



**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK METANOL BATANG KAYU  
KUNING (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) TERHADAP KADAR  
KREATININ DAN HISTOPATOLOGI GINJAL MENCIT BETINA  
GALUR BALB/C**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**Raras Puspa Wicitra**

**NIM 132210101094**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2017**



**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK METANOL BATANG KAYU  
KUNING (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) TERHADAP KADAR  
KREATININ DAN HISTOPATOLOGI GINJAL MENCIT BETINA  
GALUR BALB/C**

**SKRIPSI**

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

**Oleh:**

**Raras Puspa Wicitra**

**NIM 132210101094**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2017**

**PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

- 1) Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nya
- 2) Kedua orang tua tercinta, Ayah Nanang Koesdarjanto, S.H. dan Bunda Oetari
- 3) Bapak dan Ibu guru penulis sejak TK Pembina Kotabaru, SD Negeri 005 Bengkalis, SMP Negeri 14 Bandung, SMA Negeri 7 Manado dan Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- 4) Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

**MOTTO**

ALLAH does not burden a soul beyond what it can bear

(Q.S. Al-Baqarah 2:286)

Do not be afraid, i am with you all hearing and all seeing

(Q.S. Taha 20:46)

Everything comes to you at the right moment, be patient, be grateful

(Anonim)

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Raras Puspa Wicitra

NIM : 132210101094

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Batang Kayu Kuning (Arcangelisia flava (L.) Merr.) Terhadap Kadar Kreatinin dan Histopatologi Ginjal Mencit Betina Galur Balb/c* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karta 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, Juli 2017

Yang Menyatakan,

Raras Puspa Wicitra

132210101094

**SKRIPSI**

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK METANOL BATANG KAYU KUNING  
(*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) TERHADAP KADAR KREATININ DAN  
HISTOPATOLOGI GINJAL MENCIT BETINA GALUR BALB/C**

Oleh

Raras Puspa Wicitra

NIM 132210101094

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Ema Rachmawati, S.Farm.,M.Sc.,Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Dewi Dianasari, S.Farm., M.Farm.,Apt.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Batang Kayu Kuning (Arcangelisia flava (L.) Merr) Terhadap Kadar Kreatinin dan Histopatologi Ginjal Mencit Betina Galur Balb/c* telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

Hari, tanggal :

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

**Tim Pembimbing**

Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota,

Ema Rachmawati, S.Farm., M.Sc., Apt.  
NIP. 198403082008012003

Dewi Dianasari, S.Farm., M.Farm., Apt.  
NIP. 198712082014042002

**Tim Penguji**

Penguji I,

Penguji II,

Fransiska Maria C., S.Farm., M.Farm., Apt.  
NIP. 198404062009122008

Endah Puspitasari., S.Farm., M.Sc., Apt.  
NIP. 198107232006042002

Mengesahkan

Dekan,

Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.

NIP. 197604142002122001



## RINGKASAN

**Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Batang Kayu Kuning (*Arcangelisia Flava* (L.) Merr.) terhadap Kadar Kreatinin dan Histopatologi Ginjal Mencit Betina Galur Balb/C; Raras Puspa Wicitra, 132210101094; 2017; 56 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember**

Keanekaragaman hayati yang terdapat di Indonesia lebih dari 25.000-30.000 spesies tanaman dan sekitar 6.000 di antaranya jenis tanaman tersebut memiliki potensi untuk dijadikan tanaman obat, salah satu tumbuhan yang dapat diteliti adalah kayu kuning. Ekstrak batang kayu kuning dilaporkan dapat menurunkan kadar kolesterol total dan secara tradisional dapat digunakan untuk menyembuhkan malaria, disentri, demam, ekspektoran, *emmenagogue* dan tonik. Selain penelitian terhadap efek terapi dari kayu kuning, perlu dilakukan penelitian terhadap toksisitas dari kayu kuning. Salah satu uji toksisitas yang dapat dilakukan adalah uji toksisitas akut.

Uji toksisitas akut yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah metode OECD 423 dengan dosis awal 2.000 mg/kg BB dan dilakukan pengamatan selama 14 hari. Pengamatan dilakukan dengan menimbang berat badan hewan uji setiap dua hari sekali selama 14 hari. Pada 24 jam pertama setelah induksi ekstrak, dilakukan pengambilan darah melalui vena konjungtiva untuk dilakukan pengukuran kadar serum kreatinin. Kemudian pada hari ke-14 hewan uji dikorbankan dan organnya diambil serta ditimbang. Kemudian organ tersebut difiksasi menggunakan *Buffer Normal Formalin* 10% dan dilakukan pemeriksaan histopatologi organ. Analisis data untuk kadar serum kreatinin adalah uji *One Way Anova*, sedangkan analisis data untuk berat organ relatif menggunakan uji *Kruskal-Wallis*. Hasil pemeriksaan histopatologi organ dilakukan dengan skoring menggunakan kriteria Venient, skor yang diperoleh kemudian dianalisis dengan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis*.

Hasil analisis dengan uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa berat organ relatif ginjal kelompok kontrol (0,564 %), dosis 2.000 mg/kg BB (0,0561%) dan dosis 5.000 mg/kg BB (0,5803%) tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok. Kadar kreatinin serum tertinggi pada kelompok perlakuan dosis 2000 mg/kg BB (1,1167 mg/dl) dibandingkan dengan kelompok kontrol (1,0067 mg/dl). Sedangkan kelompok perlakuan dosis 5000 mg/kg BB memiliki kadar kreatinin terendah (0,9433 mg/dl). Namun kadar kreatinin pada seluruh kelompok perlakuan tidak menimbulkan pengaruh yang signifikan pada perubahan fungsi ginjal. Hasil skoring histopatologi ginjal dengan metode Venient. menunjukkan skor 2, yang artinya terdapat kerusakan sebesar 25-<50% pada sel ginjal. Kerusakan yang terjadi adalah nekrosis piknotik, nekrosis karioreksis, nekrosis kariolisis, dilatasi lumen dan atropi lumen. Hal ini



menunjukkan bahwa ekstrak metanol kayu kuning tidak menyebabkan ketoksikan pada pemberian dosis tunggal dalam waktu singkat.



## PRAKATA

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga skripsi yang berjudul “Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) Terhadap Kadar Kreatinin dan Histopatologi Ginjal Mencit Betina Galur Balb/C” dapat diselesaikan. Sholawat dan salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabatnya.

Penulis menyadari bahwa bantuan, doa, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak sangat membantu dalam terselesaikannya skripsi ini. Oleh karena itu, dalam kesempatan kali ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada beberapa pihak berikut:

1. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember, Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm., atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini;
2. Ibu Ema Rachmawati, S.Farm., M.Sc., Apt., selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Dewi Dianasari, S.Farm., M.Farm., Apt., selaku dosen pembimbing anggota serta dosen pembimbing akademik penulis yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga dan perhatiannya dalam membantu penulis hingga akhir penyusunan skripsi ini;
3. Ibu Fransiska Maria, S.Farm., M.Farm., Apt., selaku dosen penguji I dan Ibu Endah Puspitasari., S.Farm., M.Sc., Apt., selaku dosen penguji II yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan mengevaluasi skripsi ini;
4. Bapak dan Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan seluruh ilmunya dan memperluas ilmu pengetahuan serta wawasan penulis selama menempuh masa kuliah;
5. Pimpinan dan karyawan Fakultas Farmasi Universitas Jember atas bantuannya selama penulis menuntut ilmu di Fakultas Farmasi Universitas Jember;

6. Kedua orang tua penulis, Ayah Nanang Koesdarjanto, S.H. dan Bunda Oetari atas limpahan doa, dukungan, semangat dan kasih sayang yang tiada henti. Semoga skripsi ini dapat menjadi kebanggaan dan kebahagiaan ayah dan bunda;
7. Nenek penulis, Ibu Sunarti, dan paman penulis, Om Windarto atas doa, dukungan dan semangat yang tiada henti;
8. Sahabat seperjuangan Nur Marlinah (Cila) atas semangat, kerja keras dan kekompakan selama pengerjaan skripsi dan penelitian ini;
9. Sahabat-sahabat terbaik di kampus: Cila, Rika, Farin, Nila, Fergi, Ayunda, Fara, Edwin, Sugi, Elsa, Wulan, “my suuh” Niken, Mia Rahmania, Dinda dan Elok atas semangat, dukungan dan keceriaan yang diberikan selama ini.
10. Sahabat skripsi (Biomed squad): Cila, Ayunda, Fara, Edwin, Sugi, Risti, Nila, Fergi, Andra, Zul, Wulan, Wilda, Laili, Putri Efina atas kebersamaan, bantuan dan semangatnya dalam menyelesaikan penelitian ini.
11. Mbak Dini dan Mbak Indri selaku teknisi laboratorium Biomedik atas bantuan dan bimbingannya selama penelitian ini;
12. Bapak Budi, Mbak Mupit dan kawan-kawan selaku pihak dari Laboratorium Patologi Anatomi Gedung *Diagnostic Center* RSUD dr. Soetomo Surabaya yang telah membantu dalam proses pembuatan preparat histologi organ;
13. Mbak Wahyu selaku teknisi Laboratorium Patologi FKG Universitas Jember yang telah membantu pemeriksaan preparat histopatologi organ;
14. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terima kasih atas segala bantuan dan kerjasamanya.

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

Jember, Juli 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	ii
HALAMAN MOTO .....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN .....	vii
PRAKATA.....	ix
DAFTAR ISI .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
DAFTAR TABEL .....	xv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvi
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian .....</b>	<b>4</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian .....</b>	<b>4</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Tumbuhan Kayu kuning (<i>Arcangelisia flava</i> (L.) Merr) .....</b>	<b>5</b>
2.1.1 Taksonomi .....	5
2.1.2 Morfologi Tumbuhan .....	5
2.1.3 Ekologi dan Persebaran .....	6
2.1.4 Kandungan Kimia dan Manfaat .....	7
<b>2.2 Asas Umum Toksikologi .....</b>	<b>8</b>
<b>2.3 Uji Toksisitas .....</b>	<b>8</b>

2.3.1 Pengertian Uji Toksisitas .....	8
2.3.2 Uji Toksisitas Akut .....	8
2.3.3 Uji Toksisitas Akut Metode OECD .....	9
<b>2.4 Tinjauan Tentang Ginjal .....</b>	<b>10</b>
2.4.1 Anatomi Ginjal .....	10
2.4.2 Mikrostruktur Nefron .....	12
2.4.3 Fungsi Ginjal .....	13
2.4.4 Kerusakan Ginjal .....	13
2.4.5 Faktor Penyebab Kerusakan Ginjal .....	14
2.4.6 Parameter Kerusakan Ginjal .....	15
2.4.7 Penilaian Histopatologi Ginjal .....	16
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>18</b>
<b>3.1 Jenis penelitian .....</b>	<b>18</b>
<b>3.2 Variabel Penelitian .....</b>	<b>18</b>
3.2.1 Variabel Bebas .....	18
3.2.2 Variabel Terikat .....	18
3.2.3 Variabel Terkendali .....	18
<b>3.3 Rancangan Penelitian .....</b>	<b>19</b>
3.3.1 Alat .....	19
3.3.2 Bahan .....	19
3.3.3 Subjek Uji .....	20
<b>3.4 Definisi Operasional .....</b>	<b>20</b>
<b>3.5 Lokasi dan Waktu Penelitian .....</b>	<b>21</b>
<b>3.6 Prosedur Penelitian .....</b>	<b>21</b>
3.6.1 Persiapan dan Pembuatan Simplisia Batang Kayu Kuning ...	21
3.6.2 Pembuatan Ekstrak Metanol Kayu Kuning .....	21
3.6.3 Persiapan Hewan Uji .....	22
3.6.4 Pembuatan Suspensi dan Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Metanol Kayu Kuning.....	23

3.6.5 Perlakuan Ekstrak Metanol Kayu Kuning .....	23
3.6.6 Monitoring Berat Badan .....	23
3.6.7 Persiapan Pembedahan Hewan Uji .....	24
3.6.8 Pembedahan Hewan Uji .....	24
3.6.9 Pengamatan dan Teknik Pengambilan Data .....	24
3.6.10 Teknik Analisis Data .....	26
<b>3.7 Skema Alur Penelitian .....</b>	<b>27</b>
<b>BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>29</b>
<b>4.1 Hasil .....</b>	<b>30</b>
<b>4.2 Pembahasan .....</b>	<b>33</b>
<b>BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>37</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>38</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>46</b>



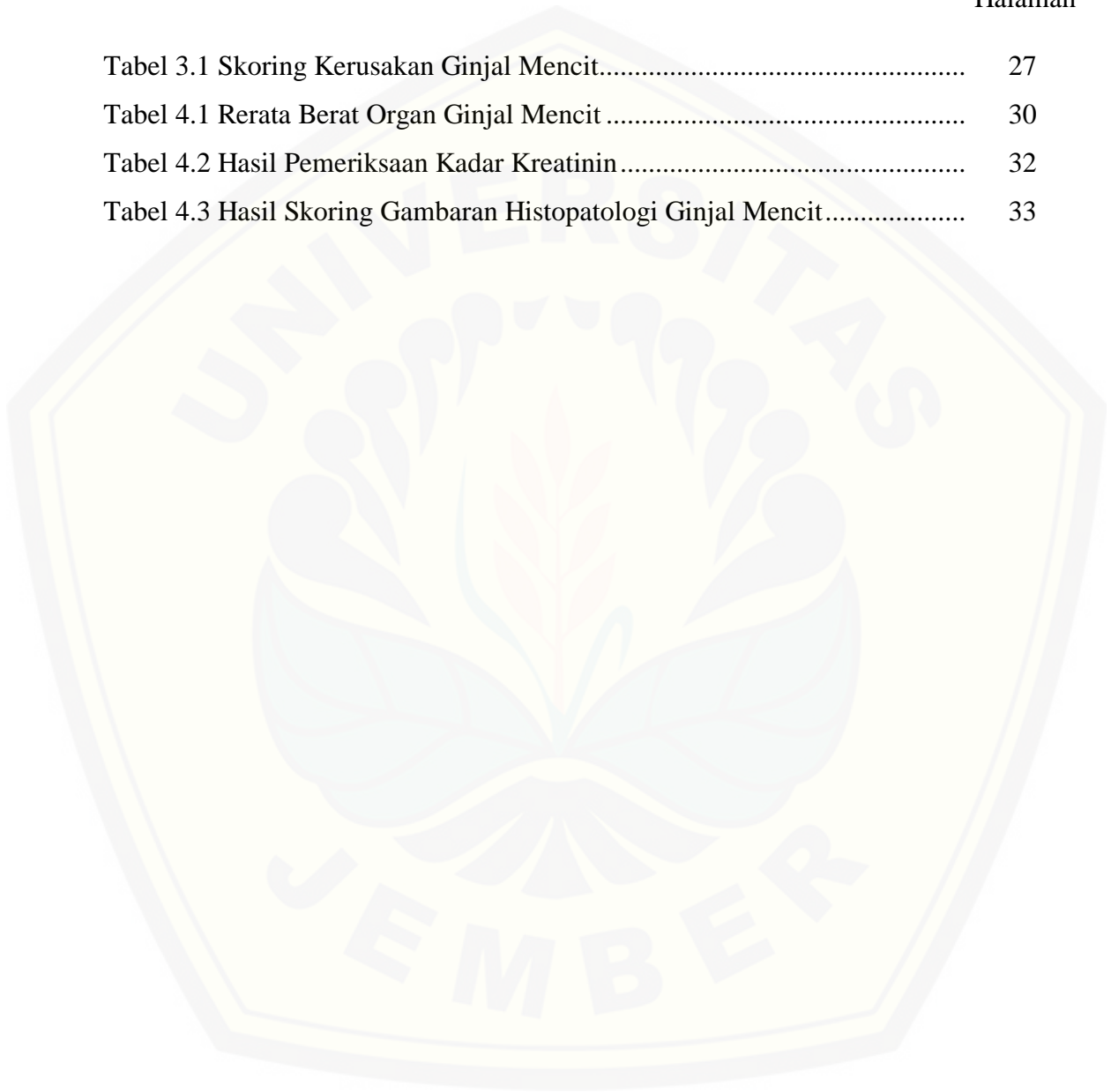
**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
Gambar 2.1 Tumbuhan Kayu Kuning.....	5
Gambar 2.2 Struktur Ginjal .....	11
Gambar 2.3 Histologi Nefron Ginjal.....	12
Gambar 2.4 Histologi Kerusakan Ginjal.....	17
Gambar 2.5 Histopatologi Ginjal pada Kondisi <i>End State Renal Disease</i> .....	18
Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian .....	19
Gambar 3.2 Skema Alur Ekstraksi Batang Kayu Kuning.....	27
Gambar 3.3 Skema Perlakuan Hewan Uji.....	28
Gambar 3.4 Skema OECD 423.....	29
Gambar 4.1 Gambaran Histopatologi Sel Ginjal .....	32



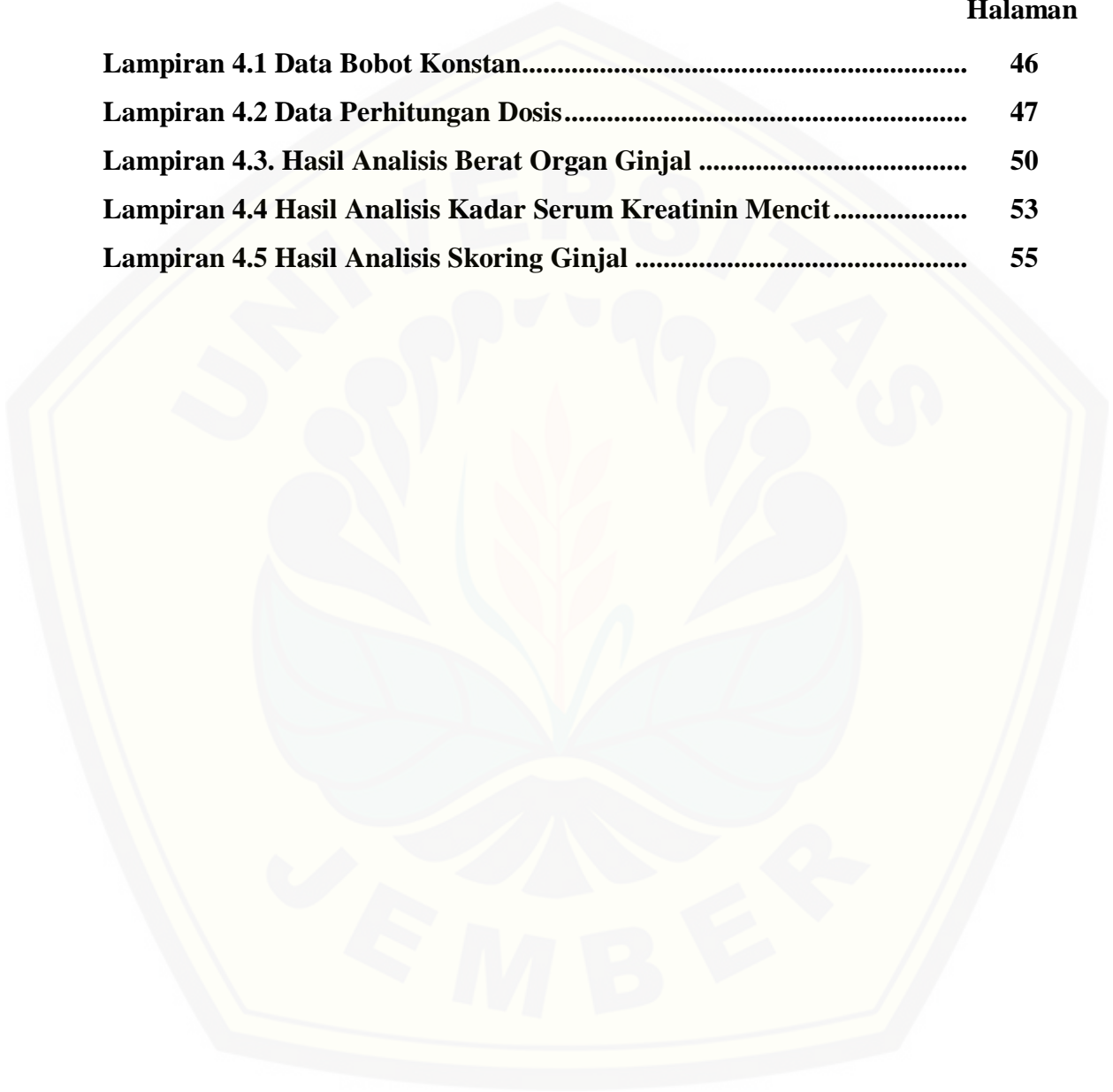
**DAFTAR TABEL**

	Halaman
Tabel 3.1 Skoring Kerusakan Ginjal Mencit.....	27
Tabel 4.1 Rerata Berat Organ Ginjal Mencit .....	30
Tabel 4.2 Hasil Pemeriksaan Kadar Kreatinin.....	32
Tabel 4.3 Hasil Skoring Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit.....	33



DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
<b>Lampiran 4.1 Data Bobot Konstan.....</b>	<b>46</b>
<b>Lampiran 4.2 Data Perhitungan Dosis.....</b>	<b>47</b>
<b>Lampiran 4.3. Hasil Analisis Berat Organ Ginjal .....</b>	<b>50</b>
<b>Lampiran 4.4 Hasil Analisis Kadar Serum Kreatinin Mencit.....</b>	<b>53</b>
<b>Lampiran 4.5 Hasil Analisis Skoring Ginjal .....</b>	<b>55</b>



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyembuhan suatu penyakit menggunakan tumbuhan sudah dilakukan sejak dulu, di mana para nenek moyang memanfaatkan tanaman sebagai obat berdasarkan pengalaman. Hal ini memicu perkembangan penelitian terhadap tumbuhan yang secara empiris memiliki efek menyembuhkan dan menggali potensi tumbuhan tersebut untuk digunakan sebagai bahan obat. Keanekaragaman hayati yang terdapat di Indonesia lebih dari 25.000-30.000 spesies tanaman dan sekitar 6.000 di antaranya jenis tanaman tersebut memiliki potensi untuk dijadikan tanaman obat (Kardono, *et al.*, 2003), salah satu tumbuhan yang dapat diteliti adalah Kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.). Tumbuhan ini termasuk ke dalam suku Menispermaceae yang umumnya ditemukan tumbuh di pantai berbatu atau tepi hutan pada ketinggian 100 m sampai 800 m di atas permukaan laut dan banyak ditemukan di Asia Tenggara, termasuk Indonesia (Kebun Raya Banua, 2016).

Kayu kuning secara tradisional digunakan untuk menyembuhkan beberapa penyakit seperti, malaria, disentri, demam, abortif, ekspektoran, *emmenagogue* dan digunakan sebagai tonik (Wulansari, *et al.*, 2014). Bagian yang sering digunakan dari Kayu kuning adalah bagian batang atau kayu dalam keadaan segar atau dalam bentuk simplisia. Menurut Heryani dan Nugroho (2015), bagian batang tanaman ini mengandung beberapa jenis alkaloid, seperti berberin, palmatin, *jatrorhizine* dan *columbamine*. Senyawa utama yang terdapat dalam tanaman ini adalah berberin, dimana senyawa ini memiliki efek terapi sebagai agen antimikroba dan antimalaria. Kayu kuning juga mengandung senyawa flavonoid yang memiliki efek antidiabetes dan antioksidan (Wahyudi, *et al.*, 2016). Metabolit sekunder lain yang terkandung di dalam kayu kuning antara lain saponin, triterpenoid, tannin, steroid dan alkaloid (Kebun Raya Banua, 2016).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ulfah dan Rachmawati (2017), ekstrak metanol batang kayu kuning dengan dosis 250 mg/Kg BB dapat menurunkan kadar kolesterol total tikus kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Selain penelitian terhadap efek terapi dari kayu kuning, perlu dilakukan penelitian terhadap toksisitas dari kayu kuning. Uji toksisitas atau uji toksikologi sangat penting dalam pengembangan suatu obat baru guna memastikan keamanannya sehingga aman dikonsumsi oleh manusia (Priyanto, 2009). Menurut BPOM (2014) uji toksisitas terdiri dari uji toksisitas akut, uji toksisitas subkronik, uji toksisitas kronik, uji teratogenisitas, uji sensitasi kulit, uji iritasi mata, uji iritasi akut dermal, uji iritasi mukosa vagina, uji toksisitas akut dermal dan uji toksisitas subkronik dermal. Salah satu uji toksisitas yang sering dilakukan adalah uji toksisitas akut.

Uji toksisitas akut bertujuan untuk mendeteksi toksisitas intrinsik suatu zat, menentukan organ sasaran, kepekaan spesies, memperoleh informasi bahaya setelah pemaparan suatu zat secara akut, memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis, merancang uji toksisitas selanjutnya, memperoleh nilai LD<sub>50</sub> suatu bahan/sediaan, serta penentuan penggolongan bahan/sediaan dan pelabelan (BPOM, 2014). Sedangkan prinsip uji toksisitas akut yaitu, sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok, kemudian dilakukan pengamatan terhadap adanya efek toksik dan kematian (BPOM, 2014).

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode OECD 423. Prosedur OECD ini *reproducible* dan menggunakan hewan uji yang sangat sedikit dan juga bertahap. Setiap langkah digunakan 3 hewan uji dan rata-rata diperlukan 2 sampai 4 langkah untuk mempertimbangkan toksisitas akut dari zat kimia bahan uji tergantung pada kematian dan atau keadaan hewan uji yang hampir mati (OECD, 2001).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Marlinah (2017), ekstrak metanol batang kayu kuning memiliki nilai  $LD_{50} > 5.000$  mg/kg BB, namun perlu dilakukan pengamatan terhadap parameter kerusakan organ dan histopatologinya untuk mengetahui apakah ada kerusakan yang terjadi pada pemberian ekstrak dengan dosis tersebut. Efek toksik yang muncul dapat dilihat dari beberapa organ, salah satunya adalah organ ginjal. Karena organ ginjal memiliki fungsi mengekskresikan senyawa asing seperti obat, makanan, pestisida dan bahan-bahan eksogen non nutrisi lainnya yang masuk ke dalam tubuh (Price dan Wilson, 2005).

Seluruh zat toksik yang masuk dieskresikan dalam bentuk urin, di mana urin merupakan jalur utama ekskresi sebagian besar toksikan. Akibatnya, ginjal mempunyai volume aliran darah yang tinggi, mengkonsentrasi toksikan pada filtrat, membawa toksikan melalui tubulus dan mengaktifkan toksikan tertentu (Lu, 1995). Sehingga ketika suatu zat toksik masuk ke dalam tubuh, ginjal juga rentan terkena efek toksisitas. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek toksik ekstrak metanol kayu kuning yang mungkin muncul pada histopatologi ginjal serta pengaruhnya terhadap kadar serum kreatinin dan berat relatif organ ginjal hewan coba.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian tersebut maka permasalahan yang akan diungkap dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh pemberian dosis tunggal ekstrak metanol kayu kuning secara akut terhadap berat organ ginjal mencit galur Balb/c?
2. Bagaimana pengaruh pemberian dosis tunggal ekstrak kayu kuning secara akut terhadap kadar serum kreatinin mencit galur Balb/c?
3. Bagaimana pengaruh pemberian dosis tunggal ekstrak metanol kayu kuning secara akut terhadap gambaran histopatologi mencit galur Balb/c?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh pemberian dosis tunggal ekstrak metanol kayu kuning secara akut terhadap berat organ ginjal mencit galur Balb/c.
2. Mengetahui pengaruh pemberian dosis tunggal ekstrak kayu kuning secara akut terhadap kadar serum kreatinin mencit galur Balb/c.
3. Mengetahui pengaruh pemberian dosis tunggal ekstrak metanol kayu kuning secara akut terhadap gambaran histopatologi mencit galur Balb/c.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat:

1. Memberikan informasi mengenai gambaran histopatologi ginjal mencit Balb/c setelah pemberian dosis tunggal ekstrak Kayu kuning.
2. Memberikan informasi acuan dosis dalam penggunaan ekstrak Kayu kuning sebagai obat tradisional



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tumbuhan Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr)

#### 2.1.1 Taksonomi

Nama umum dari tanaman *Arcangelisia flava* Merr adalah kayu kuning. Di Indonesia, tanaman ini memiliki beberapa nama daerah seperti kayo kuning (Palembang), reuy ki koneng (Sunda), oyod sirawanan dan sirawan kunyit (Jawa), wuh bulan (Ambon), oyod koneng (Madura) serta mololeya gumini (Halmahera Utara) (Hariana, 2013).

Berikut ini adalah klasifikasi kayu kuning dalam sistematika tumbuhan:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Ranunculales
Suku	: Menispermaceae
Marga	: <i>Arcangelisia</i>
Jenis	: <i>Arcangelisia flava</i> Merr.

(Kebun Raya Banua, 2016)

#### 2.1.2 Morfologi Tumbuhan

Kayu kuning merupakan tumbuhan liana dengan panjang mencapai 20 m. Batang utama sebelum bercabang dua besarnya seperti lengan/betis orang dewasa, mengandung air dan teksturnya liat. Daunnya tebal dan kuat seperti kulit, berbentuk bulat telur sampai *elips*, meruncing di bagian ujung, lebar daun 7 cm sampai 20 cm. permukaan atas daun mengkilap dan tangkainya panjang. Bunganya berumah dua berukuran kecil tersusun dalam rangkaian *glabrous* berukuran 20 cm hingga 50 cm (Kebun Raya Banua, 2016).



Bunganya merupakan bunga sempurna, majemuk, terletak di ketiak daun, berbentuk malai dengan daun penumpu, berkelamin ganda, memiliki kelopak berwarna hijau yang berlepasan, berbentuk segitiga, panjang 2-8 mm, benang sari berjumlah 6, kepala sari bulat, kepala putik beruang 3 berwarna kuning, mahkota berlepasan, bentuk asimetris, terdiri dari 6 helai dan berwarna kuning. Kayu kuning memiliki buah berwarna hijau yang kotak, berusuk 3 dengan permukaan berbulu. Bijinya berbentuk bulat, kasar kecil dan coklat. Sedangkan akarnya berupa akar tunggang yang berwarna coklat kehitaman (Backer dan Brown, 1963). Bentuk Kayu kuning dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Tumbuhan Kayu kuning (sumber: Kebun Raya Banua, 2016)

### 2.1.3 Ekologi dan Persebaran

Kayu kuning tumbuh di beberapa daerah seperti Hainan, Semenanjung Thailand Selatan, Malaysia, Sumatra Utara, Jawa Tengah, Kalimantan, Langkawi,

Sulawesi Utara, Filipina dan Irian. Tumbuhan ini dapat ditemukan di dalam hutan pada daerah dengan ketinggian hingga 1000 meter di atas permukaan laut dan kadang-kadang tumbuh di tepian sungai. Di dataran rendah Sulawesi, kayu kuning tumbuh pada bukit berkapur (Foundation Flora Malesiana, 1984).

#### 2.1.4 Kandungan Kimia dan Manfaat

Batang kayu kuning mengandung beberapa jenis alkaloid, seperti berberin, palmatin, *jatrorhizine* dan *columbamine* (Heryani dan Nugroho, 2015). Senyawa utama yang terdapat dalam tanaman ini adalah berberin, dimana senyawa ini memiliki efek terapi sebagai agen antimikroba dan antimalaria. Kayu kuning juga mengandung senyawa flavonoid yang memiliki efek antidiabetes dan antioksidan (Wahyudi, et al., 2016). Metabolit sekunder lain yang terkandung di dalam kayu kuning antara lain saponin, flavonoid, tannin dan glikosida (Depkes RI, 2011).

Berberin yang terdapat dalam kayu kuning merupakan alkaloid isoquinolon yang memiliki beberapa manfaat seperti anti kanker, anti hipertensi, anti depresan, anti inflamasi, anti mikroba, hipolipidemik, hepatoprotektif dan antidiabetik (Singh, 2010). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Tiara.*et.al.* (2014), ekstrak kayu kuning dengan dosis 312 mg/KgBB dapat memberikan efek antidepresan pada mencit yang ditunjukkan dengan hasil FST (*Forced Swim Test*) dan *immobility time*.

Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Ulfah dan Rachmawati (2017), ekstrak metanol batang kayu kuning dengan dosis 250 mg/Kg BB dapat menurunkan kadar kolesterol total tikus kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Penelitian lain yang dilakukan oleh Kolina .*et.al.*,(2015) menunjukkan bahwa ekstrak kayu kuning memiliki efek sitotoksik terhadap larva udang *Artemia salina* L. dengan nilai LC50 dalam kategori sangat toksik, dengan rentang 0-250 µg/ml.

## 2.2 Asas Umum Toksikologi

Berdasarkan alur peristiwa timbulnya efek toksik, maka ada empat asas utama dalam toksikologi. Empat asas tersebut meliputi kondisi pemejanan dan kondisi makhluk hidup, mekanisme aksi, wujud dan sifat efek toksik atau pengaruh berbahaya racun.

Pada awalnya, makhluk hidup terpejani dengan racun. Setelah mengalami absorpsi dari lokasi pemejanan, racun atau metabolitnya akan terdistribusi ke tempat aksi (sel sasaran atau reseptor) tertentu di dalam makhluk hidup. Setelah sampai di tempat aksi, akan terjadi antaraksi antara racun atau metabolitnya dan komponen penyusun sel sasaran atau reseptor di tempat aksi. Kemudian pengaruh berbahaya atau efek toksik akan muncul dengan wujud dan sifat tertentu setelah melalui serangkaian peristiwa biokimia dan biofisika (Donatus, 2005).

## 2.3 Uji Toksisitas

### 2.3.1 Pengertian Uji Toksisitas

Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji. Data yang diperoleh dapat digunakan untuk memberi informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji tersebut bila terjadi pemaparan pada manusia, sehingga dapat ditentukan dosis penggunaannya demi keamanan manusia (BPOM, 2014).

### 2.3.2 Uji Toksisitas Akut

Uji toksisitas akut dirancang untuk menentukan efek toksik suatu senyawa yang akan terjadi dalam waktu yang singkat setelah pemejanan atau pemberian senyawa uji dengan takaran tertentu. Uji ini dikerjakan dengan cara memberikan dosis tunggal senyawa uji pada satu atau lebih hewan uji tertentu dan pengamatannya dilakukan selama 24 jam. Untuk kasus tertentu pengamatannya dapat dilakukan selama 7-14 hari (Donatus, 2005).

Prinsip uji toksisitas akut yaitu, sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis perkelompok, kemudian dilakukan pengamatan terhadap adanya efek toksik dan kematian. Hewan yang mati selama percobaan dan yang hidup sampai akhir percobaan diotopsi untuk dievaluasi adanya gejala-gejala toksisitas (BPOM, 2014).

Tujuan uji toksisitas akut adalah untuk mendeteksi toksisitas intrinsik suatu zat, menentukan organ sasaran, kepekaan spesies, memperoleh informasi bahaya setelah pemaparan suatu zat secara akut, memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis, merancang uji toksisitas selanjutnya, memperoleh nilai LD<sub>50</sub> suatu bahan/sediaan, serta penentuan penggolongan bahan/sediaan dan pelabelan (BPOM, 2014).

Data kuantitatif yang diperoleh dari uji ketoksikan akut ialah *lethal dose 50% cut off* (LD<sub>50 cut off</sub>). Data kualitatifnya berupa gejala klinis dan morfologis efek toksik senyawa uji. LD<sub>50</sub> didefinisikan sebagai dosis tunggal suatu zat yang diharapkan akan mematikan setengah hewan uji. Data LD<sub>50 cut off</sub> yang diperoleh digunakan untuk menentukan potensi ketoksikan akut senyawa relatif terhadap senyawa lain (Donatus, 2005).

### 2.3.3 Uji Toksisitas Akut dengan Metode OECD 423

Metode yang dikembangkan saat ini adalah metode OECD 423. Prosedur OECD ini *reproducible* dan menggunakan hewan uji yang sangat sedikit dan juga bertahap. Setiap langkah digunakan 3 hewan uji dan rata-rata diperlukan 2 sampai 4 langkah untuk mempertimbangkan toksisitas akut dari zat kimia bahan uji tergantung pada kematian dan atau keadaan hewan uji yang hampir mati (OECD, 2001).

Perhitungan dari metode ini berupa suatu nilai perkiraan (*cut off*) karena tidak memungkinkan perhitungan dari LD<sub>50</sub> yang tepat. Dalam penentuan LD<sub>50</sub> perlu dipilih setidaknya 2 kelompok dosis yang mampu menyebabkan kematian



lebih tinggi dari 0% dan lebih rendah dari 100%. Penggunaan jumlah hewan uji dan dosis sudah ditetapkan dalam metode OECD.

Pengujian toksisitas akut OECD Guideline 423 dilakukan dengan memejankan suatu sediaan uji dengan tingkatan dosis tertentu (*starting dose*) pada sekelompok hewan uji yang terdiri dari tiga ekor hewan uji dari galur dan jenis kelamin yang sama.

Pengamatan gejala toksik secara kualitatif yang mungkin timbul dilakukan secara intensif selama 4 jam pertama setelah pemberian sediaan uji, dilanjutkan selama 14 hari pada hewan uji yang tidak mengalami kematian pada 24 jam pertama setelah pemberian sediaan uji. Pengamatan secara mikroskopis dilihat dari kerusakan terhadap fungsi organ vital hewan uji yang disebabkan oleh pemberian sediaan uji. Kerusakan terhadap organ vital hewan uji dapat diketahui dari hasil pengamatan histopatologi masing-masing organ.

Apabila pada pengulangan terjadi satu atau tidak terjadi kematian hewan uji, maka pengujian dilakukan dengan menaikkan tingkatan dosis pada sekelompok hewan uji, maka pengujian dilanjutkan dengan menaikkan tingkatan dosis pada sekelompok hewan uji baru dan seterusnya (OECD, 2001).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Marlinah (2017), nilai LD<sub>50</sub> ekstrak metanol batang kayu kuning termasuk dalam kategori *unclassified* yaitu sebesar >5.000 mg/kg BB. Namun demikian, tetap perlu dilakukan pengamatan parameter kerusakan ginjal seperti kadar serum kreatinin, histopatologi ginjal dan berat organ ginjal relatif untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak metanol batang kayu kuninig dosis 5.000 mg/kg BB terhadap kerusakan ginjal.

## 2.4 Tinjauan Tentang Ginjal

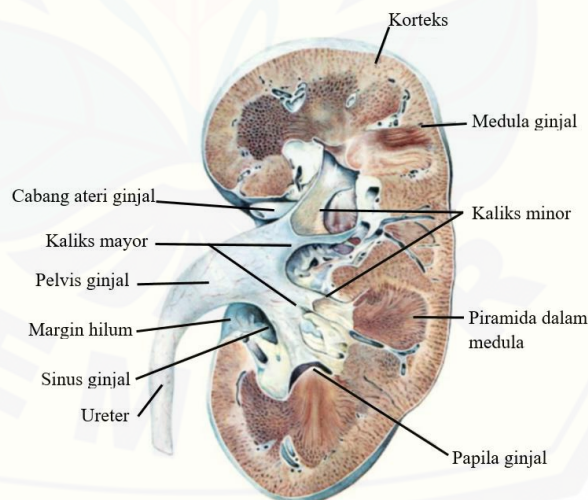
### 2.4.1 Anatomi Ginjal

Ginjal terletak pada bagian dorsal dari rongga abdominal pada tiap sisi dari aorta dan vena kava, tepat pada posisi ventral terhadap beberapa vertebra lumbal

yang pertama. Ginjal kanan terletak sedikit lebih rendah daripada ginjal kiri karena besarnya lobus hepatis kanan (Hartono, 1992).

Daerah perifer/tepi yang beraspek gelap disebut korteks, dan selebihnya yang agak cerah disebut medulla, berbentuk piramid terbalik. Secara mikroskopis, korteks yang gelap tampak diselang dengan interval tertentu oleh jaringan medulla yang berwarna agak cerah, disebut garis medulla (*medullary rays*). Substansi korteks di sekitar garis medulla disebut labirin korteks. Medulla tampak lebih cerah dan tampak adanya jalur-jalur yang disebabkan oleh buluh-buluh kemih yang lurus dan pembuluh darahnya (Hartono, 1992). Struktur ginjal dapat dilihat pada Gambar 2.2.

Menurut Nabib (1987) histologi ginjal terdiri atas tiga unsur utama, yaitu Glomerulus yang merupakan suatu gulungan pembuluh darah kapiler yang masuk melalui aferen, Tubuli sebagai parenkim yang bersama glomerulus membentuk nefron, suatu unit fungsional terkecil dari ginjal dan Interstisium bersama pembuluh-pembuluh darah, limfa dan saraf.



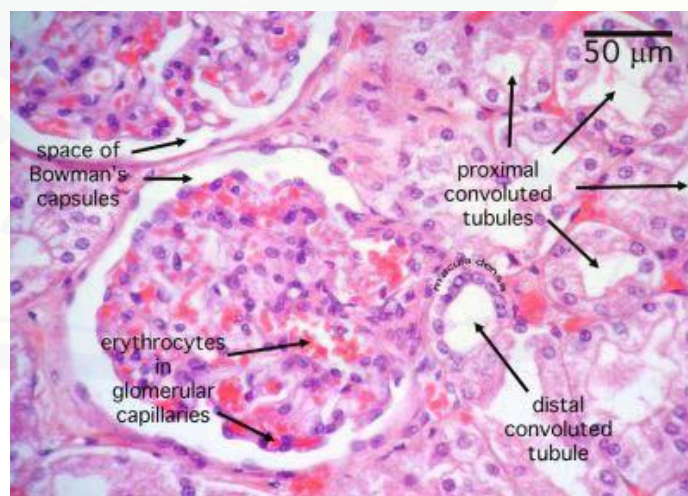
Gambar 2.2 Struktur ginjal (Sumber: Drake *et.al.*, 2010)

#### 2.4.2 Mikrostruktur Nefron Ginjal

Unit fungsional ginjal yaitu nefron. Nefron memiliki enam segmen yaitu: Kapsula glomerulus yang merupakan ujung buntu yang meluas pada nefron, tubulus kontortus dan tubulus proksimal, segmen tipis, segmen tebal pada nefron dan tubulus kontortus distal (Dellman dan Brown, 1992). Gambaran mikrostruktur sel ginjal normal dapat dilihat pada Gambar 2.3.

Nefron memiliki fungsi dasar membersihkan plasma darah dari substansi yang tidak diinginkan oleh tubuh. Biasanya substansi tersebut berasal dari hasil metabolisme urea, kreatinin, asam urat, dan ion-ion natrium, kalium, klorida, serta ion-ion hidrogen dalam jumlah yang berlebihan (Guyton, 1994).

Setiap korpus renal berdiameter 200  $\mu\text{m}$  dan terdiri atas seberkas kapiler yaitu glomerulus, dikelilingi oleh kapsul epitel ber dinding ganda yang disebut kapsula Bowman. Lapisan luar membentuk batas luar korpuskulus renal (*lamina parietalis*) yang terdiri atas epitel selapis gepeng yang ditunjang lamina basalis dan selapis tipis serat retikulin. Lapisan dalam (*lamina visceralis*) meliputi kapiler glomerulus yang terdiri dari sel-sel *podosit* (Junquiera, *et.al.*, 1998). Histologi sel normal ginjal dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Histologi nefron ginjal (sumber: Christensen dan Bim, 2002)



Struktur tubulus ginjal yang normal memiliki sel epitel berbentuk kubus selapis dengan batas sel yang tidak jelas, sitoplasma *eosinofilik* bergranula dan inti sel besar, bulat, berbentuk *sferis* di tengah sel. Puncak-puncak sel yang menghadap ke lumen tubulus mempunyai mikrovili cukup panjang yang disebut *brush border* (Gartner & Hiatt, 2007).

#### 2.4.3 Fungsi Ginjal

Menurut Alatas, *et.al.* (2002) ginjal memiliki fungsi utama dalam menjaga keseimbangan internal dengan jalan menjaga komposisi cairan ekstraselular. Untuk melaksanakan hal itu sejumlah besar cairan difiltrasi di glomerulus dan kemudian direabsorpsi dan disekresi di sepanjang nefron sehingga zat-zat yang berguna diserap kembali dan sisa-sisa metabolisme dikeluarkan sebagai urin, berikut adalah dua fungsi utama ginjal:

##### 1. Fungsi ekskresi

Ginjal dapat berfungsi untuk sisa metabolisme protein (ureum, kalium, fosfat, sulfur anorganik dan asam urat), regulasi volume cairan tubuh dikarenakan aktivitas anti-duaretik (ADH) yang akan mempengaruhi volume urin yang akan dikeluarkan tubuh dan ginjal yang bermanfaat dalam menjaga keseimbangan asam dan basa.

##### 2. Fungsi endokrin

Sebagai fungsi endokrin ginjal memiliki dua fungsi, yaitu;

- a. Memiliki partisipasi dalam eritropoesis yaitu sebagai penghasil zat eritropoetin yang dibutuhkan dalam pembentukan sel darah merah.
- b. Pengaturan tekanan darah, hal ini dikarenakan terlepasnya granula rennin dari jukstaglomerulus yang merangsang angiotensinogen di dalam darah menjadi angitensi I kemudian diubah kembali menjadi angiotensi II oleh enzim konvertase di paru. Kombinasi kedua inilah yang mengakibatkan

terjadinya hipertensi. Ginjal bertugas menjaga keseimbangan kalsium dan fosfor dikarenakan ginjal mempunyai peranan dalam metabolisme vitamin D.

#### 2.4.4 Kerusakan Ginjal

Urin adalah jalur utama ekskresi sebagian besar toksikan. Akibatnya, ginjal mempunyai volume aliran darah yang tinggi, mengkonsentrasi toksikan pada filtrat, membawa toksikan melalui tubulus dan mengaktifkan toksikan tertentu. Karenanya, ginjal adalah organ sasaran utama dari efek toksik (Lu, 1995).

Nefrotoksikan dapat menyebabkan efek buruk pada berbagai bagian ginjal, yang mengakibatkan berbagai perubahan fungsi. Kerusakan pada ginjal dapat mengenai glomerulus, tubulus maupun interstisiumnya. Penyakit yang terjadi pada glomerulus diantaranya adalah glomerulonefritis, glomerular lipidosi serta amiloidosis (Jubb dan Peter, 1993). Pada interstisium ginjal, zat toksik dapat menyebabkan terjadinya interstisial nefritis, pyelonefritis, nekrosis peripelvis serta nefrosklerosis (Smith, *et al.*, 1972).

Sedangkan pada tubulus ginjal dapat terjadi nekrosis tubular akut yang terdiri dari iskemia ginjal dan lesi nefrotoksik. Menurut McFarlane (2000), Iskemia ginjal merupakan kerusakan tubulus distal yang disebabkan adanya syok. Lesi nefrotoksik merupakan kerusakan pada tubulus proksimal yang disebabkan oleh paparan zat toksik. Kerusakan tubulus proksimal ginjal akibat zat nefrotoksik terlihat pada adanya penyempitan tubulus proksimal, nekrosis sel epitel tubulus proksimal dan adanya *hyalin cast* di tubulus distal (Manggarwati dan Susilaningsih, 2010).

Indikator yang menandakan adanya perubahan pada sel-sel organ akibat senyawa kimia salah satunya adalah perubahan berat organ (Michael *et al.*, 2007; Sellers *et al.*, 2007). Menurut Yulindra, *et al.* (2015), ketika sel-sel mengalami hipoksia berat yang berkepanjangan, maka dapat terjadi nekrosis sel yang ditandai dengan pembesaran ukuran sel yang merupakan respon terjadinya inflamasi,

sehingga mengakibatkan ukuran ginjal menjadi besar. Selain itu peradangan pada ginjal juga dapat memperbesar ukuran ginjal dan menyebabkan rasio organ ginjal meningkat.

#### 2.4.5 Faktor Penyebab Kerusakan Ginjal

Terdapat banyak faktor yang dapat mempengaruhi nefrotoksikasi dalam sistem tubuh manusia dan hewan, beberapa diantaranya adalah:

##### a. Obat dan senyawa kimia

Menurut Naughton (2008), terdapat beberapa jenis obat yang dapat menyebabkan nefrotoksitas, diantaranya NSAID, ACE inhibitor, antibiotik, antiretroviral, allupurinol, antiplatelet dan PPI. Selain itu beberapa bahan kimia juga dapat menyebabkan nefrotoksitas, yaitu timbal, emas dan kadmium (Alatas *et.al.*, 2002).

##### b. Alkohol

Konsumsi alkohol dapat merubah struktur dan fungsi ginjal serta merusak kemampuan ginjal untuk mengatur volume, komposisi cairan dan elektrolit dalam tubuh. Perubahan mikroskopis pada ginjal termasuk perubahan struktur glomerulus, pembengkakan ginjal dan meningkatnya jumlah sel-sel yang berisi lemak, protein dan air. Efek ini akan mengubah kemampuan ginjal untuk berfungsi secara normal (Boggan, 2003).

##### c. Rokok

Menurut Orth dkk (2000), merokok dapat menyebabkan atherogenesis, perubahan metabolisme prostaglandin dan perubahan aktivitas sistem imun yang dapat menginduksi kerusakan ginjal. Perokok aktif memiliki peluang 7x lebih tinggi untuk mengalami CKD dibandingkan dengan orang yang tidak merokok (Retnakaran, 2006).

##### d. Makanan

Menurut Alatas *et.al.*, (2002), makanan juga dapat menyebabkan nefrotoksitas, hal ini berasal dari makanan yang tercemar racun kimia, racun

tanaman serangga atau makanan yang secara alamiah sudah mengandung racun seperti jengkol, singkong atau jamur jenis tertentu.

#### 2.4.6 Parameter Kerusakan Ginjal

Menurut Verdiansah (2016), terdapat beberapa metode pemeriksaan parameter kerusakan ginjal, diantaranya adalah pemeriksaan kadar ureum, asam urat, *cystatin C*,  $\beta_2$  mikroglobulin, inulin, mikroalbuminuria, klirens kreatinin dan serum kreatinin. Salah satu parameter kerusakan ginjal yang sering digunakan adalah kreatinin.

Kreatinin merupakan suatu metabolit kreatin dan diekskresikan seluruhnya dalam urin melalui filtrasi glomerulus. Dengan demikian meningkatnya kadar kreatinin dalam darah merupakan indikasi rusaknya fungsi ginjal (Lu, 1995). Klirens kreatinin adalah volume plasma yang dibersihkan dari senyawa atau racun oleh mekanisme ekskresi ginjal setiap satuan waktu (Loomis, 1978).

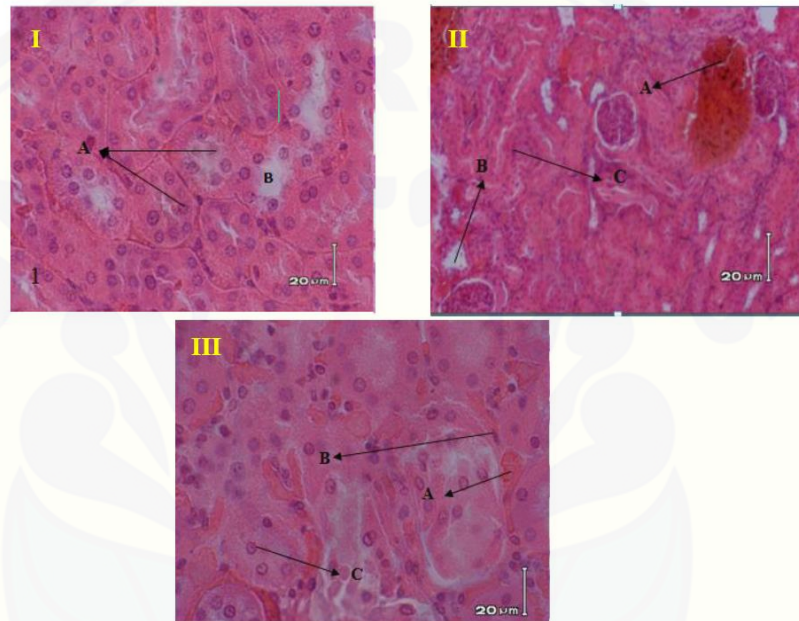
Menurut Lawrence *et.al.*, (1996), serum kreatinin merupakan indikator kuat bagi fungsi ginjal, di mana peningkatan kadar kreatinin dua kali lipat dari kadar normal menunjukkan penurunan fungsi ginjal sebesar 50%. Demikian juga peningkatan kadar kreatinin plasma sebesar tiga kali lipat menunjukkan kerusakan ginjal sebesar 75%. Konsentrasi kreatinin di serum pria lebih tinggi dari wanita, karena kreatinin merupakan refleksi langsung dari massa otot. Nilai normal kreatinin pada manusia adalah 0,7-1,5 mg/L (62-132  $\mu\text{mol/L}$ ) (Corwin, 2000), sedangkan nilai normal kreatinin pada mencit adalah 0,3-1,0 mg/dL (Lustgarten, 1972).

#### 2.4.7 Penilaian Histopatologi Ginjal

Untuk melihat tingkat kerusakan pada organ ginjal, dapat dilakukan sistem skoring semikuantitatif, salah satunya adalah sistem skoring Venient. Kerusakan sel yang diamati adalah atrofi tubulus, dilatasi tubulus, inflamasi interstisial,

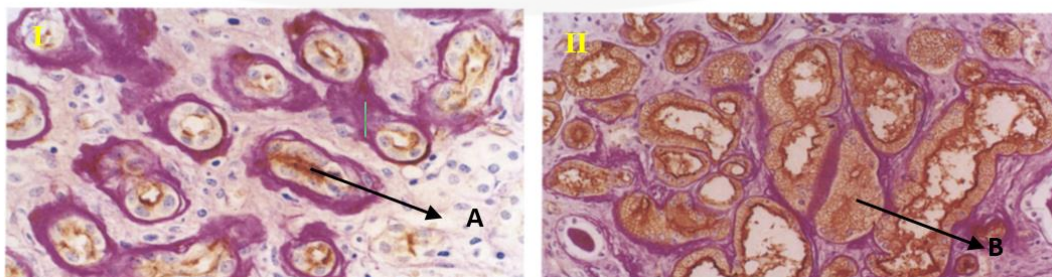


fibrosis dan nekrosis (Adiatma dan Ratna, 2016). Gambar 2.4 dan Gambar 2.5 menunjukkan histologi kerusakan tubulus ginjal mencit. Nekrosis merupakan kerusakan sel permanen dan terdiri dari 3 bentuk, yaitu piknotik yang ditandai dengan inti menjadi kecil dan gelap, karioreksis yang ditandai dengan inti yang terfragmentasi dan kariolisis yang ditandai dengan hilangnya inti sel.



Gambar 2.4 Histologi kerusakan ginjal mencit yang terpapar kebisingan (pewarnaan HE, perbesaran 400x). Gambar I mencit kelompok normal. A: Tubulus distal, B: Tubulus proksimal. Gambar II mencit yang terpapar kebisingan. A: Perdarahan, B: Piknosis, C: Kariolisis (sumber: Putri, *et.al.*, 2013)

Atrofi tubulus merupakan keadaan menyempitnya lumen karena dilatasi sel tubulus. Pada dilatasi tubulus tampak inti sel memipih, melebarnya lumen, dan hilangnya *brush border*. Sedangkan inflamasi interstitial merupakan salah satu tanda degenerasi dengan adanya sel radang.



Gambar 2.5 Histopatologi ginjal pada kondisi *End State Renal Disease* (pewarnaan PAS, perbesaran 400x). Gambar IA: Atrofi tubulus, Gambar IIB: Dilatasi tubulus (Nadasdy, *et.al.*, 1994)

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang akan dilakukan adalah *true experimental*, yaitu penelitian yang memberikan manipulasi terhadap variabel bebas, melakukan randomisasi untuk memisahkan sampel penelitian, serta terdapat dua atau lebih kelompok sampel (Swanjana, 2012). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh yang timbul akibat adanya suatu perlakuan tertentu. Variabel penelitian yang digunakan berupa variabel bebas, variabel terikat dan variabel terkontrol.

### 3.2 Variabel Penelitian

#### 3.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah tingkatan dosis ekstrak metanol batang kayu kuning dalam mg/kgBB.

#### 3.2.2 Variabel Terikat

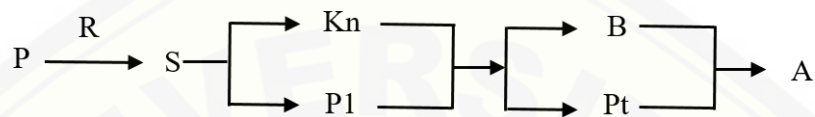
Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar kreatinin mencit pada pengukuran sampel darah, jumlah kematian hewan coba, serta hasil histopatologi ginjal.

#### 3.2.3 Variabel Terkontrol

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah frekuensi pemberian ekstrak metanol batang kayu kuning, cara pemberian, jenis (galur) mencit, berat badan mencit, usia mencit dan lamanya pengondisian sebelum pengujian.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang akan dilakukan adalah *post test only control group design*. Pada penelitian ini, kelompok penelitian dibagi menjadi 2, yaitu kelompok kontrol (K) dan Perlakuan 1 (P1). Skema rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan:

P: Populasi Mencit betina secara keseluruhan

R: Randomisasi

S: Sampel

Kn: Kelompok kontrol normal

P1: Kelompok perlakuan berdasarkan OECD 423

B: Pembedahan

Pt: Pengambilan sampel darah untuk pengujian kadar kreatinin

A: Analisis data

#### 3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, maserator, *rotary evaporator* (Laborotta 4000-efficient), oven (Memmert), spuit injeksi oral 5 ml (One Med), seperangkat alat bedah minor untuk mengambil organ, pot tempat organ, alat untuk pembuatan preparat histopatologi dan mikroskop cahaya (Olympus Bx53T), *photometric biolyzer* (Biolyzer 100).

#### 3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang kayu kuning, pakan standar mencit, CMC Na 10%, akuades (Aquadm Brataco), metanol (Brataco Chemika), kloroform (Brataco Chemika), *Buffer Normal Formalin* 10%, reagen pengukuran kadar serum kreatinin (Fluitest Analyticon), Hematoksisilin dan eosin.



### 3.3.3 Subjek Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit betina galur Balb/c yang tidak hamil dengan umur 8-12 minggu dan berat badan 20-30 gram.

## 3.4 Definisi Operasional

Pada penelitian ini yang mencakup definisi operasional antara lain:

- a. Batang kayu kuning diperoleh dari Taman Nasional Meru Betiri, batang yang diambil adalah batang utama berwarna coklat yang merambat dengan diameter  $\pm 0,5-1$  cm. Determinasi tanaman dilakukan di Herbarium Jemberense, Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember.
- b. Uji pendahuluan adalah tahapan pertama pada uji toksisitas OECD 423 yang bertujuan untuk mencari dosis awal yang sesuai untuk uji utama. Dosis awal pada uji pendahuluan dapat dipilih dari data toksisitas pada penelitian serupa yang dilakukan oleh Akhram *et.al*, (2010) pada air rebusan batang kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) yakni  $> 31,5$  gram/kgBB. Sehingga uji pendahuluan yang dipilih adalah 2.000mg/kg BB.
- c. Preparat histopatologi ginjal diamati pada 100 sel per 5 lapang pandang dengan perbesaran 400x, kemudian diskoring menggunakan metode Venient. Pengamatan dan skoring preparat histopatologi dilakukan oleh konsultan dari Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Skoring dilakukan untuk mengamati kerusakan glomerulus, pembentukan kista, hiperplasia podosit dan inflamasi interstisial.

## 3.5 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia bagian Biologi Farmasi dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember pada bulan Maret –Juni 2017.

### 3.6 Prosedur Penelitian

#### 3.6.1 Persiapan dan Pembuatan Simplisia Batang Kayu kuning

Tanaman Kayu kuning diperoleh dari Taman Nasional Meru Betiri di Banyuwangi, Jawa Timur. Tanaman kemudian dideterminasi di Herbarium Jemberiense, Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember untuk mengetahui spesiesnya.

Batang kayu kuning dicuci dan dipotong-potong dengan ukuran  $\pm 1$  cm, batang dengan diameter yang lebih besar dibelah menjadi dua. Kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 2 minggu sampai simplisia kayu kuning benar-benar kering. Tahap selanjutnya adalah sortasi kering, yaitu pemilahan simplisia kayu kuning dari kotoran dan hewan yang masuk selama proses pengeringan. Setelah dilakukan sortasi kering, selanjutnya dilakukan penyerbukan simplisia dengan mesin penyerbuk. Simplisia diserbuk dua kali dengan ukuran alat penyerbuk yang berbeda, selanjutnya serbuk simplisia ditimbang.

#### 3.6.2 Pembuatan Ekstrak Metanol Batang Kayu Kuning

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi, dimana sebanyak 1,05 kg serbuk simplisia batang kayu kuning diekstraksi dengan metanol 96%. Serbuk simplisia batang kayu kuning dibagi ke dalam tiga bagian, masing-masing 350 gram kemudian dimasukkan dalam maserator dan dicampur dengan pelarut metanol 96% dengan perbandingan antara simplisia : pelarut (1:10). Selanjutnya dilakukan pengadukan sampai seluruh simplisia tercampur dengan pelarut. Maserasi dilakukan selama 3 hari, dengan proses pengadukan satu kali setiap hari. Lalu, residu ditimbang dan dicampur dengan pelarut baru dengan perbandingan yang sama dan dilakukan maserasi seperti tahap awal. Setelah 3 hari, pelarut diambil dengan penambahan proses pemerasan simplisia untuk mendapatkan hasil maserasi yang optimal.

Tahapan selanjutnya adalah pembuatan ekstrak kental batang kayu kuning. Ekstrak cair batang kayu kuning dipekatkan dengan alat *Rotary Evaporator* pada suhu 50°C. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dipekatkan lagi dengan oven suhu 50°C sampai diperoleh bobot yang konstan, yaitu perbedaan dua kali penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,5 mg tiap gram zat yang digunakan (Kemenkes RI, 2014).

Pengujian bobot konstan ekstrak batang kayu kuning dilakukan untuk memastikan bahwa seluruh pelarut telah menguap. Hal ini dilakukan karena pada penelitian ini digunakan pelarut metanol yang bersifat toksik, sehingga dikhawatirkan efek toksik yang muncul bukan berasal dari senyawa kimia dalam ekstrak batang kayu kuning melainkan berasal dari pelarut yang belum menguap seluruhnya. Skema alur ekstraksi batang kayu kuning dapat dilihat pada Gambar 3.2.

### 3.6.3 Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian kali ini adalah mencit betina galur balb/c, sehat, usia 8-12 minggu, berat badan 20-30 gram dan tidak hamil. Mencit dibagi ke dalam dua kelompok, satu kelompok perlakuan dengan dosis 2.000 mg/kg BB dan satu kelompok kontrol, di mana tiap kelompok terdiri dari 3 ekor mencit. *Starting dose* yang digunakan adalah 2.000mg/KgBB. Mencit diadaptasi terlebih dahulu selama 5 hari dengan diberi pakan konsentrat dan minum secukupnya.

### 3.6.4 Pembuatan Suspensi dan Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Metanol Kayu Kuning

Ekstrak metanol batang kayu kuning disuspensikan dengan CMC Na 1%. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Akhram, *et.al.*,(2010), nilai LD<sub>50</sub> infusa kayu kuning sebesar 31,5 g/kg BB mencit. Sehingga uji pendahuluan dapat

dimulai dengan dosis 2.000mg/kgBB karena *starting dose* tertinggi pada metode OECD 423 adalah 2.000 mg/kg BB.

a. Pembuatan Suspensi CMC Na 1%

Sebanyak 1 gram CMC Na 1% ditaburkan diatas 10 ml air panas (20kali lipat berat CMC Na) dibiarkan  $\pm$  15menit hingga CMC Na mengembang, kemudian diaduk kuat sampai terbentuk massa yang kental dan ditambahkan air hingga volume 100ml.

b. Pembuatan suspensi ekstrak metanol kayu kuning 20%

Dosis yang dipakai untuk uji toksisitas adalah 2000mg/kgBB dengan konsentrasi 20%, dimana ekstrak kayu kuning diberikan dengan dosis tunggal pada 3 ekor mencit per kelompok perlakuan, sehingga diperlukan pembuatan larutan stok. Larutan stok dibuat dengan cara melarutkan 0,6 gram ekstrak ke dalam 3 ml CMC Na.

### 3.6.5 Perlakuan Ekstrak Metanol Kayu Kuning

Pada hari ke-1 diberi perlakuan pemberian ekstrak kayu kuning secara peroral menggunakan spuit injeksi oral dengan *single dose* yang ditentukan pada setiap kelompok berdasarkan OECD *Acute Oral Toxicity –Acute Toxic Class Method*, kemudian diamati selama 14 hari. Rangkaian penelitian yang akan dilakukan dapat diamati pada Gambar 3.3.

### 3.6.6 Monitoring Berat Badan

Pada hari pertama sebelum perlakuan dilakukan penimbangan berat badan mencit untuk menentukan volume suspensi ekstrak dan CMC Na yang akan diberikan. Selanjutnya pada hari ke-14 dilakukan penimbangan berat badan sebelum proses pembedahan dan data berat badan yang diperoleh digunakan untuk menghitung berat organ relatif.

### 3.6.7 Persiapan Pembedahan Hewan Uji

Sebelum melakukan pengambilan jaringan tubuh perlu dilakukan Persiapan alat dan bahan/cairan seperti peralatan bedah minor (gunting, pinset, scalpel, klem, pemegang jaringan, dan kassa), meja operasi, peralatan anestesi (tabung anestesi, kapas), kloroform serta peralatan pengawetan jaringan seperti wadah untuk fiksasi dan cairan fiksasi (*Buffer Normal Formalin* 10%).

### 3.6.8 Pembedahan Hewan Uji

Pembedahan mencit dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

#### a. Pembedahan

Pembedahan dilakukan pada mencit yang masih hidup sampai pengamatan hari ke-14. Mencit dibius dengan cara dimasukkan ke dalam tabung anestesi dan dibiarkan sampai hewan tidak bergerak lagi.

#### b. Pembedahan dan isolasi jaringan tubuh

Pembedahan dilakukan pada mencit yang telah dibius atau mati selama pengamatan. Selanjutnya dilakukan pengambilan organ ginjal, kemudian organ dibilas dengan akuades dan dimasukkan ke dalam wadah untuk dilakukan fiksasi dengan cairan fisiologis (*Buffer Normal Formalin* 10%). Kemudian wadah berisi organ dan cairan fiksasi disimpan pada tempat yang sejuk dan kering sampai jaringan menjalani proses selanjutnya.

### 3.6.9 Pengamatan dan Teknik Pengambilan Data

Setelah induksi dengan *starting dose* 2.000 mg/KgBB, selama 14 hari diamati jumlah mencit yang mati. Jika mencit masih hidup, maka dilakukan pengamatan tingkah lakunya sebagai gejala toksik yang muncul pada tiap 30 menit selama 4 jam dan pengamatan diteruskan sampai 24 jam. Selanjutnya, jika mencit tidak ada yang mati atau hanya mati 1 ekor, maka pengamatan tetap dilanjutkan tanpa peningkatan dosis. Jika mencit tidak ada yang mati atau hanya mati satu ekor, maka dilakukan peningkatan dosis menjadi 5.000 mg/kg BB. Setelah 24 jam



pertama, mencit yang masih hidup diambil darahnya melalui vena konjungtiva. Skema lengkap OECD 423 dapat dilihat pada Gambar 3.4. Kemudian dilakukan pengamatan:

a. Pengamatan berat organ ginjal

Pengukuran berat organ ginjal dilakukan sebelum organ difiksasi dalam BNF 10%, di mana tiap organ ditimbang untuk mengetahui pengaruh pemberian bahan uji terhadap berat organ hewan uji.

b. Gambaran mikroskopis

Dibuat preparat histopatologi ginjal dengan potongan koronal kemudian dilakukan pewarnaan Hematoksilin-Eosin untuk dilakukan pengamatan perubahan histopatologi dan jumlah kerusakan tubulus ginjal oleh ahli patologi anatomi.

c. Pengukuran kadar kreatinin serum

Pada hari pertama setelah perlakuan, dilakukan pengambilan serum darah sampel melalui vena konjungtiva untuk diukur kadar kreatinin serumnya menggunakan alat *Photometer Biolyzer* dengan metode *Jaffe Kinetics Reactions*, di mana prinsip metode ini adalah kreatinin dalam suasana alkalis yang direaksikan dengan asam pikrat akan membentuk kompleks kreatinin pikrat berwarna kuning jingga. Metode ini dilakukan dengan cara *fixed time kinetics* tanpa deproteinasi serum, yaitu pengukuran kreatinin dalam suasana alkalis dan konsentrasi ditentukan dengan ketepatan waktu pembacaan.

Sejumlah 50  $\mu\text{L}$  serum uji serum uji direaksikan dengan 1000  $\mu\text{L}$  pereaksi uji dalam tabung reaksi 5 mL, dihomogenkan dengan cara diresuspensi. Diamkan selama 20 detik, kemudian ukur sampel uji pada panjang gelombang 492 nm. Hal yang sama dilakukan terhadap blangko (pereaksi + akuades) dan standar (pereaksi + standar kreatinin) (Biocon, 2013).

### 3.6.10 Teknik Analisis Data

Organ mencit yang telah ditimbang, kemudian dihitung berat relatifnya dengan rumus:



$$\text{Berat organ relatif} = \frac{\text{berat organ}}{\text{berat badan}} \times 100\%$$

Kemudian data berat organ relatif mencit tersebut dianalisis dengan menggunakan uji *Saphiro-Wilk* untuk melihat normalitas data dan metode *Levene* untuk melihat homogenitas data. Jika data tidak normal dan homogen, maka dilakukan transformasi data. Jika data yang telah ditransformasi tetap tidak normal dan homogen, maka dilakukan analisis non-parametrik *Kruskal-Wallis*.

Data serum kreatinin mencit dianalisis menggunakan metode *Saphiro-Wilk* untuk melihat normalitas data dan metode *Levene* untuk melihat homogenitas data (Besral, 2010). Jika data terdistribusi normal dan homogen, maka dilakukan analisis *One Way Anova* untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak metanol batang kayu kuning dengan dosis yang berbeda terhadap kadar kreatinin darah mencit.

Sedangkan data histopatologi yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis menggunakan skoring perubahan histopatologis pada ginjal yang ditentukan menurut metode Venient. Metode skoring histopatologi ginjal ditunjukkan pada tabel 3.6.

Kemudian data skor tingkat kerusakan organ ginjal dianalisis dengan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis*. Data profil histologi ditentukan dengan pengamatan dilakukan pada 5 lapang pandang sejumlah  $\pm 100$  sel di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x dan diamati atrofi tubulus, dilatasi tubulus, inflamasi intersitital, fibrosis dan nekrosis. Proses pengamatan Gambaran histopatologi dan penentuan skornya dilakukan oleh analis dari Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Tabel 3.1 Skoring kerusakan ginjal

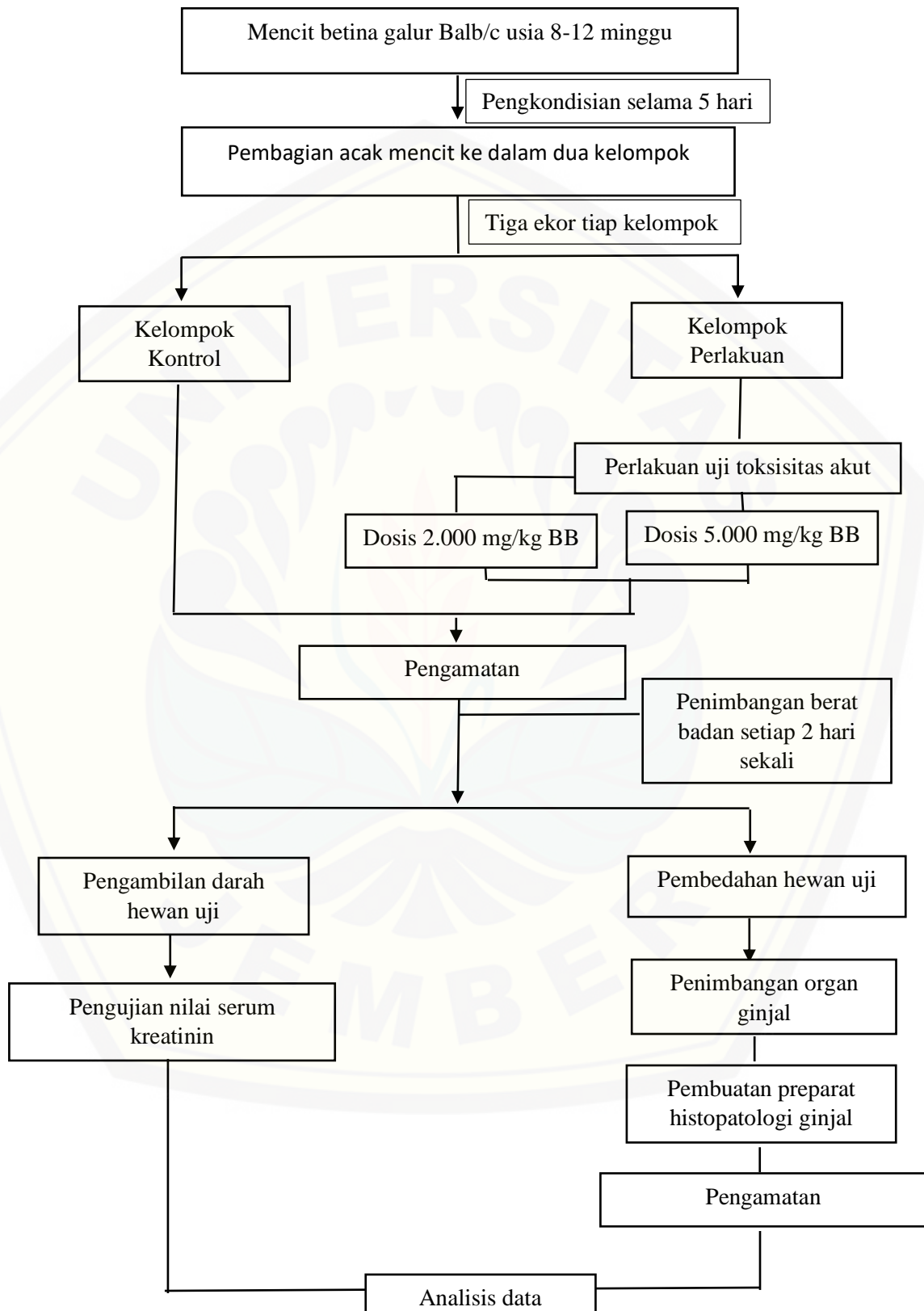
Skor	Keterangan Lesi
1	lesi kurang dari 25% total lapangan pandang
2	lesi 25 - kurang dari 50% total lapangan pandang
3	lesi 50 – kurang dari 75% total lapangan pandang
4	lesi lebih dari sama dengan 75% total lapangan pandang

### 3.7 Skema Alur Penelitian

Skema alur penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3.2 dan Gambar 3.3 berikut:



Gambar 3.2 Skema alur ekstraksi batang kayu kuning



Gambar 3.3 Skema perlakuan hewan uji

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan uraian pada pembahasan, dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Pemberian dosis tunggal ekstrak metanol batang kayu kuning secara akut dengan dosis 2.000 mg/kg BB dan dosis 5.000 mg/kg BB tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap berat organ relatif mencit.
2. Pemberian dosis tunggal ekstrak metanol batang kayu kuning secara akut dengan dosis 2.000 mg/kg BB dan dosis 5.000 mg/kg BB tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar serum kreatinin mencit.
3. Hasil skoring histopatologi ginjal dengan metode Venient menunjukkan skor 2, yang artinya terdapat kerusakan sebesar 25-<50% pada sel ginjal. Kerusakan yang terjadi adalah nekrosis piknotik, nekrosis karioreksis, nekrosis kariolisis, dilatasi lumen dan atropi lumen. Namun pemberian dosis tunggal ekstrak metanol batang kayu kuning secara akut tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap gambaran histopatologi.

### 5.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah perlu dilakukan penelitian pada uji toksisitas kronis pada ekstrak metanol batang kayu kuning untuk mengetahui efek penggunaan ekstrak metanol batang kayu kuning dalam jangka panjang. Selain itu juga perlu dilakukan pengukuran parameter kerusakan ginjal yang lain seperti kadar ureum, asam urat dan klirens kreatinin.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Adiatma, Muhammad Arief dan Ratna Indrawati. 2016. *Pengaruh Hipoksia Iskemik Prenatal terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Rattus Norvegicus Galur Sprague-dawley*. Yogyakarta: Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Adinata, M. O., Sudira, I. W. dan Berata, I. K. 2012. Efek Ekstrak Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Jantan. *Buletin Veteriner Udayana*, 4(2).
- Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. Bandung: ITB Press.
- Alatas, H., Tambunan, T., Trihono, P. dan Pardede, S. 2002. *Buku Ajar Nefrologi Anak*. 2 ed. Jakarta: IDI.
- Alvarez, J.A., Emory, E. dan Julie, A. 2006. Executive function and the frontal lobes: A meta-analytic review. *Neuropsychology Review*.16 (1) pp 17-42
- Astarina, N., Astuti, K. dan Warditiani, N. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum Roxb.*). *Jurnal Farmasi Udayana*, 2(4).
- Backer, A. dan Brink. 1963. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*. vol 1 ed. Netherlands: N.V.P. The Netherlands, Noordhoff-Groningen.
- Biocon. 2013. *Fluitest Creatinine*. Lichtenfels: Analyticon® Biotechnologies AG.
- Boggan, B. 2003. *Alcohol Chemistry, and You. Effects of Ethyl Alcohol on Organ Function*. <http://chemcases.com/alcohol/index.html> [26 Juni 2017]
- BPOM. 2014. *Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo*. Jakarta, BPOM RI.
- Carpenter, J. 2001. *Exotic Animal Formulary*. Edisi 2. Philadelphia: Sanders Company.
- Chandrasoma, P. dan Taylor, C.R. 1995. *Cell Degenartion & Necrosis in Concise Pathology*. Edisi 3. New York: McGraw-Hill



- Cheville NF. 1999. *Introduction to Veterinary Pathology*. Ed ke-2. Iowa: Iowa State University Press.
- Christensen, E. dan Bim, H. 2002. *Megalin and Cubilin: Multifunctional endocytic receptors*. [www.nature.com/nm/journal/v3/n4/box/nm778\\_BX2.html](http://www.nature.com/nm/journal/v3/n4/box/nm778_BX2.html) [12 April 2017].
- Corwin, E. J. 2000. *Buku Saku Patofisiologi*. Jakarta: EGC.
- Dellman, H. dan Brown. 1992. *Buku Teks Histologi Veteriner*. Edisi 3. Jakarta: UI Press.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Edisi 1. Jakarta: Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Departemen Kesehatan RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. 1 ed. Jakarta: Departemen Kesehatan Indonesia.
- Ditjen POM. 1986. *Materia Medika Indonesia*. Edisi 2. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Donatus, I. 2005. *Toksikologi Dasar*. Edisi 2. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Drake, Richard L., Wayne Vogt, dan Adam W.M. Mitchell. 2010. *Gray's Anatomy for Students 2<sup>nd</sup> edition*. Philadelphia: Elsevier
- Fessenden, R. dan Fessenden, J. 1997. *Dasar-dasar Kimia Organik*. Jakarta: Binarupa Aksara.
- Flores, J., DiBona, D. R., Beck, C. H., dan Leaf, A. 1972. The role of cell swelling in ischemic renal damage and the protective effect of hypertonic solute. *Journal of Clinical Investigation*. 51(1). 118.
- Foundation Flora Malesiana. 1984. *Flora Malesiana Series I- Spermatophyta*. Edisi 10. The Netherlands: Foundation Flora Malesiana.
- Ganong, W. 2003. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 22. Jakarta: EGC.
- Gartner J. P. & Hiatt J. L. (2007). *Color Text Book of Histology*. 3th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders
- Guyton. 1994. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit*. edisi 7. Jakarta: EGC.



- Guyton, A. dan J.E., Hall. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Handayani, D., Mukhtar, M.H., Riyanti, E. 2009. Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Batang Kalek Salusuah (*Tristania subariculata* King) Terhadap Fungsi Ginjal Mencit Putih Jantan. Universitas Andalas
- Harborne, J. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: ITB.
- Hariana, H. A. 2013. *262 Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hartono. 1992. *Histologi Veteriner*. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan IPB.
- Heryani, H. dan Nugroho, A. 2015. Study of Yellow Root (*Arcangelisia flava* Merr) as A Natural Food Additive with Antimicrobial and Acidity-stabilizing Effects in the Production Process of Palm Sugar. *Procedia Environmental Sciences*. Volume 23, pp. 346-350.
- Himawan, S. 1979. *Kumpulan Kuliah Patologi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Hodgson, E., P. E. Levi. 2001. *A textbook of Modern Toxicology*. Edisi 2. New York: The McGraw-Hill.
- Jubb, K. dan Peter, C. 1993. *Pathology of Domestic Animal*. edisi 4. California: Academic Press.
- Junquiera, L., Jose, C. dan Robert, O. 1998. *Histologi Dasar*. edisi 8. Jakarta: EGC.
- Kardono, L. et al. 2003. *Selected Indonesian Medical Plant Monograph and Description*. Jakarta: PT Gramedia Widiasarana Indonesia.
- Keawpradub, N., Dej-adisai, S. dan Yuenyongsawad, S. 2005. Antioxidant and cytotoxic activities of Thai medicinal plants named Khaminkhruea: *Arcangelisia flava*, *Coscinium blumeinum* and *Fibraurea tinctoria*. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 27(2), pp. 455-467.
- Kebun Raya Banua. 2016. *Khasiat Tanaman Obat Akar Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.)*. <http://kebunrayabanua.kalselprov.go.id/post/72/khasiat-tanaman-obat-akar-kuning-arcangelisia-flava-l-merr>[29 Mei 2017].

- Kemenkes RI. 2014. *Farmakope Indonesia edisi v*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kidney Failure. 2017. High Creatinine Levels -Causes, Symptoms, Diets, Treatment. <http://www.kidneyfailureweb.com/creatinine/251.html> [26 Juli 2017)
- Kolina, J., Hasan, H. dandan Mustapa, M. A. 2015. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Batang Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L) Merr) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina*) dengan Menggunakan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *Universitas Negeri Gorontalo*, pp. 42-48.
- Larisu, M. A., Sudarsono, Irvati, S. dan Nurrochmad, A. 2010. Kajian ilmiah air rebusan katola (*Arcangelisia flava* L. Merr) obat diare berdarah masyarakat kabupaten Muna Sulawesi Tenggara. *Majalah Farmasi Indonesia*, 21(4th).
- Lawrence, A. K. dan Pasce, A. J. 1996. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation*. Edisi 3. Philadelphia: Mosby Year Book Inc.
- Loomis, T. 1978. *Toksikologi Dasar*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Lu, F. C. 1995. *Toksikologi Dasar*. Edisi 2. Jakarta: UI Press.
- Lustgarten, J. 1972. Simple, Rapid, Kinetic Method For Serum Creatinin Measurement. *Clinical Chemistry*, 18(11).
- Mcfarlane, P.S., Reid, R., dan Callander, R. 2000. *Pathology Illustrated*. Edisi 5. London: Churchill Livingstone
- Michael, R.N., Kumar, Abbas, Fausto. 2008. *Robbins & Cotran Buku Saku Dasar Patologis Penyakit*. Edisi 7. Jakarta: EGC
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan UIN Alauddin Makassar*. 7(2), pp. 361-367.
- Nabib, R. 1987. *Patologi Khusus Veteriner*. Edisi 3. Bogor: FKH IPB.
- Nadasdy, T., Zoltan Laszik, Kenneth E. Blick, Debbie L. Johnson dan Fred G. Silva. 1994. Tubular atrophy in the end-stage kidney: a lectin and immunohistochemical study. *Hum Pathol*. 25(1). pp: 22-28

- Naughton, C.A., 2008. Drug Induced Nephrotoxicity. North Dakota: American Family Physician
- OECD. 2001. Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method. *OECD Guidelines for The Testing of Chemicals*, Volume 423, pp. 1-14.
- O'neil, M.J. 2006. *The Merck Index-An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*. Whitehouse Station, NJ: Merck and Co.,Inc.
- Orth, S.R., Ogata, H. dan Ritz, E. 2000. *Smoking and the Kidney*. *Nephrol Dial Transplant*. 15:1509-1511
- Price, S. dan Wilson, L. 2005. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses*. Jakarta: EGC.
- Priyanto. 2009. *Farmakoterapi dan Terminologi Medis*. Depok: Leskonfi.
- Putz, R. dan Pabst, R. 2003. *Atlas Anatomi Manusia Sobotta Jilid 1*. Edisi 21. Jakarta: EGC.
- Putri, Dita M., H. Busman dan N. Nurcahyani. 2013. Gambaran Histologis Tubulus Proksimal Ginjal Mencit (*Mus Musculus L.*) Jantan Yang Terpapar Kebisingan. *Seminar Nasional Sains & Teknologi V Lembaga Penelitian Universitas Lampung*.
- Raman, Manjula. 2016. Hyperoxaluria: The role of N-acetyl-L-cysteine and Vitamin E on lithogenic factors and urinary markers in ameliorating calcium oxalate crystallization. *International Journal of Clinical and Experimental Physiology*. 3(2). pp: 82-91
- Retnakaran, R., Cull, C.A, Thorn K.I, Adler, A.I, Holman, R.R. 2006. Risk Factors for Renal Dysfunction in Type 2 Diabetes. *Diabetes*. 55:1832-1839
- Seidel, V. 2006. Initial and bulk extraction. *Natural Products Isolation*. Totowa: 2nd, pp. 31-50.
- Shimamura, Y., T. Tsushima, N. Moniwa, K. Hasegawa, Y. Ogawa, H. Takizawa.2014. Tubulointerstitial Nephritis And Uveitis Syndrome Complicated By Iga Nephropathy And Graves' Disease: A Case Report. *Journal of Medical Case Reports*. 8:305.
- Singh, Dugal, Kaur, Singh. 2010. Berberin: Alkaloid with Wide Spectrum of Pharmacological Activities. *Journal of Natural Product.*, Vol. 3, pp. 64-75.

- Smith, H., Thomas, C. dan Ronald, D. 1972. *Veterinary Pathology*. Philadelphia: Lea dan Febriger.
- Sukandar, E. 1997. *Nefrologi Klinik*, Edisi kedua. Bandung: Penerbit ITB.
- Suryanto, E. dan F. Wehantouw. 2009. Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas dari Ekstrak Fenolik Daun Sukun (*Artocarpus altilis F.*). *Chem. Prog.*, 2 (1).pp: 1-7.
- Swarjana, I Ketut. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Penerbit ANDI
- Thompson, E. 1985. *Drug Bioscreening*. USA: Graceway Publishing Company, Inc.
- Tiara, A., R.H, A. dan Sudarsono. 2014. The Antidepressant Effects of (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) Water-Soluble Extract in Balb-C Mice Reviewed from Immobility Time by Forced. *Biology, Medicine, dan Natural Product Chemistry*, 3(2), pp. 65-67.
- Ulfa, Evi Umayah dan Rachmawati, Ema. 2017. Antihypercholesterolemic effect of *Arcangelisia flava* Stem Extract in Hyperlipidemic Rats. *UNEJ e-Proceeding*.
- Verdiansah. 2016. Pemeriksaan Fungsi Ginjal. *CDK-237*, 43(2), pp. 148-154.
- Wahyudi, Lilik Duwi, Ratnadewi, Anak Agung Istri, Siswoyo, Tri Agus, 2016. Potential Antioxidant and Antidiabetic Activities of Kayu Kuning (*Arcangelisia flava*). *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, Volume 9, pp. 396-402.
- Wulansari, D., Jamal, Y., Praptiwi dan Agusta, A. 2014. Pachybasin, a Major Metabolite from Culture Broth of Endophytic Coelomyceteous AFKR-18 Fungus isolated from a Yellow Moonsheed Plant, *Arcangelisia flava* (L.) Merr. *HAYATI Journal of Biosciences*, 21(2), pp. 95-100.
- Yuhernita dan Juniarti. 2011. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Metanol Daun Surian Yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Makara Sains*, 15(1).

Yuliandra, Y., N. Armenia, Annisa Nur Salasa dan Friardi Ismed. 2015. Uji Toksisitas Subkronis Ekstrak Etanol Tali Putri (*Cassytha filiformis* L.) terhadap Fungsi Ginjal Tikus. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. 2(1),pp.54-59





**DAFTAR LAMPIRAN**

**Lampiran 4.1. Data bobot konstan**

Cawan 75 ml

Bobot cawan : 45,7339 gram

Bobot awal ekstrak + cawan : 47,2058 gram

Cawan 100 ml

Bobot cawan : 59,3398 gram

Bobot awal ekstrak + cawan : 62,2938 gram

Penimbangan Jam ke-	Cawan 75 ml
1	47,1928
2	47,1806
3	47,1698
4	47,1546
5	47,1458
6	47,1389
7	47,1387
8	47,1385

Berat ekstrak:  $47,1385 \text{ g} - 45,7339 \text{ g} = 1,405 \text{ gram}$

Penimbangan Jam Ke	Cawan 100 ml
1	61,2337
2	61,2094
3	61,1974
4	61,1888
5	61,2168
6	61,1948
7	61,1822
8	61,1750
9	61,1746
10	61,1744

Berat ekstrak:  $61,1744 \text{ g} - 59,3398 \text{ g} = 1,8346 \text{ gram}$



**Lampiran 4.2. Data perhitungan dosis**

Dosis 2000 mg/kg BB (berat badan  $\pm 20$  g)

$$\frac{2000\text{mg}}{1000\text{g}} = \frac{x}{20\text{g}}$$

$$x = 40\text{ mg}$$

40mg  $\rightarrow$  0,2 ml

$$\frac{40\text{mg}}{0,2\text{ml}} = \frac{x}{1\text{ml}}$$

$x = 200\text{ mg}/1\text{ml} \rightarrow 20\%$  , konsentrasi dosis sediaan uji

Pembuatan larutan stok sediaan uji

Dosis 2000 mg/kg BB

$$\frac{200\text{ mg}}{1\text{ml}} = \frac{x}{3\text{ml}}$$

$$x = 0,6\text{ gram ekstrak dalam } 3\text{ ml CMC Na}$$

Pemberian sediaan uji dosis 2000 mg/kg BB

Mencit 1: 27 gram

$$\frac{0.027\text{ kg} \times 2000\text{mg/kg BB}}{200\text{ mg/ml}} = 0.27\text{ ml}$$

Mencit 2: 26 gram

$$\frac{0.026\text{ kg} \times 2000\text{mg/kg BB}}{200\text{ mg/ml}} = 0.26\text{ ml}$$

Mencit 3: 23.5

$$\frac{0.0235\text{ kg} \times 2000\text{mg/kg BB}}{200\text{ mg/ml}} = 0.23\text{ ml}$$

Dosis 5000 mg/kg BB (berat badan ±20 g)

$$\frac{5000\text{mg}}{1000\text{g}} = \frac{x}{20\text{g}}$$

$$x = 100\text{ mg}$$

100mg → 0,2 ml

$$\frac{100\text{mg}}{0,2\text{ml}} = \frac{x}{1\text{ml}}$$

$x = 500\text{ mg}/1\text{ml} \rightarrow 50\%$  , konsentrasi dosis sediaan uji

Pembuatan larutan stok sediaan uji

$$\frac{500\text{ mg}}{1\text{ml}} = \frac{x}{1\text{ml}}$$

$$x = 0,5\text{ gram ekstrak dalam } 1\text{ ml CMC Na}$$

Pemberian sediaan uji dosis 5000 mg/kg BB

Mencit 1: 25 gram

$$\frac{0.025\text{ kg} \times 5000\text{mg/kg BB}}{500\text{ mg/ml}} = 0.25\text{ ml}$$

Mencit 2: 20 gram

$$\frac{0.020\text{ kg} \times 5000\text{mg/kg BB}}{500\text{ mg/ml}} = 0.2\text{ ml}$$

Mencit 3: 21 gram

$$\frac{0.021\text{ kg} \times 5000\text{mg/kg BB}}{500\text{ mg/ml}} = 0.21\text{ ml}$$

Kontrol

Mencit 1: 26,5 gram

$$\frac{0,2\text{ml}}{20\text{ g}} = \frac{x}{26,5\text{ g}}$$

$$x = 0,265\text{ ml}$$

Mencit 2: 24,5 gram

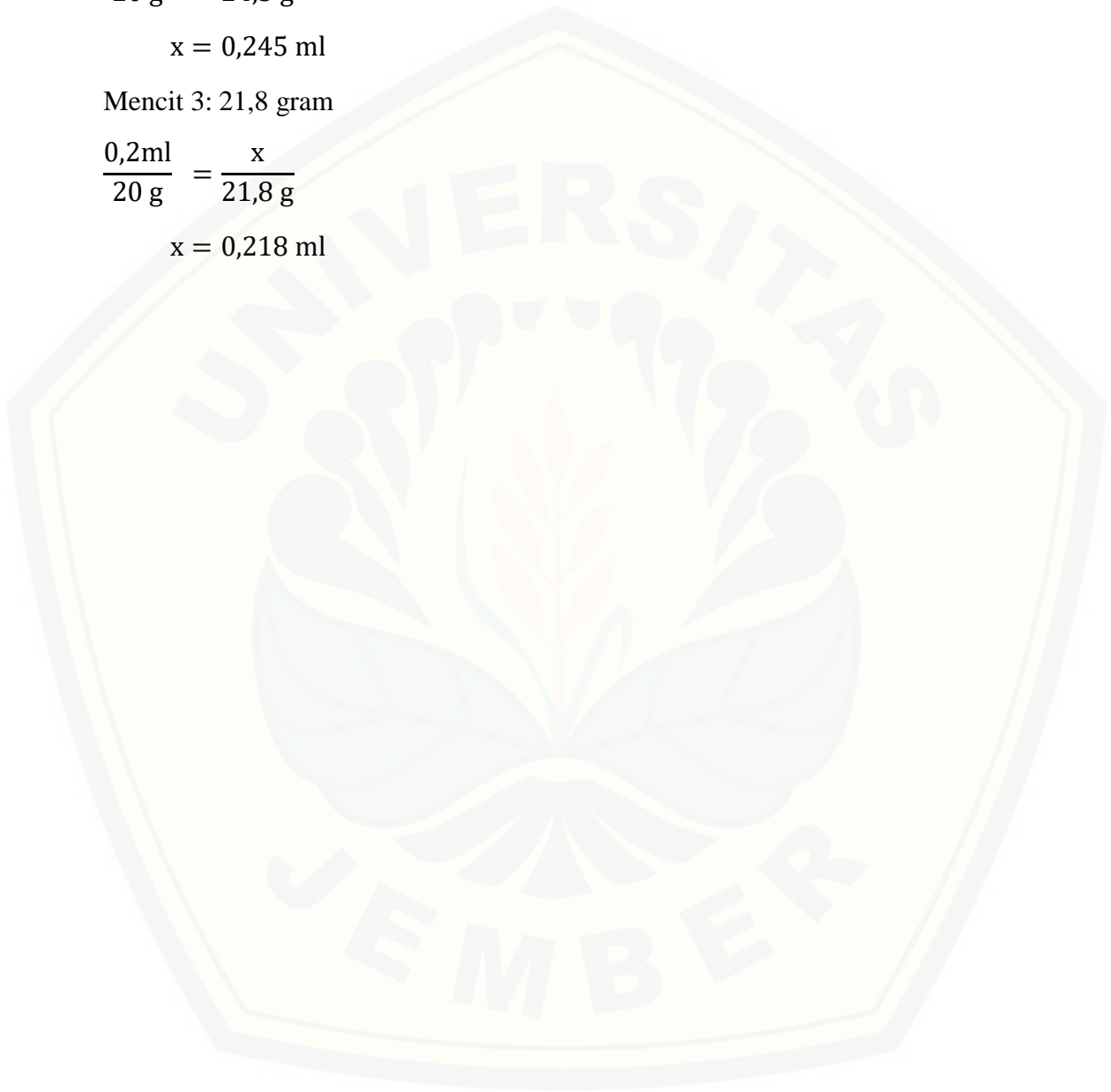
$$\frac{0,2\text{ml}}{20\text{ g}} = \frac{x}{24,5\text{ g}}$$

$$x = 0,245\text{ ml}$$

Mencit 3: 21,8 gram

$$\frac{0,2\text{ml}}{20\text{ g}} = \frac{x}{21,8\text{ g}}$$

$$x = 0,218\text{ ml}$$



Lampiran 4.3. Hasil analisis berat organ ginjal

Kelompok			Berat organ (gram)	Rata-rata berat organ (gram)	Berat badan (gram)	Berat organ relatif (%)	Rata-rata ± SD
<b>Kontrol</b>	1	Kiri	0,1362	0,1402	26,5	0,529	0,564 ± 0,0758 <sup>a</sup>
		Kanan	0,1443				
	2	Kiri	0,1354	0,1306	25,5	0,512	
		Kanan	0,1259				
	3	Kiri	0,1263	0,1304	20	0,651	
		Kanan	0,1345				
<b>Dosis 2000 mg/kg BB</b>	1	Kiri	0,1591	0,1504	27,5	0,546	
		Kanan	0,1417				
	2	Kiri	0,1559	0,1526	24,5	0,626	
		Kanan	0,1494				
	3	Kiri	0,1418	0,1332	26	0,512	
		Kanan	0,1246				
<b>Dosis 5000 mg/kg BB</b>	1	Kiri	0,1137	0,1145	21,5	0,532	
		Kanan	0,1154				
	2	Kiri	0,1454	0,1424	21	0,677	
		Kanan	0,1394				
	3	Kiri	0,1329	0,1410	26,5	0,349	
		Kanan	0,1492				

a menunjukkan hasil analisis tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok ( $p > 0,05$ ) berdasarkan pengujian dengan metode *Kruskal-Wallis*

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
hasil	9	.005686	.0006423	.0051	.0068
perlakuan	9	1.000000	.8660254	.0000	2.0000

**Kruskal-Wallis Test**

**Ranks**

perlakuan		N	Mean Rank
hasil	kontrol	3	4.17
	dosis 2000	3	4.83
	dosis 5000	3	6.00
	Total	9	

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

	hasil
<b>Chi-Square</b>	<b>.701</b>
<b>df</b>	<b>2</b>
<b>Asymp. Sig.</b>	<b>.704</b>

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Perlakuan

Nilai signifikansi >0,05, artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok



**Lampiran 4.4. Hasil analisis kadar serum kreatinin mencit**

Uji normalitas

**Tests of Normality**

Perlakuan		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil	Kontrol	.241	3	.	.974	3	.688
	Dosis 2000 mg/kg BB	.326	3	.	.874	3	.307
	Dosis 5000 mg/kg BB	.243	3	.	.972	3	.681

a. Lilliefors Significance Correction

**Case Processing Summary**

Perlakuan		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Hasil	Kontrol	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Dosis 2000 mg/kg BB	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Dosis 5000 mg/kg BB	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%

Uji homogenitas

**Test of Homogeneity of Variances**

Hasil

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.646	2	6	.150

*One way Anova*

ANOVA					
Hasil					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.046	2	.023	.466	.649
Within Groups	.297	6	.050		
Total	.344	8			

Nilai signifikansi  $>0,05$ , artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok



**Lampiran 4.5. Hasil analisis skoring ginjal**

Hasil perhitungan sel ginjal

		Lp1		Lp2		Lp3		Lp4		Lp5		Total		Persentase Kerusakan	Skor
		N	AN	N	AN	N	AN	N	AN	N	AN	N	AN		
Kontrol	1	14	4	45	7	45	11	38	6	28	13	180	41	22.7%	2
	2	39	12	32	15	48	10	28	12	31	6	178	55	30.8%	2
	3	37	8	36	9	34	10	35	6	24	7	166	40	24.1%	2
Dosis 2000 mg/kg BB	1	31	12	21	5	32	8	34	10	32	9	150	44	29%	2
	2	30	9	29	12	12	7	33	11	35	7	139	46	33%	2
	3	28	9	26	10	26	13	32	9	19	4	131	45	34%	2
Dosis 5000 mg/kg BB	1	37	16	43	15	35	24	39	13	30	13	184	81	44%	2
	2	42	16	25	12	24	10	32	16	25	10	148	64	43.2%	2
	3	37	18	39	15	52	26	30	17	38	10	196	86	43%	2

Keterangan:

N: Sel normal

AN:Sel tidak normal

Lp: Lapang pandang

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Hasil	9	2.0000	.00000	2.00	2.00
Perlakuan	9	1.0000	.86603	.00	2.00

## Kruskal-Wallis Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank
Hasil	Kontrol	3	5.00
	Dosis 2000	3	5.00
	Dosis 5000	3	5.00
	Total	9	

Test Statistics<sup>a,b</sup>

	Hasil
Chi-Square	.000
df	2
Asymp. Sig.	1.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Perlakuan

Nilai signifikansi  $>0,05$ , artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok