerusakan histopatologi	normal	15	14,00	210,00
	perlakuan2	15	17,00	255,00
	Total	30		

Test Statistics<sup>a</sup>

	kerusakan histopatologi
Mann-Whitney U	90,000
Wilcoxon W	210,000
Z	-1,117
Asymp. Sig. (2-tailed)	,264
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,367 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kerusakan histopatologi	normal	15	14,50	217,50
	perlakuan3	15	16,50	247,50
	Total	30		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	kerusakan histopatologi
Mann-Whitney U	97,500
Wilcoxon W	217,500
Z	-,762
Asymp. Sig. (2-tailed)	,446
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,539 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kerusakan histopatologi	negatif	15	19,00	285,00
	perlakuan1	15	12,00	180,00
	Total	30		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	kerusakan histopatologi
Mann-Whitney U	60,000
Wilcoxon W	180,000
Z	-2,536
Asymp. Sig. (2-tailed)	,011
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kerusakan histopatologi	negatif	15	22,30	334,50
	perlakuan2	15	8,70	130,50

Total	30		
-------	----	--	--

Test Statistics<sup>a</sup>

	kerusakan histopatologi
Mann-Whitney U	10,500
Wilcoxon W	130,500
Z	-4,508
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

## Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kerusakan histopatologi	negatif	15	22,40	336,00
	perlakuan3	15	8,60	129,00
	Total	30		

Test Statistics<sup>a</sup>

	kerusakan histopatologi
Mann-Whitney U	9,000
Wilcoxon W	129,000
Z	-4,569
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

## Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kerusakan histopatologi	perlakuan1	15	20,67	310,00
	perlakuan2	15	10,33	155,00

Total	30	
-------	----	--

Test Statistics<sup>a</sup>

	kerusakan histopatologi
Mann-Whitney U	35,000
Wilcoxon W	155,000
Z	-3,605
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,001 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kerusakan histopatologi	perlakuan1	15	21,00	315,00
	perlakuan3	15	10,00	150,00
	Total	30		

Test Statistics<sup>a</sup>

	kerusakan histopatologi
Mann-Whitney U	30,000
Wilcoxon W	150,000
Z	-3,785
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kerusakan histopatologi	perlakuan2	15	16,00	240,00



perlakuan3	15	15,00	225,00
Total	30		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	kerusakan histopatologi
Mann-Whitney U	105,000
Wilcoxon W	225,000
Z	-,362
Asymp. Sig. (2-tailed)	,717
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,775 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable: kelompok  
b. Not corrected for ties.

## Lampiran 4.7 Etik Penelitian



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI

UNIVERSITAS JEMBER

KOMISI ETIK PENELITIAN

Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember 68121 – Email :  
fk\_unej@telkom.net**KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK**  
*ETHICAL APPROVA*

Nomor : 1.099/H25.1.11/KE/2016

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

*The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :*

**EFEK EKSTRAK KULIT BATANG MANGROVE (*Sonneratia Alba*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI CISPLATIN**

Nama Peneliti Utama : Novyanti Nur Arini (NIM.132010101048)  
*Name of the principal investigator*

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember  
*Name of institution*

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.  
*And approved the above mentioned proposal.*

Jember, 23 Des 2016  
  
dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Lampiran 4.8 Determinasi Spesies *Sonneratia alba*

 KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Jl. Kalimantan 37 Jember Jawa Timur  
Telp 0331-330225

---

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI**  
No. 84/UN25.1.9/TU/2016

Berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke Herbarium Jemberense, Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Jember oleh :

Nama : Monika Roosyidah  
NIM : 142010101106  
Jur./Fak./PT : F. Kedokteran / Universitas Jember

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut adalah :  
*Sonneratia alba* Sm. {Syn. *Chiratia leucantha* Montr.; *Sonneratia acida* Benth.;  
*Sonneratia iriomotensis* Masam.; *Sonneratia mossambicensis* Klotzsch ex Peters; Family  
- Lythraceae; Vernacular name - Perepat, pidada putih (Ind).}

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 11 April 2016

Mengetahui,  
Pembantu Dekan I,  
  
Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc, Ph.D.  
NIP. 195910091986021001

Ketua Laboratorium  
  
Dra. Dwi Setyati, M.Si  
NIP. 19640417199103200

Determined by Fuad Bahrul Ulum, S.Si, M.Sc.