Digital Repository Universitas Jember

EFEK EKSTRAK KULIT BATANG MANGROVE (*Sonneratia alba*) TERHADAP PENURUNAN KADAR BUN DAN KREATININ TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI CISPLATIN

SKRIPSI

Oleh

Nurul Haryani Firmaningtyas
NIM 132010101038

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017

Digital Repository Universitas Jember

EFEK EKSTRAK KULIT BATANG MANGROVE (*Sonneratia alba*) TERHADAP PENURUNAN KADAR BUN DAN KREATININ 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

Nurul Haryani Firmaningtyas
NIM 132010101038

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017

Digital Repository Universitas Jember

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibu Eny Ishartutik dan Ayah Haryadi Wahyu Sudibyo yang senantiasa memberikan doa, semangat, dan dukungan.
2. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi.
3. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Digital Repository Universitas Jember

MOTO

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 ayat 6-7)[*)]

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

Digital Repository Universitas Jember

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nurul Haryani Firmaningtyas

NIM : 132010101038

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul "Efek Ekstrak Kulit Batang Mangrove (*Sonneratia alba*) terhadap Penurunan Kadar BUN dan Kreatinin 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 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, 19 Juni 2017

Yang menyatakan,

Nurul Haryani Firmaningtyas

NIM 132010101038

Digital Repository Universitas Jember

SKRIPSI

EFEK EKSTRAK KULIT BATANG MANGROVE (*Sonneratia alba*) TERHADAP PENURUNAN KADAR BUN DAN KREATININ TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI CISPLATIN

Oleh

Nurul Haryani Firmaningtyas
NIM 132010101038

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Yuli Hermansyah, Sp. PD

Digital Repository Universitas Jember

PENGESAHAN

Skripsi berjudul "Efek Ekstrak Kulit Batang Mangrove (*Sonneratia alba*) terhadap Penurunan Kadar BUN dan Kreatinin Tikus Wistar yang Diinduksi Cisplatin" telah diuji dan disahkan pada

Hari, tanggal : Senin, 19 Juni 2017

Tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua,	Anggota I,
dr. Septa Surya Wahyudi, Sp. U	dr. Cicih Komariah, Sp. M
NIP 19780922 200501 1 002	NIP 19740928 200501 2 001
Anggota II,	Anggota III,
dr. Elly Nurus Sakinah, M. Si	dr. Yuli Hermansyah, Sp. PD
NIP 19840916 200801 2 003	NIP 19660711 199601 1 001

Mengesahkan

Dekan,

dr. Enny Suswati, M. Kes

NIP 19700214 199903 2 001

Digital Repository Universitas Jember

RINGKASAN

Efek Ekstrak Kulit Batang Mangrove (*Sonneratia alba*) terhadap Penurunan Kadar BUN dan Kreatinin Tikus Wistar yang Diinduksi Cisplatin; Nurul Haryani Firmaningtyas; 132010101038; 51 halaman; Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Cisplatin merupakan obat kemoterapi yang digunakan secara luas terutama untuk membunuh sel tumor padat. Tantangan utama dalam kemoterapi cisplatin adalah tingginya insidensi disfungsi ginjal. Cisplatin dapat menyebabkan gagal ginjal akut, ditandai dengan penurunan *Glomerular Filtration Rate* (GFR) yang menyebabkan retensi urea dan kreatinin dalam darah. Peningkatan *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kreatinin serum akibat cisplatin diperantarai oleh kerusakan membran filtrasi glomerulus dan sel tubulus proksimal ginjal. Cisplatin berkonjugasi dengan *glutathione* membentuk radikal bebas berupa tiol reaktif yang dapat menyebabkan stres oksidatif sehingga memerlukan antioksidan untuk menanggulanginya.

Salah satu sumber antioksidan terbesar terdapat dalam tanaman mangrove (*Sonneratia alba*). *Sonneratia alba* merupakan jenis mangrove famili *Lythraceae* dengan habitat di hutan yang berhadapan langsung dengan laut terbuka. Mangrove (*Sonneratia alba*) mengandung senyawa polifenol yang terbukti dapat bertindak sebagai antioksidan. Lupeol dan saponin dalam mangrove (*Sonneratia alba*) dapat bertindak sebagai donor elektron dan menghambat peroksidasi lipid sehingga dapat meningkatkan GFR. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui bahwa ekstrak kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) dapat menurunkan kadar BUN dan kreatinin tikus wistar yang diinduksi cisplatin.

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* dengan rancangan *post test only control group design.* Sejumlah 25 ekor tikus wistar jantan dengan berat badan 100-200 gram dan usia 2-3 bulan, dibagi ke dalam lima kelompok, yaitu kelompok normal ($K_{(n)}$), kelompok kontrol negatif ($K_{(-)}$), 3 kelompok perlakuan berupa pemberian ekstrak metanol kulit batang mangrove (*Sonneratia*

Digital Repository Universitas Jember

alba) per oral selama 10 hari dengan dosis 5 mg/kg BB (P1), 10 mg/kg BB (P2), dan 20 mg/kg BB (P3). Perlakuan berupa Induksi cisplatin dosis tunggal 5 mg/kg BB dilakukan secara intraperitoneal pada hari ke-10 pada semua kelompok, kecuali $K_{(n)}$. Hasil menunjukkan bahwa rerata kadar BUN dan kreatinin paling rendah adalah pada $K_{(n)}$ (BUN 70,3 mg/dl; kreatinin 0,56 mg/dl) yang diikuti oleh P3 (BUN 359,2 mg/dl; kreatinin 3,14 mg/dl). Pada P2 didapatkan rerata lebih tinggi daripada P3 (BUN 368,4 mg/dl; kreatinin 3,38 mg/dl). P1 memiliki rerata BUN lebih tinggi daripada $K_{(n)}$, P2, dan P3 (389,86 mg/dl) dengan rerata kreatinin paling tinggi di antara semua kelompok (3,8 mg/dl). Rerata BUN paling tinggi ditunjukkan oleh $K_{(-)}$ (393,62 mg/dl) dengan rerata kreatinin lebih tinggi daripada $K_{(n)}$, P2, dan P3 (3,58 mg/dl). Data dianalisis menggunakan uji *Post Hoc* untuk BUN dan *Mann-Whitney* untuk kreatinin. Hasil menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara $K_{(-)}$ dengan perlakuan ($p>0,05$). Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) dosis 5, 10, dan 20 mg/kg BB belum dapat menurunkan kadar BUN dan kreatinin serum tikus wistar yang diinduksi cisplatin.

Digital Repository Universitas Jember

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 Penurunan Kadar BUN dan Kreatinin 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 selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Yuli Hermansyah, Sp. PD selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
3. dr. Hairrudin, M. Kes selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
4. Ibu Eny Ishartutik dan Ayah Haryadi Wahyu Sudibyo yang telah memberikan doa, dukungan, dan kasih sayang demi terselesaikannya skripsi ini;
5. Teman seperjuangan Novyanti Nur Arini, Monika Roosyidah, Novia Adhitama, BJ Azmi As Ady, Dara Karisma U. W., Dissa Yulianita Suryani, Kunti Mardiyana, dan Annisa Rachmawati yang telah memberikan kontribusi dan dukungan demi terselesaikannya skripsi ini;
6. Teknisi Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi, Mas Agus Murdojohadi dan Teknisi Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran, Mbak Lilik Maslian yang telah memberikan dukungan dan masukan demi terselesaikannya skripsi ini;
7. Keluarga besar Fakultas Kedokteran Universitas Jember angkatan 2013 (Vesalius) yang telah memberikan dukungan dan masukan demi terselesaikannya skripsi ini;
8. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Digital Repository Universitas Jember

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

Jember, 19 Juni 2017

Penulis

Digital Repository Universitas Jember

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN SAMPUL i
HALAMAN JUDUL ii
HALAMAN PERSEMBAHAN iii
HALAMAN MOTO iv
HALAMAN PERNYATAAN v
HALAMAN PEMBIMBINGAN vi
HALAMAN PENGESAHAN vii
RINGKASAN viii
PRAKATA x
DAFTAR ISI xii
DAFTAR TABEL xv
DAFTAR GAMBAR xvi
DAFTAR LAMPIRAN xvii
BAB 1. PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 3
1.3 Tujuan Penelitian 3
1.4 Manfaat Penelitian 3
1.4.1 Manfaat Klinis 3
1.4.2 Manfaat Praktis 3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA 4
2.1 Mangrove (*Sonneratia alba*) 4
2.1.1 Taksonomi Mangrove (*Sonneratia alba*) 4
2.1.2 Morfologi Mangrove (*Sonneratia alba*) 4
2.1.3 *Inhibition Concentration* (IC_{50}) Mangrove (*Sonneratia alba*).. 5
2.1.4 Farmakodinamik Mangrove (*Sonneratia alba*) 5
2.1.5 Identifikasi Antioksidan dalam Mangrove (*Sonneratia alba*).. 8
2.2 Cisplatin 9

Digital Repository Universitas Jember

2.2.1 Farmakodinamik Cisplatin 9
2.2.2 Farmakokinetik Cisplatin 9
2.2.3 GGA (Gagal Ginjal Akut) Akibat Cisplatin 10
2.3 Ginjal 11
2.3.1 Anatomi dan Fisiologi Ginjal 11
2.3.2 Fisiologi BUN dan Kreatinin 13
2.3.3 Peningkatan Kadar BUN dan Kreatinin Akibat Cisplatin 13
2.4 Kerangka Konsep 15
2.5 Hipotesis 15
BAB 3. METODE PENELITIAN 16
3.1 Jenis Penelitian 16
3.2 Rancangan Penelitian 16
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian 17
3.4 Populasi dan Sampel Penelitian 17
3.4.1 Populasi 17
3.4.2 Sampel Penelitian 17
3.4.3 Besar Sampel Penelitian 18
3.5 Variabel Penelitian 18
3.6 Definisi Operasional 18
3.7 Alat dan Bahan Penelitian 19
3.8 Prosedur Penelitian 20
3.8.1 Randomisasi Sampel 20
3.8.2 Pembuatan Ekstrak Metanol Kulit Batang Mangrove (*Sonneratia alba*) 20
3.8.3 Pemberian Ekstrak Metanol Kulit Batang Mangrove (*Sonneratia alba*) 20
3.8.4 Penginduksian Cisplatin 20
3.8.5 Terminasi Hewan Coba 21
3.8.6 Analisis Kadar BUN dan Kreatinin Serum Tikus 21
3.9 Analisis Data 21
3.10 Alur Penelitian 22

Digital Repository Universitas Jember

3.11 Etik Penelitian 22
3.12 Data dan Sumber Data 22
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN 23
4.1 Hasil Penelitian 23
4.1.1 Hasil Ekstraksi Kulit Batang Mangrove (*Sonneratia alba*) 23
4.1.2 Kadar BUN dan Kreatinin Serum Tikus Wistar (*Rattus novergicus*) 23
4.2 Analisis Data 25
4.3 Pembahasan 26
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN 29
5.1 Kesimpulan 29
5.2 Saran 29
DAFTAR PUSTAKA 30
LAMPIRAN 37

Digital Repository Universitas Jember

DAFTAR TABEL

Halaman

2.1 Antioksidan dalam kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*)..... 6
4.1 Rerata kadar BUN..... 23
4.2 Rerata kadar kreatinin..... 24
4.3 Hasil uji *Post Hoc* BUN 25
4.4 Hasil uji *Mann-Whitney* kreatinin..... 26

Digital Repository Universitas Jember

DAFTAR GAMBAR

Halaman

2.1 Mangrove (*Sonneratia alba*) 4
2.2 Struktur kimia saponin 6
2.3 Struktur kimia lupeol 7
2.4 Struktur kimia flavonoid 7
2.5 GGA akibat cisplatin 10
2.6 Struktur anatomi ginjal 11
3.1 Rancangan penelitian 16
3.2 Alur penelitian 22
4.1 Rerata kadar BUN 24
4.2 Rerata kadar Kreatinin 24

Digital Repository Universitas Jember

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

3.1 Persetujuan Etik 37
4.1 Hasil Identifikasi Mangrove (*Sonneratia alba*) 39
4.2 Perhitungan Dosis Mangrove (*Sonneratia alba*) 40
4.3 Hasil Laboratorium BUN dan Kreatinin 42
4.4 Analisis Statistik BUN 43
4.5 Analisis Statistik Kreatinin 45

Digital Repository Universitas Jember

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Cisplatin merupakan obat kemoterapi yang banyak digunakan di dunia untuk membunuh sel tumor padat (Dasari dan Tchounwou, 2014). Pada tahun 1997-2002, sebanyak 76,1% pasien di Rumah Sakit Kanker Dharmais Jakarta mendapatkan kemoterapi dengan kombinasi cisplatin (Oehadian, 2016). Pada tahun 2010, sebanyak 22% pasien kanker di Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Sardjito Yogyakarta mendapatkan kemoterapi dengan cisplatin (Donowati *et al*., 2013). Cisplatin diketahui memiliki efek toksik terutama terhadap sel ginjal. Akumulasi cisplatin dalam tubulus proksimal 5 kali lebih banyak daripada dalam serum yang menyebabkan disfungsi ginjal, ditandai dengan penurunan *Glomerular Filtration Rate* (GFR) (Dasari dan Tchounwou, 2014). Cisplatin menyebabkan penurunan fungsi ginjal derajat ringan-berat pada 42 dari total 53 pasien (Prasetyaningrum *et al.,* 2013). Pemberian cisplatin selama 10 kali kemoterapi menyebabkan penurunan fungsi ginjal sebesar 15% pada 306 pasien (Noviyani *et al.*, 2014). Penelitian pada hewan coba menunjukkan bahwa cisplatin dosis tunggal 5 mg/kg BB menyebabkan peningkatan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kreatinin serum tikus sebanyak 5 kali (Rita *et al.*, 2013). BUN dan kreatinin digunakan sebagai indikator dalam tes fungsi ginjal karena diregulasi langsung oleh filtrasi glomerulus (Yao *et al.*, 2007; Miller *et al.*, 2010).

Proses kerusakan sel ginjal akibat cisplatin terjadi akibat konjugasi cisplatin dengan *glutathione* membentuk tiol reaktif yang merupakan radikal bebas. Tiol reaktif menyebabkan penurunan produksi *Vascular Endhotelial Growth Factor* (VEGF) sehingga fenestrasi sel endotel glomerulus terganggu (Perazella dan Moeckel, 2010). Tiol reaktif juga menyebabkan penurunan aliran darah plasma ginjal sehingga terjadi retensi urea dan kreatinin dalam darah (Schrier, 2008). Tiol reaktif juga memicu kematian sel tubulus proksimal akibat stres oksidatif sehingga memerlukan antioksidan untuk menanggulanginya (Pabla dan Dong, 2008). Pemberian suplemen vitamin C dan E pada pasien kemoterapi cisplatin dapat mempertahankan kadar antioksidan *glutathione* dan mencegah

Digital Repository Universitas Jember

oksidasinya (Suhail, *et al*., 2010). Pada hewan coba, pemberian teh hijau (*Camellia sinensis*), ekstrak metanol daun kesum (*Polygonum minus* Huds.), dan saponin dari *Panax notoginseng* diketahui dapat menurunkan kadar BUN dan kreatinin serum tikus yang diinduksi cisplatin (Khan *et al.*, 2009; Rita *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2014).

Salah satu sumber antioksidan terbesar terdapat pada tanaman mangrove, yaitu jenis pohon penyusun hutan bakau dengan habitat di hutan yang berhadapan langsung dengan laut terbuka. Penelitian terdahulu dengan metode ekstraksi maserasi menunjukkan bahwa ekstrak daun mangrove api-api putih (*Avicennia marina* L.) dapat menurunkan kadar BUN dan kreatinin, serta memperbaiki degradasi dan dekstruksi tubulus proksimal pada gambaran histopatologi ginjal tikus yang diinduksi *Carbon tetrachloride* (CCl_4). Ekstrak buah mangrove pedada (*Sonneratia caseolaris*) dapat menurunkan kadar *Serum Glutamate Oxaloacetate Transferase* (SGOT) dan *Serum Glutamate Pyruvate Transferase* (SGPT) tikus yang diinduksi parasetamol. Ekstrak metanol kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) dapat menurunkan kadar glukosa mencit yang diinduksi aloksan dan menghambat pertumbuhan bakteri terutama *Proteus vulgaris* (Morada *et al.*, 2011; Powar dan Gaikwad, 2013). Tanaman mangrove mengandung senyawa polifenol berupa tanin, saponin, alkaloid, triterpenoid (lupeol), flavonoid, *oleanolic acid*, *β-sitosterol-β-D-glukopyranosid*, dan *luteolin* yang dapat menghambat peroksidasi lipid sehingga dapat mengurangi kerusakan jaringan dan memperbaiki fungsi ginjal (Gawali dan Jadhav, 2011; Lestari dan Susanti, 2015; Mirazi *et al.*, 2016). Ekstrak metanol kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) memiliki kandungan senyawa fenolik sebesar 10,58 µg/g dengan aktivitas antioksidan hingga 80,8% (Suh *et al.*, 2014).

Belum ada penelitian tentang kemampuan antioksidan mangrove (*Sonneratia alba*) dalam melawan efek toksik dari cisplatin. Oleh karena itu, penulis ingin meneliti kemampuan antioksidan mangrove (*Sonneratia alba*) dalam perbaikan fungsi ginjal akibat kerusakan yang ditimbulkan oleh cisplatin.

Digital Repository Universitas Jember

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah:

a. Apakah ekstrak kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) dapat menurunkan kadar BUN tikus wistar yang diinduksi cisplatin.
b. Apakah ekstrak kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) dapat menurunkan kadar kreatinin serum tikus wistar yang diinduksi cisplatin.

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bahwa:

a. Ekstrak kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) dapat menurunkan kadar BUN tikus wistar yang diinduksi cisplatin.
b. Ekstrak kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) dapat menurunkan kadar kreatinin serum tikus wistar yang diinduksi cisplatin.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Klinis

Memberikan informasi ilmiah dalam pengembangan teori di bidang kesehatan tentang kemampuan aktivitas antioksidan ekstrak metanol kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) dalam melawan efek toksik yang ditimbulkan oleh obat kemoterapi cisplatin.

1.4.2 Manfaat Praktis

a. Dengan mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak metanol kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*), maka dapat dijadikan pertimbangan sebagai sumber antioksidan alami.
b. Memaksimalkan pemanfaatan sumberdaya alam dalam ilmu kedokteran.

Digital Repository Universitas Jember

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mangrove (*Sonneratia alba*)

2.1.1 Taksonomi Mangrove (*Sonneratia alba*)

Berikut ini adalah klasifikasi ilmiah tanaman mangrove (*Sonneratia alba*) (Kathiresan *et al.*, 2010).

Kingdom	: Plantae
Filum	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Myrtales
Famili	: Lythraceae
Genus	: Sonneratiaceae
Spesies	: *Sonneratia alba*
Species authority	: Sm.

2.1.2 Morfologi Mangrove (*Sonneratia alba*)

Tanaman mangrove (*Sonneratia alba*) memiliki kulit batang yang berwarna putih tua hingga coklat, sedangkan warna pohonnya selalu hijau. Kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) memiliki celah longitudinal yang halus (lihat Gambar 2.1). Mangrove (*Sonneratia alba*) tumbuh tersebar dan dapat mencapai ketinggian hingga 15 meter (Safnowandi, 2015).

(a) Pohon Mangrove

(b) Kulit Batang Mangrove

Gambar 2.1 Mangrove (*Sonneratia alba*) (Pierre, 2014)

Digital Repository Universitas Jember

Tanaman mangrove (*Sonneratia alba*) memiliki buah yang berbentuk seperti bola dengan diameter 3,5-4,5 cm. Buah mangrove (*Sonneratia alba*) memiliki ujung yang bertangkai, sedangkan bagian dasarnya terbungkus oleh kelopak bunga. Buah mengandung banyak biji (150-200 biji) yang tidak akan membuka ketika matang. Kelopak bunga berjumlah 6-8 buah, berwarna hijau di bagian luar, sedangkan bagian dalamnya berwana kemerahan. Daun mahkota mangrove (*Sonneratia alba*) berwarna putih dan mudah rontok (Safnowandi, 2015).

2.1.3 *Inhibition Concentration* (IC_{50}) Mangrove (*Sonneratia alba*)

Kualitas antioksidan dalam ekstrak ditentukan oleh nilai *Inhibition Concentration* (IC_{50}), yaitu konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menangkap 50% dari radikal bebas 1,1-*diphenyl*-2-*picrylhydrazyl* (DPPH). DPPH distabilkan oleh delokalisasi elektron bebas secara menyeluruh dan larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol (Mishra *et al.*, 2010). Semakin rendah nilai IC_{50}, maka semakin baik aktivitas antioksidannya (Gawron-gzella *et al*., 2012). Ekstrak metanol kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) menunjukkan nilai IC_{50} yang rendah, yaitu sebesar 9,8 µg/ml. Nilai tersebut lebih rendah daripada ekstrak etil asetat (IC_{50}=10,23 µg/ml), kloroform (IC_{50}=27,34 µg/ml), n-heksan (IC_{50}=147 µg/ml), vitamin E (IC_{50}=22,5 µg/ml). Ekstrak metanol kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) menunjukkan aktivitas penangkapan radikal bebas yang bergantung pada konsentrasi dan meningkat tajam pada konsentrasi 5-20 µg/ml (Herawati *et al.*, 2011).

2.1.4 Farmakodinamik Mangrove (*Sonneratia alba*)

Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa ekstrak mangrove (*Sonneratia alba*) memiliki kemampuan sebagai agen kemopreventif, yaitu dengan menginduksi enzim detoksifikasi fase II *quinone reductase*. *Quinone reductase* dapat mendeaktivasi radikal dan elektrofil dengan mereduksi *quinone* menjadi *hydroquinone* yang merupakan senyawa fenol (Cuendet *et al*., 2006). Kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) mengandung senyawa antioksidan berupa tanin,

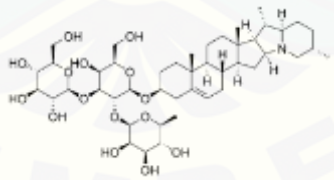
Digital Repository Universitas Jember

saponin, alkaloid, triterpenoid (lupeol) dan flavonoid, yang merupakan senyawa polifenol sehingga dapat bertindak sebagai donor elektron. Kandungan antioksidan dalam kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Antioksidan dalam kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*)

Metabolit sekunder	**Jumlah senyawa**
Tanin	1
Saponin	**3**
Alkaloid	2
Triterpenoid (Lupeol)	**3**
Flavonoid	**3**

Saponin merupakan senyawa polifenol dalam bentuk glikosida yang memiliki struktur aglikon (lihat Gambar 2.2). Kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) mengandung saponin sebanyak 20% (Gawali dan Jadhav, 2011). Saponin memiliki potensi sebagai imunomodulator dengan menstimulasi produksi sitokin, seperti interleukin dan interferon. Sitokin merupakan protein yang dikeluarkan oleh sel sebagai respon terhadap antigen (Yildirim dan Kutlu, 2015). Komponen polifenol (saponin) dapat bertindak sebagai donor elektron sehingga dapat menstabilkan radikal bebas (tiol reaktif).



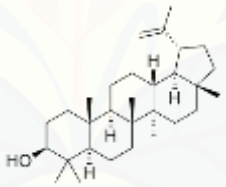
Gambar 2.2 Struktur kimia saponin (Yildirim dan Kutlu, 2015)

Mekanisme kerja saponin adalah dengan menghambat peroksidasi lipid yang dihasilkan oleh radikal bebas. Peroksidasi lipid merupakan proses kompleks akibat reaksi asam lemak tak jenuh ganda (penyusun fosfolipid membran sel) dengan senyawa oksigen reaktif membentuk hidrogen peroksida. Penelitian terdahulu oleh Liu *et al* (2014) tentang perbaikan fungsi ginjal oleh *Panax notoginseng* dengan metode isolasi saponin menunjukkan bahwa saponin dapat

Digital Repository Universitas Jember

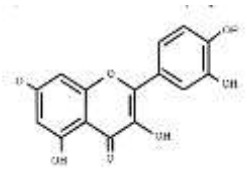
menurunkan kadar BUN, kreatinin serum, dan protein urin, serta memperbaiki kerusakan tubulus pada gambaran histopatologi ginjal tikus yang diinduksi cisplatin. Mekanisme kerja dari saponin *Panax notoginseng* adalah dengan menghambat jalur apoptosis mitokondria.

Lupeol merupakan senyawa polifenol golongan triterpenoid (lihat Gambar 2.3). Kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) mengandung triterpenoid (lupeol) sebanyak 20% (Gawali dan Jadhav, 2011). Penelitian terdahulu oleh Rezaei-Golmisheh *et al* (2015) tentang efek hepatoprotektif dan antihiperkolesterolemia ekstrak etanol *Hawthron* dengan metode isolasi senyawa lupeol dan quercetin menunjukkan bahwa lupeol dapat meningkatkan konsentrasi dan aktivitas enzim antioksidan seluler *Superoxide Dismutase* (SOD), *glutathione,* dan *catalase* pada tikus yang diinduksi orlistat. Enzim tersebut berfungsi untuk mendetoksifikasi radikal bebas hidrogen peroksida, hidroksil, dan superoksida. Mekanisme kerja lupeol sama dengan saponin, yaitu dengan mencegah oksidasi dari *glutathione* dan menghambat peroksidasi lipid.



Gambar 2.3 Struktur kimia lupeol (Harizon *et al.*, 2014)

Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa polifenol dan sering terdapat dalam bentuk glikosida (lihat Gambar 2.4). Kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) mengandung flavonoid sebanyak 20% (Gawali dan Jadhav, 2011).



Gambar 2.4 Struktur kimia flavonoid (Rita *et al.*, 2013)

Digital Repository Universitas Jember

Penelitian terdahulu oleh Rita *et al* (2013) tentang perbaikan fungsi ginjal dengan metode ekstraksi maserasi menunjukkan bahwa fraksinasi ekstrak metanol daun kesum (*Polygonum minus* Huds.) dapat menurunkan kadar BUN dan kreatinin tikus yang diinduksi cisplatin. Mekanisme kerja flavonoid adalah dengan meningkatkan GFR (Rita *et al.,* 2013). Flavonoid juga dapat menghambat peroksidasi lipid (Rezaei-Golmisheh *et al.*, 2015).

2.1.5 Identifikasi Antioksidan dalam Mangrove (*Sonneratia alba*)

Uji Fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada mangrove (*Sonneratia alba*). Analisis total polifenol dilakukan dengan metode Folin-Cioceltau. Identifikasi saponin dilakukan dengan metode Forth, yaitu dengan melarutkan ekstrak pekat kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) ke dalam 10 ml air panas. Larutan dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang dapat bertahan tidak kurang dari 10 menit. Busa yang terbentuk juga tidak hilang dengan penambahan HCl 2M. Timbulnya busa menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis (Setyowati *et al*, 2014).

Identifikasi terpenoid (lupeol) dilakukan dengan metode Lieberman-Burchard, yaitu dengan melarutkan ekstrak pekat kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) ke dalam 0,5 ml kloroform. Larutan ditambahkan dengan 0,5 ml anhidrida asetat dan ditetesi dengan 2 ml H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya cincin coklat pada batas larutan saat ditambah H_2SO_4. Warna hijau juga terlihat saat larutan diteteskan pada plat tetes. Perubahan warna terjadi karena proses oksidasi senyawa terpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi (Setyowati *et al*, 2014).

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan metode Wilstater, yaitu melarutkan ekstrak pekat dalam metanol panas yang ditambahkan 0,1 mg serbuk Mg dan 5 tetes Hcl pekat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna jingga. Magnesium dan asam klorida pada uji Wilstater bereaksi membentuk gelembung, yang merupakan gas H_2, sedangkan logam Mg dan Hcl pekat

Digital Repository Universitas Jember

berfungsi mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk perubahan warna menjadi merah atau jingga (Setyowati *et al*, 2014).

2.2 Cisplatin

2.2.1 Farmakodinamik Cisplatin

Obat sitotoksik termasuk cisplatin umumnya memiliki indeks terapi yang sempit dengan toksisitas tinggi. Aktivitas cisplatin di dalam sel ditentukan oleh reaksi hidrolisis yang terjadi akibat rendahnya konsentrasi ion klorida intraseluler (di dalam sel 4 mM, sedangkan dalam plasma 103 mM) (Basu dan Khrisnamurthy, 2010). Di dalam sel, ligan ion klorida dari cisplatin diputus dan digantikan dengan senyawa air atau hidroksil membentuk kompleks monohidrat. Cisplatin kemudian menjadi reaktif dan terikat pada 2 sisi DNA. Cisplatin dapat menempel pada semua DNA, tetapi cenderung pada posisi N7 adenin dan guanin karena lebih nukleofilik. Ikatan ini akan menghambat replikasi dan perbaikan DNA sehingga dapat menyebabkan kerusakan DNA pada sel kanker (Aminullah, 2011).

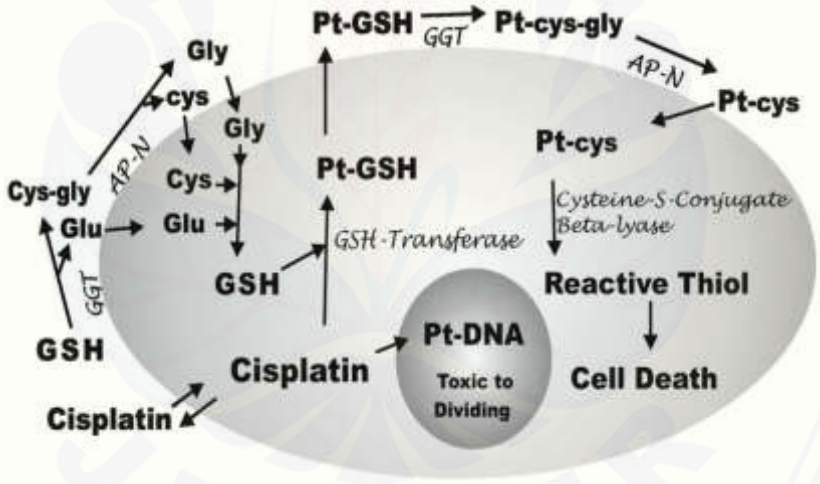
2.2.2 Farmakokinetik Cisplatin

Cisplatin didistribusikan ke dalam jaringan secara intravena dengan konsentrasi tertinggi terdapat pada ginjal, hati, ovarium, uterus, dan paru. Cisplatin memiliki waktu paruh awal dalam plasma ($t_{1/2}$) sekitar 20-30 menit. Variasi $t_{1/2}$ terminal berkisar antara 6-47 hari, tergantung ikatan cisplatin dengan protein plasma. Di dalam darah, cisplatin berikatan dengan protein albumin dan memiliki ikatan protein lebih dari 90% dalam rentang waktu 2-4 jam. Cisplatin dimetabolisme secara nonenzimatik dan dieksresikan melalui filtrasi glomerulus. Cisplatin diekskresikan secara bertahap melalui urin selama 5 hari, bahkan platina masih dapat dideteksi dalam waktu 30 hari pasca pemberian cisplatin. Cisplatin yang tidak terikat protein dieksresikan secara cepat melalui tubulus ginjal (Fernando, 2009).

Digital Repository Universitas Jember

2.2.3 GGA (Gagal Ginjal Akut) akibat Cisplatin

Penyerapan cisplatin dari kapiler peritubulus ke dalam sel tubulus proksimal ginjal diperantarai oleh *Copper transporter* (Ctr1) dan *Organic Cation Transporter* (OCT2) yang terletak pada membran basolateral tubulus proksimal ginjal (Pabla dan Dong, 2010). Di dalam sel tubulus proksimal, cisplatin menjadi sangat reaktif dan dapat berinteraksi dengan molekul yang mengandung tiol termasuk *glutathione*. Bentuk konjugasi cisplatin dengan *glutathione* kemudian dimetabolisme oleh enzim *γ-glutamyl transpeptidase* dan *cysteine-S-conjugate β-lyase* menjadi tiol reaktif (lihat Gambar 2.5). Tiol reaktif merupakan bentuk khas oksidan dari cisplatin dan molekul nefrotoksik yang poten. Enzim *γ-glutamyl transpeptidase* banyak terdapat pada permukaan sel, sedangkan enzim *cysteine-S-conjugate β-lyase* merupakan enzim intraseluler (Yao *et al*., 2007).



Gambar 2.5 GGA akibat cisplatin

Penurunan *glutathione* dan antioksidan lain akibat cisplatin menyebabkan perubahan pada status redoks seluler dan stres oksidatif di dalam sel (Marullo *et al.*, 2013). Cisplatin menyebabkan penurunan produksi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), yaitu protein yang diproduksi oleh sel podosit (sel yang mengelilingi glomerulus). Penurunan produksi VEGF oleh sel podosit menyebabkan terjadinya gangguan fenestrasi sel endotel glomerulus normal sehingga terjadi kerusakan pada membran filtrasi glomerulus (Perazella dan

Digital Repository Universitas Jember

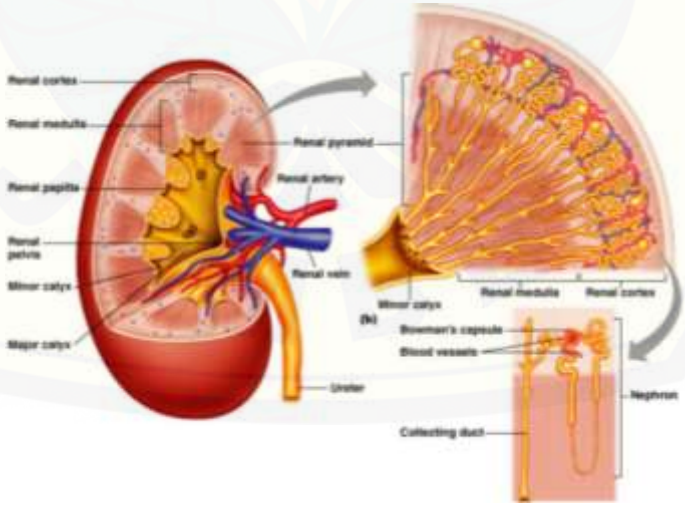
Moeckel, 2010). Cisplatin juga menyebabkan kematian sel tubulus proksimal dan kerusakan jaringan ginjal. Hal ini menyebabkan penurunan reabsorbsi sodium dan air oleh tubulus proksimal sehingga terjadi peningkatan transportasi dan sodium klorida di makula densa tubulus distal (Havasi dan Borkan, 2011). Peningkatan konsentrasi sodium klorida di makula densa memicu aktivasi mekanisme *tubuloglomerular feedback* sehingga terjadi penurunan GFR yang mengindikasikan terjadinya gagal ginjal akut (Hamdi *et al.*, 2010).

2.3 Ginjal

2.3.1 Anatomi dan Fisiologi Ginjal

a. Anatomi Ginjal

Ginjal terletak di dalam rongga retroperitoneal, ventral musculus psoas dan quadratus lumborum (lihat Gambar 2.6). Parenkim ginjal terdiri atas korteks dan medula, yang tersusun atas nefron dan duktus koligentes. Nefron terdiri atas korpuskulum renalis yang terletak di korteks dan sistem tubular (Paulsen dan Waschke, 2012).



Gambar 2.6 Struktur anatomi ginjal (Paulsen dan Waschke, 2012)

Digital Repository Universitas Jember

b. Fisiologi Ginjal

Ginjal berfungsi untuk mempertahankan stabilitas volume, komposisi elektrolit, dan osmolaritas (konsentrasi zat terlarut) cairan ekstraseluler. Tiga proses dasar di ginjal adalah filtrasi glomerulus, reabsorpsi tubulus, dan sekresi tubulus. Pada kondisi normal, 20% plasma yang masuk ke glomerulus tersaring dengan filtrat terbentuk rata-rata 125 ml per menit (180 L per hari). Laju rata-rata penyaringan darah yang terjadi di glomerulus disebut sebagai Laju Filtrasi Glomerulus (*Glomerular Filtration Rate,* GFR) yang merupakan indikator penting dalam menilai fungsi ginjal. Bahan yang bermanfaat bagi tubuh dikembalikan ke plasma kapiler peritubulus. Dari 180 L filtrat, sebanyak 178,5 L direabsorpsi dan 1,5 L sisanya mengalir ke pelvis ginjal. Sekresi tubulus merupakan mekanisme untuk mengeluarkan bahan dari plasma secara cepat dengan mengekstraksi sejumlah tertentu bahan dari 80% plasma yang tidak terfiltrasi di kapiler peritubulus dan memindahkannya ke bahan yang sudah ada di tubulus sebagai hasil filtrasi (Sherwood, 2012).

Cairan yang difiltrasi dari glomerulus ke dalam kapsul bowman harus melewati tiga lapisan yang membentuk dinding glomerulus, yaitu dinding kapiler glomerulus, membran basal, dan lapisan dalam glomerulus. Dinding kapiler glomerulus terdiri atas 1 lapis sel endotel gepeng yang memiliki banyak pori (fenestrasi). Membran basal glomerulus merupakan lapisan gelatinosa aseluler yang terbentuk dari kolagen dan glikoprotein. Kolagen berperan dalam mempertahankan kekuatan struktural glomerulus, sedangkan glikoprotein berperan untuk menghambat filtrasi protein plasma. Glikoprotein memiliki muatan negatif sehingga dapat menolak albumin (protein terkecil yang dapat melewati pori kapiler) dan protein plasma lain yang bermuatan negatif. Lapisan dalam kapsula bowman terdiri atas sel podosit yang memiliki banyak *foot process* memanjang yang saling menjalin dengan *foot process* sel podosit sekitarnya. Celah sempit di antara *foot process* disebut sebagai celah filtrasi, yang membentuk jalur tempat cairan meninggalkan glomerulus menuju ke lumen kapsula bowman (Sherwood, 2012).

Digital Repository Universitas Jember

2.3.2 Fisiologi BUN dan Kreatinin

Urea merupakan produk metabolisme dari protein. Asam amino mengalami proses deaminasi menghasilkan amonia yang kemudian dikonversikan menjadi urea oleh enzim di hati. Konsentrasi urea bergantung dari jumlah protein yang dikonsumsi, kemampuan tubuh untuk mengkatabolisme protein, dan eksresi urea oleh ginjal (Salazar, 2014). Ginjal meregulasi proses ekskresi urea dan air untuk menjaga osmolalitas plasma (Sands *et al*., 2010). Sebanyak 30-50% urea yang difiltrasi oleh glomerulus akan diekskresikan sehingga peningkatan kadar BUN menjadi indikator penting dalam penurunan fungsi ginjal (Weiner *et al*., 2015)

Kreatinin merupakan produk metabolisme dari kreatinin fosfat yang ada di otot. Kreatinin disintesis di hati, pankreas, dan ginjal dari proses transaminasi asam amino *arginine, glycine,* dan *methionine*. Hasil sintesis kreatinin kemudian disirkulasikan ke seluruh tubuh dan sisanya dikonversikan kembali ke dalam bentuk kreatinin fosfat melalui proses fosforilasi di dalam otot. Kreatinin tidak dipengaruhi oleh asupan makanan dan lebih stabil sebagai indikator fungsi ginjal. Kreatinin dapat diukur melalui plasma, serum, maupun urin (Salazar, 2014).

2.3.3 Peningkatan Kadar BUN dan Kreatinin Akibat Cisplatin

Cisplatin menyebabkan kematian sel tubulus proksimal dan kerusakan jaringan ginjal sehingga terjadi penurunan reabsorbsi sodium dan air. Hal ini menyebabkan peningkatan transportasi sodium klorida ke makula densa tubulus distal yang memicu aktivasi mekanisme *tubuloglomerular feedback.* Peningkatan resistensi vaskular pada arteriol aferen menyebabkan penurunan GFR dan aliran darah plasma ginjal sehingga terjadi retensi urea dan kreatinin dalam darah. Hal ini menyebabkan peningkatan kadar BUN dan kreatinin serum (Schrier, 2008; Hamdi *et al.,* 2010). Gangguan reabsorbsi tubulus proksimal dan distal serta peningkatan resistensi vaskuler terjadi 48-72 jam setelah pemberian cisplatin dan terbagi menjadi 2 fase. Fase awal terjadi dalam 24-48 jam pasca pemberian cisplatin, yang ditandai dengan penurunan osmolalitas urin tetapi GFR tetap

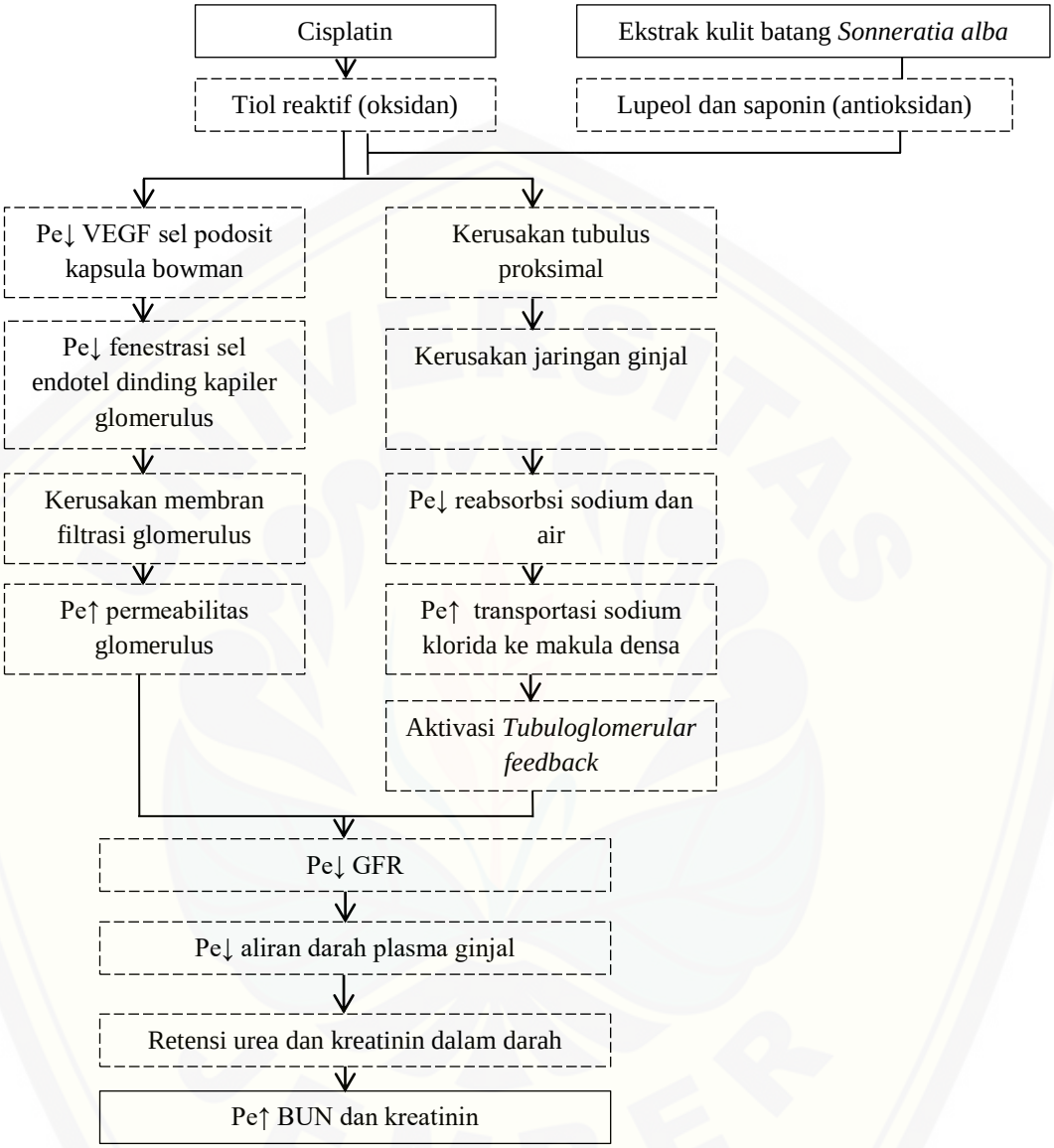
Digital Repository Universitas Jember

stabil. Fase kedua terjadi 72-96 jam setelah pemberian cisplatin dan mengakibatkan penurunan GFR (Yao *et al*., 2007).

Penelitian pada hewan coba menunjukkan bahwa peningkatan kadar BUN dan kreatinin akibat cisplatin bergantung pada dosis dan durasi pemberian. Cisplatin dosis 0,3-1 mg/kg BB menyebabkan peningkatan 0,9-1,5 kali pada hari kedua hingga kelima. Cisplatin dosis 3 mg/kg BB menyebabkan peningkatan 0,9-1 kali pada hari kedua hingga ketiga, dan 3 kali pada hari kelima (Gautier *et al*., 2010). Cisplatin dosis 5 mg/kg BB menyebabkan peningkatan 5 kali pada hari keempat (Rita *et al.*, 2013).

Digital Repository Universitas Jember

2.4 Kerangka Konsep



Keterangan:

: diteliti — : berpengaruh

: tidak diteliti — : dihambat

2.5 Hipotesis

Ekstrak kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) dapat menurunkan kadar BUN dan kreatinin serum tikus wistar yang diinduksi cisplatin.

Digital Repository Universitas Jember

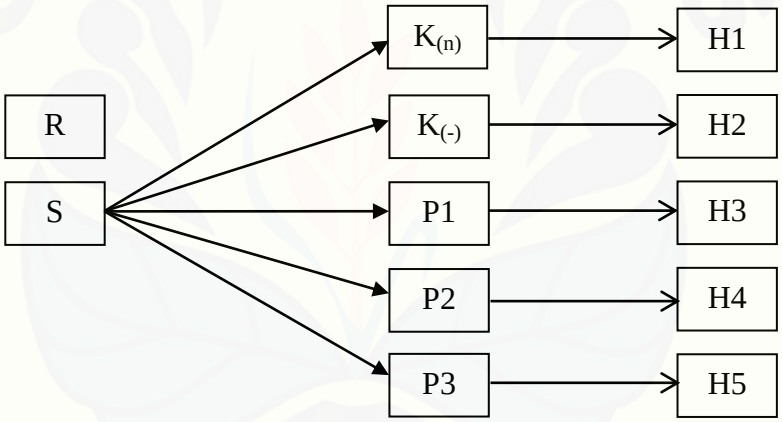
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* 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 dilakukan setelah terminasi hewan coba, dengan membandingkan data kelompok perlakuan dengan kelompok normal. Rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Rancangan penelitian

Keterangan:

R : Randomisasi

S : Sampel

$K_{(n)}$: Kelompok kontrol normal (Pelet + aquades + *Aquades for injection*)

$K_{(-)}$: Kelompok kontrol negatif (Pelet + aquades + Injeksi cisplatin dosis 5 mg/kg BB)

P1 : Kelompok perlakuan 1 (Pelet + aquades + Sonde ekstrak mangrove dosis 5 mg/kg BB + Injeksi cisplatin dosis 5 mg/kg BB)

P2 : Kelompok perlakuan 2 (Pelet + aquades + Sonde ekstrak mangrove

Digital Repository Universitas Jember

dosis 10 mg/kg BB + Injeksi cisplatin dosis 5 mg/kg BB)

P3 : Kelompok perlakuan 3 (Pelet + aquades + Sonde ekstrak mangrove dosis 20 mg/kg BB + Injeksi cisplatin dosis 5 mg/kg BB)

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember (adaptasi hewan coba), Laboratorium Botani Biologi MIPA (ekstraksi kulit batang mangrove *Sonneratia alba*), dan Laboratorium Piramida (analisis BUN dan kreatinin). Penelitian berlangsung pada bulan Mei-Juni 2017.

3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

3.4.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah 25 ekor tikus wistar jantan (*Rattus novergicus*) yang didapatkan dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.4.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan adalah yang memenuhi kriteria inklusi.

a. Kriteria inklusi

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

b. Kriteria eksklusi

Kriteria ekslusi pada penelitian ini adalah tikus yang lemas, tidak mau makan dan minum, dan yang mati selama proses adaptasi dan perlakuan.

Digital Repository Universitas Jember

3.4.3 Besar Sampel Penelitian

Besar sampel penelitian dihitung menggunakan Rumus Federer, yaitu

(t-1) (r-1) ≥ 15 (t=perlakuan, r=jumlah ulangan, t=5) sehingga

(5-1) (r-1) ≥ 15

r-1 ≥ 3,75

r ≥ 4,75

Hasil tersebut dibulatkan ke atas menjadi minimal 5 kali pengulangan. Peneliti menambahkan sebanyak 20% sebagai antisipasi dari kematian tikus, sehingga tikus wistar yang digunakan adalah 30 ekor.

3.5 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

a. Variabel Bebas : dosis pemberian ekstrak mangrove (*Sonneratia alba*).
b. Variabel Terikat : nilai kadar BUN dan kreatinin serum tikus.
c. Variabel Terkendali : lama perlakuan, pemberian makan dan minum, berat badan tikus, pemberian dosis cisplatin.

3.6 Definisi Operasional

a. Kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) pada penelitian ini didapatkan dari Desa Wringinputih, Muncar, Banyuwangi dengan kriteria pohon sehat, berbatang lurus, dan memiliki diameter >20cm. Semakin besar diameter pohon mangrove, maka semakin besar rendemen tanin yang dihasilkan sehingga kandungan antioksidan juga semakin besar (Hamidah, 2006). Zat aktif diekstraksi menggunakan pelarut metanol 80% (Herawati *et al*., 2011).
b. Cisplatin pada penelitian ini didapatkan dari apotek Bima Jember dengan sediaan vial 50mg/50ml generik yang diproduksi oleh Kalbe. Cisplatin diinjeksikan secara intraperitoneal, yaitu dengan mendisinfeksi area injeksi menggunakan alkohol 70%, kemudian tikus ditahan pada posisi *head-down*. Injeksi dilakukan pada kuadran bawah kanan area abdomen dengan sudut

Digital Repository Universitas Jember

kemiringan 30-40^0 untuk menghindari kerusakan pada kandung kemih dan organ lain (Andrews, 2014).

c. BUN (*blood urea nitrogen*) pada penelitian ini didapatkan melalui pemeriksaan laboratorium dengan alat microlab 300 yang diatur pada panjang gelombang 340 nm.
d. Kreatinin serum pada penelitian ini didapatkan melalui pemeriksaan laboratorium dengan alat microlab 300 yang diatur pada panjang gelombang 510 nm.
e. Pengambilan serum pada penelitian ini dilakukan melalui intrakardiak, yaitu dengan menginjeksikan jarum 5 mm antara toraks bagian tengah dan dagu dengan kedalaman 5-10 mm dan sudut kemiringan 25-30^0. Sampel didapatkan dari ventrikel kiri.

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

a. Alat
   - blender
   - corong bucher
   - kertas saring
   - beker glass
   - labu ukur
   - penyaring
   - spatula
   - botol kaca
   - aluminium foil
   - rotary evaporator
   - dysposable syringe
   - lemari pendingin
   - vortex
   - mikropipet
   - microlab 300
   - spuit 1cc dan spuit 3cc
   - kandang, tempat makan, dan tempat minum tikus

b. Bahan
   - kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) 3kg
   - metanol 80%
   - Na CMC 5g
   - aquades 1 L
   - cisplatin sediaan 50mg/50ml
   - pelet
   - reagen pemeriksaan BUN
   - reagen pemeriksaan kreatinin

Digital Repository Universitas Jember

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Randomisasi Sampel

Hewan coba tikus wistar jantan (*Rattus novergicus*) yang memenuhi kriteria inklusi dipilih secara acak, kemudian dibagikan ke dalam 5 kandang yang berbeda secara bergantian. Hewan coba diadaptasikan dalam kandang selama 7 hari, makanan dan minuman diganti setiap hari, kandang dibersihkan 3 hari sekali untuk menghindari timbulnya penyakit.

3.8.2 Pembuatan Ekstrak Metanol Kulit Batang Mangrove (*Sonneratia alba*)

Determinasi kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) dilakukan di Laboratorium Botani Biologi MIPA untuk memastikan sampel yang digunakan, sampel dikeringkan selama 2 minggu, kemudian dipotong kecil-kecil ukuruan 2x1 cm, kemudian dihaluskan dengan blender. Sampel kering yang sudah halus disaring kemudian dilarutkan dengan pelarut metanol 80% dengan perbandingan 1:10, dilakukan maserasi 3x24 jam. Kemudian hasil ekstraksi di evaporasi dengan rotary evaporator suhu 70^0C selama 1 jam. Hasil evaporasi dilencerkan dengan larutan Na CMC 0,5% untuk mendapatkan ekstrak mangrove konsentrasi 5, 10, dan 20 µg/ml.

3.8.3 Pemberian Ekstrak Metanol Kulit Batang Mangrove (*Sonneratia alba*)

Pemberian ekstrak dilakukan melalui sonde selama 10 hari setelah adaptasi, diberikan dengan konsentrasi berbeda sesuai dengan kelompok perlakuan. Na CMC 0,5% digunakan sebagai pelarut untuk mengencerkan ekstrak.

3.8.4 Penginduksian Cisplatin

Tikus kelompok kontrol negatif dan perlakuan diinjeksi cisplatin secara intraperitoneal dengan dosis 5 mg/kg BB pada hari ke 10, dilakukan 1 jam setelah pemberian ekstrak mangrove. Injeksi cisplatin dilakukan pada hari ke-10 karena terminasi dilakukan pada hari ke-14 (peningkatan BUN dan kreatinin memerlukan waktu 72-96 jam pasca induksi cisplatin). Cisplatin diinjeksikan secara

Digital Repository Universitas Jember

intraperitoneal, yaitu dengan mendisinfeksi area injeksi menggunakan alkohol 70%. Kemudian, tahan tikus pada posisi *head-down*. Injeksi dilakukan pada kuadran bawah kanan area abdomen, dengan sudut kemiringan 30-40^0, untuk menghindari kerusakan pada kandung kemih dan organ lain (Andrews, 2014).

3.8.5 Terminasi Hewan Coba

Hewan coba dimasukkan ke dalam tabung yang berisi gas anastesi eter, setelah dipastikan tikus sudah mati, maka posisikan tikus pada posisi ventral, tusuk dengan pin pada 4 ekstremitas, yaitu pada musculus gastrocnemius dan metacarpal untuk mengurangi kerusakan jaringan. Selanjutnya siram dengan alkohol 70% untuk mengurangi kontaminasi pembedahan, insisi mulai dari regio mentalis hingga pecten os pubis, kemudian buka cavitas abdomen, ambil darah secara intracardiac menggunakan spuit 3cc. Jarum diinjeksikan 5mm antara toraks bagian tengah dan dagu, kedalaman 5-10mm, dengan sudut kemiringan 25-30^0. Masukkan sampel darah ke dalam tabung tanpa EDTA (Al Kahfi *et al*., 2012).

3.8.6 Analisis Kadar BUN dan Kreatinin Serum Tikus

Sampel darah tikus yang digunakan untuk uji BUN dan kreatinin adalah serum darah, yaitu bagian darah yang tidak mengandung fibrinogen dan faktor pembekuan darah lainnya. Serum lebih baik daripada plasma karena jumlah proteinnya lebih sedikit. Sampel darah tikus diambil secara intrakardiak, kemudian didiamkan selama 30-45 menit (tidak boleh lebih dari 60 menit) dalam tabung non-EDTA pada suhu ruang. Kemudian, sampel disentrifuge selama 15 menit dengan kecepatan 1000-2000 rpm (Proimmune, 2009). Bagian supernatan digunakan untuk uji BUN dan kreatinin serum menggunakan alat microlab 300. Prosedur analisis kadar BUN dan kreatinin mengikuti instruksi yang terdapat pada alat microlab 300.

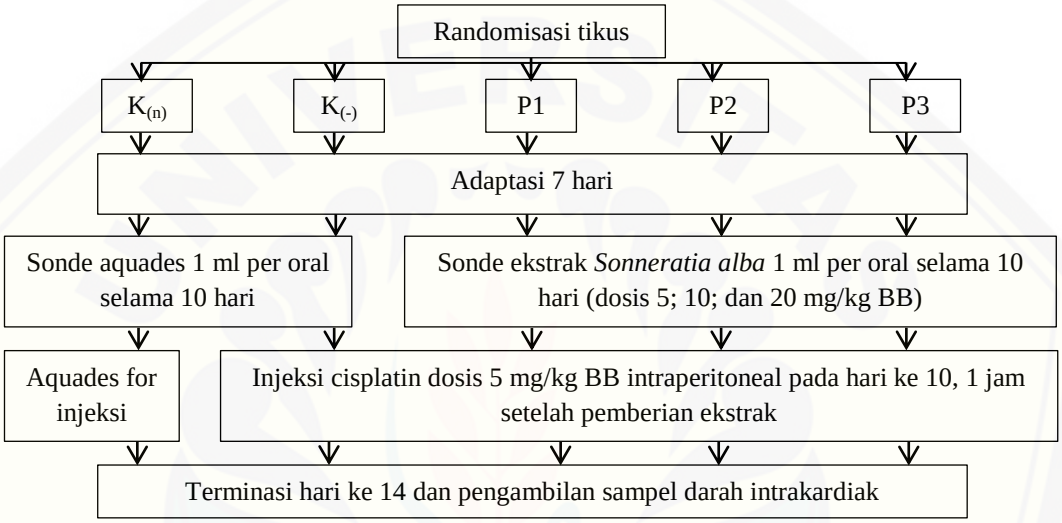
3.9 Analisis Data

Data yang diambil berupa data numerik dari hasil lab BUN dan kreatinin serum tikus. Analisis yang dilakukan untuk data numerik adalah uji normalitas

Digital Repository Universitas Jember

dan uji varian. Jika sebaran data normal dan varian data sama (p>0,05) maka digunakan uji hipotesis *One Way Anova*. Namun, jika tidak sama (p<0,05) maka digunakan uji *Kruskal Wallis.* Perbedaan tiap kelompok bermakna atau siginifikan bila p<0,05.

3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur penelitian

3.11 Etik Penelitian

Perizinan penelitian *true experimental* yang menggunakan hewan coba tikus ini diajukan kepada Komisi Etik Fakultas Kedokteran Univesitas Jember (Lampiran 3.1).

3.12 Data dan Sumber Data

Sumber data yang diperoleh dari penelitian ini merupakan data primer, yaitu diperoleh langsung dari obyek penelitian. Data berasal dari hasil analisis dari kadar BUN dan kreatinin serum tikus wistar yang diambil secara intracardiak pada hari terakhir penelitian.

Digital Repository Universitas Jember

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan penelitian ini adalah ekstrak metanol kulit batang mangrove (*Sonneratia alba*) dosis 5, 10, dan 20 mg/kg BB belum mampu menurunkan kadar BUN dan kreatinin tikus wistar yang diinduksi cisplastin.

5.2 Saran

Saran pada penelitian ini adalah:

a. Perlu dilakukan isolasi dan identifikasi struktur komponen antioksidan pada mangrove (*Sonneratia alba*).
b. Perlu dilakukan penelitian yang sama dengan penambahan metode fraksinasi untuk mendapatkan kemurnian zat yang lebih tinggi.
c. Perlu dilakukan uji hematokrit untuk menilai ada tidaknya dehidrasi pada tikus.

Digital Repository Universitas Jember

DAFTAR PUSTAKA

Ahmad, R., S. N. Baharum, H. Bunawan, M. Lee, N. M. Noor, E. R. Rohani, N. Ilias, dan N. M. Zin. 2014. Volatile profiling of aromatic traditional medicinal plant, *Polygonum minus* in different tissues and its biological activities. *Molecules.* 19: 19220-19242.

Al Kahfi, L. S. A. H., S. Murwani, dan P. Trisunuwati. 2012. Pengaruh Ekstrak Air *Moringa oleifera* Lam. terhadap Kadar Interleukin-1 Beta (Il-1β) dan Gambaran Histopatologi Pulau Langerhans Pankreas *Rattus norvegicus* dengan Perlakuan Diet Aterogenik. https://fkh.ub.ac.id/wp-content/uploads/2012/10/0911313027-LingSandra.pdf. [Diakses pada 25 April 2017].

Al-Kahtani, M. A., A. M. Abdel-Moneim, O. M. Elmenshawy, dan M. A. El-Kersh. 2014. Hemin attenuates cisplatin-induced acute renal injury in male rats. *Hindawi Publishing Corporation.* 2014:1-9.

Aminullah, Y. 2011. http://eprints.undip.ac.id/33872/3/Bab_2.pdf. [Diakses pada 25 April 2017].

Andrews, K. 2014. Intraperitoneal injection (IP) in rats and mice SOP. *UBC Animal Care Guidelines.* 1-6.

Arini, N. N. 2016. Efek Ekstrak Kulit Batang Mangrove (*Sonneratia alba*) terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Wistar yang Diinduksi Cisplatin. *Skripsi.* Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Arunkumar, P. A., G, L. Viswanatha, N. Radheshyam, H. Mukund, dan M. S. Belliyappa. 2012. Science behind cisplatin-induced nephrotoxicity in humans: A clinical study. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine.*2(8): 640-644.

Azu, O. O., F. I. Duru, A. O. Osinubi, G. C. Noronha, S. O. Elesha, dan A. O. Okanlawon. 2010. Protective agent, *Kigelia africana* fruit extract, againts cisplatin-induced kiddney oxidant injury in *Sparague-dawley* rats. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research.* 3(2): 84-88.

Basu, A., dan S. Krishnamurthy. 2010. Review article cellular responses to cisplatin-induced DNA damage. *Journal of Nucleic Acid.* 2010: 1-16.

Budiyanto, M. S. A. 2015. Potensi Antioksidan, Inhibitor Tirosinase, dan Nilai Toksisitas dari Beberapa Spesies Tanaman Mangrove di Indonesia. *Skripsi.* Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.

Digital Repository Universitas Jember

Cuendet, M., C. P. Oteham, R. C. Moon, dan J. M. Pezzuto. 2006. Quinone reductase induction as a biomarker for cancer chemoprevention. *Journal of Natural Product.* 69(3): 460-463.

Dasari, S., dan P. B. Tchounwou. 2014. Review cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *European Journal of Pharmacology*. 740: 364-378.

Donowati, M. W., A. Y. N. Pramodhawardani, dan I. Lestari. 2013. Penggunaan obat sitostatika pada anak-anak yang melakukan kemoterapi di RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta tahun 2010. *Jurnal Farmasi dan Sains Komunitas*. 1(1): 14-21.

Fernando, A. 2009. Optimisasi Penetapan Kadar Sisplatin dalam Campuran Infus Sisplatin dengan Ondansetron Dietildiklorida Menggunakan Pereaksi Dietilditiokarbamat secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Tesis.* Depok: Program Pasca Sarjana Program Studi Ilmu Farmasi Universitas Indonesia.

Gautier, J., B. Riefke, J. Walter, P. Kurth, L. Mylecraine, V. Guilpin, N. Barlow, T. Gury, D. Hoffman, D. Ennulat, K. Schuster, E. Harpur, dan S. Pettit. 2010. Evaluation of novel biomarkers of nephrotoxicity in two strains of rat treated with cisplatin. *Toxicologic Pathology*. 38: 943-956.

Gawali, P., dan B. L. Jadhav. 2011. Antioxidant activity and antioxidant phytochemical analysis of mangrove species *Sonneratia alba* and *Bruguiera cylindrica. Asian Journal of Microbiology, Biotechnology, and Environmental Sciences.* 13(2): 257-261.

Gawron-Gzella, A., M. Dudek-Makuch, dan I. Matlawska. 2012. DPPH radical scavenging activity and phenolic compound content in different leaf extracts from selected blackberry species. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica.* 54(2): 32-38.

Gholami, M., S. A. Moallem, M. Afshar, S. Amoueian, L. Etemad, dan G. Karimi. 2016. Teratogenic effects of silymarin on mouse fetuses. *Avicenna Journal of Phytomedicine.* 6(5): 542-549.

Hadjzadeh, M., Z. Keshavarzi, S. A. T. Yazdi, M. G. Shirazi, Z. Rajaei, dan A. K. Rad. 2012. Effect of alcoholic extract of *Nigella sativa* on cisplatin induced toxicity in rat. *Iranian Journal of Kidney Diseases.* 6(2): 99-104.

Hamdi, T., S. Latta, B. Jallad, F. Kheir, M. N. Alhosaini, dan A. Patel. 2010. Cisplatin-induced renal salt wasting syndrome. *Shourthen Medical Journal*. 103(8): 793-799.

Digital Repository Universitas Jember

Hamidah, S. 2006. Rendemen dan kadar tanin kulit kayu bakau (*Rhizophora mucronata* L.) dari daerah Takisung. *Jurnal Hutan Tropis Borneo.* 18: 15-23.

Handayani, S. 2013. Kandungan Flavonoid Kulit Batang dan Daun Pohon Api-Api (*Avicennia marina* (forks.) Vierh.) sebagai Senyawa Aktif Antioksidan. *Skripsi.* Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.

Harizon, B. Pujiastuti, D. Kurnia, D. Suniarsa, dan Y. Shiono. 2014. Triterpenoid lupan dari kulit batang *Sonneratia alba* (*Lythraceae*). *Bionatura Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik*. 16(1): 25-29.

Havasi, A., dan S. C. Borkan. 2011. Apoptosis and acute kidney injury. *Kidney International.* 80(1): 29-40.

Herawati, N., N. Jalaluddin, L. Daha, dan F. Zenta. 2009. Aktivitas antioksidan ekstrak kulit batang mangrove *Sonneratia alba*. *Majalah Farmasi dan Farmakologi.* 4(2): 82-88.

Herawati, N., N. Jalaluddin, L. Daha, dan F. Zenta. 2011. Potensi antioksidan ekstrak metanol kulit batang tumbuhan mangrove *Sonneratia alba. Majalah Farmasi dan Farmakologi.* 15(1): 23-25.

Kathiresan, K., S. G. Salmo III., E. S. Fernando, J. R. Peras, S. Sukardjo, T. Miyagi, J. Ellison, N. E. Koedam, Y. Wang, J. Primavera, O. J. Eong, J. W. H. Yong, dan V. N. Nam. 2010. *Sonneratia alba*. *The IUCN Red List of Threatened Species.* http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-2.RLTS.T178804A7611432.en. [Diakses pada 18 Maret 2017].

Khan, S. A., S. Priyamvada, W. Khan, S. Khan, N. Farooq, dan A. N. K. Yusufi. 2009. Studies on the protective effect of green tea againts cisplatin induced nephrotoxicity. *Pharmacological Research*. 60(5): 382-391.

Laksmi, N. L. G. M. C., I. K. A. Dada, dan I. M. Damriyasa. 2014. Bioaktivitas ekstrak daun tapakdara (*Catharanthus roseus*) terhadap kadar kreatinin dan kadar ureum darah tikus putih (*Rattus norvegicus*). *Buletin Veteriner Udayana.* 6(2): 147-152.

Lestari, R. D., dan Susanti, R. 2015. Effectivity of pedada fruit (*Sonneratia caseolaris*) extract to the level of SgoT and SgPT in rat treated by paracetamol induction. *Biosaintifika Journal of Biology and Biology Education.* 7(1): 29-36.

Digital Repository Universitas Jember

Liang, N., dan D. D. Kitss. 2014. Review antioxidant property of coffee components: assessment of methods that define mechanisms of action. *Molecules.* 19(11): 19180-19208.

Liu, X., Z. Huang, X. Zhou, Y. Yang, Y. Qiu, dan Y. Wen. 2014. *Panax notoginseng* saponins attenuates cisplatin-induced nephrotoxicity via inhibiting the mitochondrial pathway of apoptosis. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology.* 7(12): 8391-8400.

Marullo, R., E. Werner, N. Degtyareva, B. Moore, G. Altavilla, S. S. Ramalingam, dan P. W. Doetsch. 2013. Cisplatin induces a mitochondrial-ROS response that contributes to cytotoxicity depending on mitochondrial redox status and bioenergetic functions. *Plos One.* 8(11): 1-15.

Miller, R. P., R. K. Tadagavadi, G. Ramesh, dan W. B. Reeves. 2010. Review mechanisms of cisplatin nephrotoxicity. *Toxins*. 2(11): 2490-2518.

Mirazi, N., S. Movassagh, M. Rafieian-Kopaei. 2016. The protective effect of hydro-alcoholic extract of mangrove (*Avicennia marina* L.) leaves on kidney injury induced by carbon tetrachloride in male rats. *Journal of Nephropathology.* 5(4): 118-122.

Mishra, K., H. Ojha, N. K. Chaudhury. 2012. Analytical methods estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH radical dot assay: a critical review and results. *Food Chemistry.* 130(2012): 1036-1043.

Morada, N. J., E. B. Metillo, M. M. Uy, dan J. M. Oclarit. 2011. Anti-diabetic polysaccharide from mangrove plant, *Sonneratia alba* Sm. *International Conference on Asia Agriculture and Animal.* 13(2011): 197-200.

Nasution, A. 2015. *Farmakokinetika Klinis.* Medan: USU Pers.

Noviyani, R., K. Suwiyoga, A. A. A. W. P. Dewi, R. Niruri, I. K. Tunas, dan I. N. G. Budiana. 2014. Evaluasi nilai blood urea nitrogen dan serum kreatinin pada pemberian kemoterapi paklitaksel-karboplatin pada pasien kanker serviks sel skuamosa stadium IIB-IIIB. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia.* 3(2): 55-60.

Oehadian, A. 2016. Respon Kemoterapi Penderita Kanker Ovarium di Rumah Sakit Kanker Dharmais Jakarta (Tahun 1997 – 2002). repository.unpad.ac.id/3991/. [Diakses pada 16 Maret 2017].

Pabla, N., dan Z. Dong. 2008. Review cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. *Kidney International*. 73(9): 994-1007.

Digital Repository Universitas Jember

Palipoch, S., dan C. Punsawad. Biochemical and histological study of rat liver and kidney injury induced by cisplatin. *Journal of Toxicologic and Pathology*. 26(3): 293-299.

Paulsen, F., dan J. Waschke. 2010. *Sobotta, Atlas der Anatomie des Menschen: Innere Organe.* Twenty-Third Edition. Munchen: Elsevier. Terjemahan oleh B. U. Pendit. e*t al.* 2012. *Sobotta: Atlas Anatomi Manusia: Organ-organ Dalam.* Edisi Keduapuluh tiga. Jilid 2. Jakarta: EGC.

Perazella, M. A., dan G. W. Moeckel. 2010. Nephrotoxicity from chemotherapeutic agents: clinical manifestations, pathobiology, and prevention/therapy. *Seminars in Nephrology.* 30(6): 570-581.

Pezeshki, Z., A. Khosravi, M. Nekuei, S. Khoosnood, E. Zandi, M. Eslamian, A. Talebi, S. N. Emarni, dan M. Nematbakhsh. 2017. Time course of cisplatin-induced nephrotoxicity and hepatotoxicity. *Journal of Nephropathology*. 6(3): 163-167.

Pierre, G. 2014. *Sonneratia alba* J. Smith. http://amap-collaboratif.cirad.fr/Docs_Logiciels/Mangrove_web/especes/s/sonal/sonal_11.html. [Diakses pada 18 Maret 2017].

Powar, P. S., dan D. K. Gaikwad. 2013. Antimicrobial activity of methanolic extract of mangrove bark. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 4(3): 149-152.

Prasetyaningrum, M., S. P. Sari, dan R. Andalusia. 2013. Evaluasi Penurunan Fungsi Ginjal Pasien yang Mendapatkan Cisplatin di Rumah Sakit Kanker Dharmais Jakarta Periode Juli-Desember 2012. lib.ui.ac.id/naskahringkas/2016-03/S46789-Marchen%20Prasetyaningrum. [Diakses pada 16 Maret 2017].

Proimmune. 2009. Protocols for The Preparation of Blood Plasma and Serum. https://www.proimmune.com/ecommerce/pdf_files/PR31.pdf. [Diakses pada 25 April 2017].

Ramesh, T., C. Sureka, S. Bhuvana, dan V. H. Begum. 2010. *Sesbania grandiflora* diminishes oxidative stress and ameliorates antioxidant capacity in liver and kidney of rats exposed to cigarette smoke. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 61(4): 467-476.

Rezaei-Golmisheh, A., H. Malekinejad, S. Asri-Rezaei, A. A. Farshid, dan P. Akbari. 2015. Hawthorn ethanolic extracts with triterpenoids and flavonoids exert hepatoprotective effects and suppress the hypercholesterolemia-induced oxidative stress in rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences.*18: 691-699.

Digital Repository Universitas Jember

Rita, I. Kusharyanti, dan S. Wahdaningsih. 2013. Uji aktivitas nefroprotektif fraksi metanol daun kesum (*Polygonum minus* Huds.) pada tikus jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi cisplatin. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran Untan.* 1(1).

Rodwell, V. W., D. A. Bender, K. M. Botham, P. J. Kennelly, dan P. A. Well. 2015. *Harper's Illustrated Biochemistry.* Thirtieth Edition. New York: The McGraw-Hill Education.

Safnowandi. 2015. Struktur komunitas mangrove di Teluk Poton Bako sebagai buku panduan untuk pemantapan konsep ekosistem pada guru biologi SMA di Kabupaten Lombok Timur. *Jurnal Ilmiah IKIP Mataram.* 2(1): 365-379.

Salazar, J. H. 2014. Overview of Urea and Creatinine. *Laboratory Medicine.* 45(1): 19-20.

Sands, J. M., M. A. Blount, dan J. D. Klein. 2010. Regulation of renal urea transport by vasopressin. *Transactions of The American Clinical and Climatological Association.* 122: 82-92.

Schrier, R. W., 2008. Blood urea nitrogen and serum creatinine not married in heart failure. *American Heart Association.* 1: 2-5.

Setyowati, W. A. E., S. R. D. Ariani, Ashadi, B. Mulyani, dan C. P. Rahmawati. 2014. Skrinning Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI.* 21 Juni. *Universitas Sebelas Maret:* 271-280.

Sherwood, L. 2007. *Human Physiology: From Cells to Systems.* Sixth Edition. Singapore: Cengage Learning Asia Pte Ltd. Terjemahan oleh B. U. Pendit. 2012. *Fisiologi Manusia: Dari Sel ke Sistem.* Edisi Keenam. Jakarta: EGC.

Siddique, H. R., dan M. Saleem. 2011. Minireview beneficial health effects of lupeol triterpene: a review of preclinical studies. *Life Sciences.* 88(2011): 285-293.

Suh, S. S., J. Hwang, M. Park, H. S. Park, T. K. Lee. 2014. Phenol content, antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of mangrove plants in Micronesia. *Asian Pasific Journal of Tropical Medicine.* 7(7):531-535.

Suhail, N., N. Bilal, H. Y. Khan, S. Hasan, S. Sharma, F. Khan, T. Mansoor, dan N. Banu. 2012. Effect of vitamins C and E on antioxidant status of breast-cancer patients undergoing chemotherapy. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics.* 37(1): 22-26.

Digital Repository Universitas Jember

Weiner, I. D., W. E. Mitch, dan J. M. Sands. 2015. Urea and ammonia metabolism and the control of renal nitrogen excretion. *Clinical Journal of The American Society of Nephrology*. 10: 1444-1458.

Yao, X., K. Panichpisal, N. Kurtzman, K. Nugent. 2007. Cisplatin nephrotoxicity: a review. *The American Journal of Medical Sciences*. 334(2): 115-124.

Yildirim, I. dan Kutlu, K. 2015. Anticancer agents: saponin and tannin. *International Journal of Biological Chemistry*. 9(6): 332-340.

Digital Repository Universitas Jember

LAMPIRAN

Lampiran 3.1 Persetujuan Etik

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 : 1.141 /H25.1.11/KE/2017

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 PENURUNAN KADAR BUN DAN KREATININ TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI CISPLATIN

Nama Peneliti Utama : Nurul Haryani Firmaningtyas (NIM.132010101038)
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, 19 Juni 2017
Ketua Komisi Etik Penelitian

dr. Riau Riyanti, Sp.PK

Digital Repository Universitas Jember

Tanggapan Anggota Komisi Etik

(Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lainnya)

Review Proposal :

- Pemilihan, perawatan, perlakuan, pengorbanan dan pemusnahan hewan coba mengacu pada buku pedoman etik penelitian kesehatan (Penggunaan hewan coba dengan prinsip 3R : *Reduced, Reused, Redefined*)
- Mohon diperhatikan kontrol kualitas pembuatan ekstrak kulit batang mangrove
- Perlakuan injeksi intraperitoneal dilakukan oleh orang yang terampil (dilakukan secara cepat dan tepat agat tidak melukai hewan coba)
- **Mohon diperjelas pada proposal metode pemeriksaan BUN dan Kreatinin yang akan dilakukan.**
- Mohon diperhatikan pembuangan limbah biologis dan limbah B3 agar tidak mencemari lingkungan.

Jember, 28 Mei 2017

Reviewer

Nama : dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed

Digital Repository Universitas Jember

Lampiran 4.1 Hasil Identifikasi Mangrove (*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 Jemberiense, 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

Digital Repository Universitas Jember

Lampiran 4.2 Perhitungan Dosis

1. Ekstrak mangrove (*Sonneratia alba*) konsentrasi 5 µg/ml = 5x10^{-3} mg/ml.

$$VAO(ml) = \frac{Dosis\ \left(\frac{mg}{kg}\right) x\ BB(kg)}{Konsentrasi\ (\frac{mg}{ml})}$$

$$Dosis\ \left(\frac{mg}{kg}\right) = \frac{VAO(ml) x Konsentrasi\ (\frac{mg}{ml})}{BB(kg)}$$

$$Dosis\ \left(\frac{mg}{kg}\right) = \frac{1x5x10^{-3}x180}{18x10^{-2}}$$

$$Dosis = 5mg/kg$$

*VAO = volume administrasi obat

*Berat badan tikus rata-rata pada penelitian ini adalah 180 gram

2. Ekstrak mangrove (*Sonneratia alba*) konsentrasi 10 µg/ml = 10^{-2} mg/ml.

$$Dosis\ \left(\frac{mg}{kg}\right) = \frac{VAO(ml) x Konsentrasi\ (\frac{mg}{ml})}{BB(kg)}$$

$$Dosis\ \left(\frac{mg}{kg}\right) = \frac{1x10^{-2}x180}{18x10^{-2}}$$

$$Dosis = 10mg/kg$$

3. Ekstrak mangrove (*Sonneratia alba*) konsentrasi 20 µg/ml = 2x10^{-2} mg/ml.

$$Dosis\ \left(\frac{mg}{kg}\right) = \frac{VAO(ml) x Konsentrasi\ (\frac{mg}{ml})}{BB(kg)}$$

$$Dosis\ \left(\frac{mg}{kg}\right) = \frac{1x2x10^{-2}x180}{18x10^{-2}}$$

$$Dosis = 20mg/kg$$

Digital Repository Universitas Jember

4. Dosis cisplatin 5 mg/kg BB

   Dosis disesuaikan dengan BB tikus masing-masing

   Misal BB 200 gram, maka

$$\frac{5\ mg}{1000\ gram} = \frac{x\ mg}{200\ gram}$$

$$x\ mg = \frac{5\ mg\ x\ 200\ gram}{1000\ gram}$$

$$x = 1\ mg$$

   Sediaan cisplatin 50 mg/50 ml sehingga untuk tikus dengan BB 200 gram diinjeksikan 1 ml.

   Misal BB 180 gram, maka

$$\frac{5\ mg}{1000\ gram} = \frac{x\ mg}{180\ gram}$$

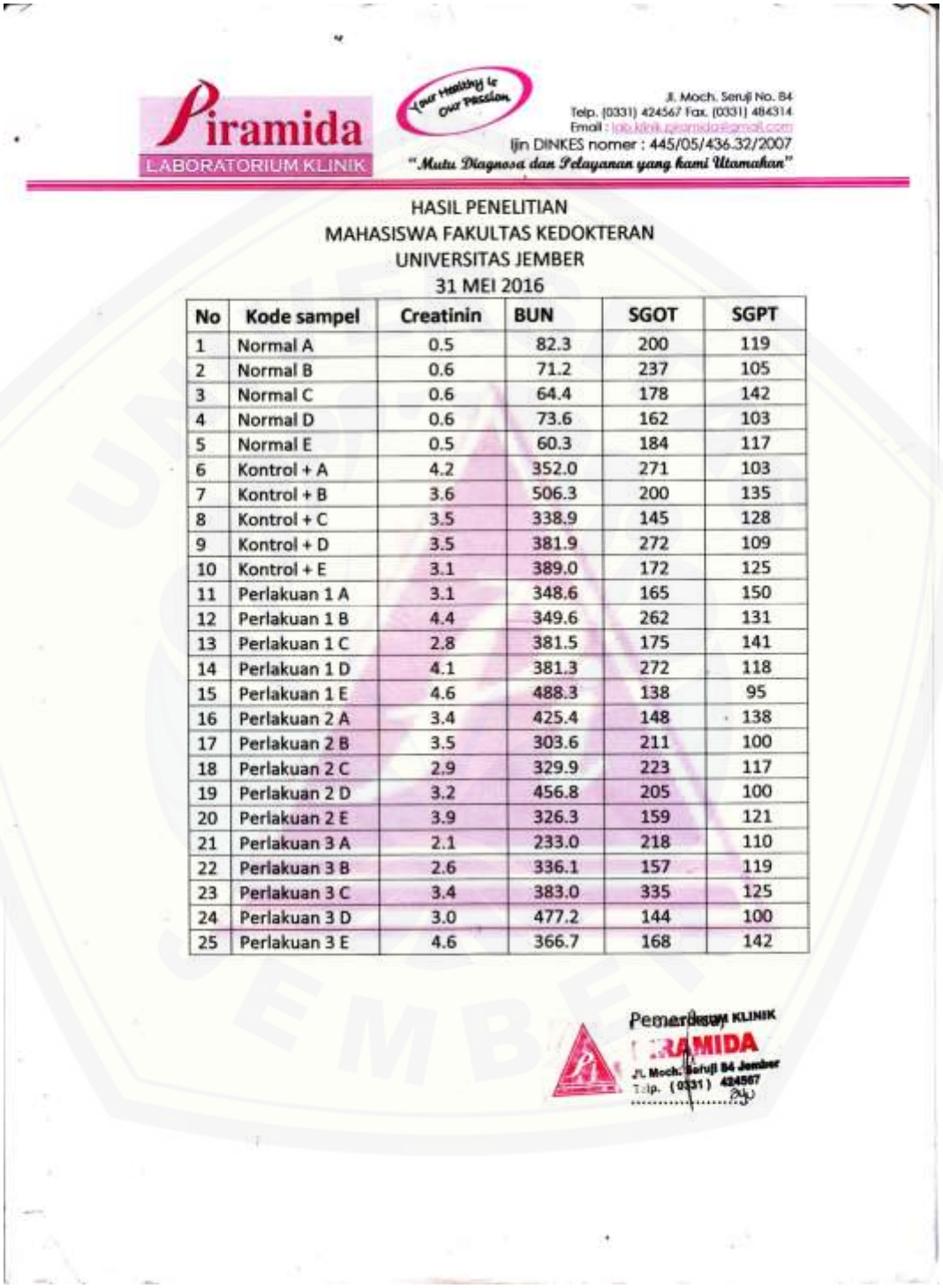
$$x\ mg = \frac{5\ mg\ x\ 180\ gram}{1000\ gram}$$

$$x = 0{,}9\ mg$$

   Sediaan cisplatin 50 mg/50 ml sehingga untuk tikus dengan BB 180 gram diinjeksikan 0,9 ml.

Digital Repository Universitas Jember

Lampiran 4.3 Hasil Laboratorium BUN dan Kreatinin



Piramida
LABORATORIUM KLINIK
Your Healthy is Our Passion
Jl. Moch. Seruji No. 84
Telp. (0331) 424567 Fax. (0331) 484314
Email : lab.klinik.piramida@gmail.com
Ijin DINKES nomer : 445/05/436.32/2007
"Mutu Diagnosa dan Pelayanan yang kami Utamakan"

HASIL PENELITIAN
MAHASISWA FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
31 MEI 2016

No	Kode sampel	Creatinin	BUN	SGOT	SGPT
1	Normal A	0.5	82.3	200	119
2	Normal B	0.6	71.2	237	105
3	Normal C	0.6	64.4	178	142
4	Normal D	0.6	73.6	162	103
5	Normal E	0.5	60.3	184	117
6	Kontrol + A	4.2	352.0	271	103
7	Kontrol + B	3.6	506.3	200	135
8	Kontrol + C	3.5	338.9	145	128
9	Kontrol + D	3.5	381.9	272	109
10	Kontrol + E	3.1	389.0	172	125
11	Perlakuan 1 A	3.1	348.6	165	150
12	Perlakuan 1 B	4.4	349.6	262	131
13	Perlakuan 1 C	2.8	381.5	175	141
14	Perlakuan 1 D	4.1	381.3	272	118
15	Perlakuan 1 E	4.6	488.3	138	95
16	Perlakuan 2 A	3.4	425.4	148	138
17	Perlakuan 2 B	3.5	303.6	211	100
18	Perlakuan 2 C	2.9	329.9	223	117
19	Perlakuan 2 D	3.2	456.8	205	100
20	Perlakuan 2 E	3.9	326.3	159	121
21	Perlakuan 3 A	2.1	233.0	218	110
22	Perlakuan 3 B	2.6	336.1	157	119
23	Perlakuan 3 C	3.4	383.0	335	125
24	Perlakuan 3 D	3.0	477.2	144	100
25	Perlakuan 3 E	4.6	366.7	168	142

Pemeriksa
LABORATORIUM KLINIK
PIRAMIDA
Jl. Moch. Seruji 84 Jember
Telp. (0331) 424567

Digital Repository Universitas Jember

Lampiran 4.4 Analisis Statistik BUN

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Creatinin	Normal	.367	5	.026	.684	5	.006
	Kontrol Positif	.280	5	.200*	.908	5	.457
	Perlakuan 1	.246	5	.200*	.884	5	.327
	Perlakuan 2	.173	5	.200*	.991	5	.984
	Perlakuan 3	.192	5	.200*	.958	5	.791
BUN	Normal	.158	5	.200*	.977	5	.915
	Kontrol Positif	.328	5	.084	.822	5	.120
	Perlakuan 1	.358	5	.035	.768	5	.044
	Perlakuan 2	.314	5	.120	.854	5	.207
	Perlakuan 3	.197	5	.200*	.972	5	.889

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
tran_creat	Normal	.367	5	.026	.684	5	.006
	Kontrol Positif	.262	5	.200*	.923	5	.548
	Perlakuan 1	.266	5	.200*	.874	5	.281
	Perlakuan 2	.159	5	.200*	.994	5	.991
	Perlakuan 3	.148	5	.200*	.994	5	.991
tran_BUN	Normal	.158	5	.200*	.981	5	.940
	Kontrol Positif	.304	5	.148	.857	5	.217
	Perlakuan 1	.340	5	.060	.793	5	.071
	Perlakuan 2	.305	5	.145	.863	5	.240
	Perlakuan 3	.239	5	.200*	.943	5	.689

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

tran_BUN

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.718	4	20	.590

Digital Repository Universitas Jember

ANOVA

tran_BUN

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.115	4	.529	88.054	.000
Within Groups	.120	20	.006		
Total	2.235	24			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: tran_BUN

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Normal	Kontrol Positif	-.74579*	.04901	.000	-.8924	-.5991
	Perlakuan 1	-.74268*	.04901	.000	-.8893	-.5960
	Perlakuan 2	-.71577*	.04901	.000	-.8624	-.5691
	Perlakuan 3	-.69921*	.04901	.000	-.8459	-.5526
Kontrol Positif	Normal	.74579*	.04901	.000	.5991	.8924
	Perlakuan 1	.00311	.04901	1.000	-.1435	.1498
	Perlakuan 2	.03002	.04901	.971	-.1166	.1767
	Perlakuan 3	.04658	.04901	.874	-.1001	.1932
Perlakuan 1	Normal	.74268*	.04901	.000	.5960	.8893
	Kontrol Positif	-.00311	.04901	1.000	-.1498	.1435
	Perlakuan 2	.02690	.04901	.981	-.1197	.1736
	Perlakuan 3	.04346	.04901	.898	-.1032	.1901
Perlakuan 2	Normal	.71577*	.04901	.000	.5691	.8624
	Kontrol Positif	-.03002	.04901	.971	-.1767	.1166
	Perlakuan 1	-.02690	.04901	.981	-.1736	.1197
	Perlakuan 3	.01656	.04901	.997	-.1301	.1632
Perlakuan 3	Normal	.69921*	.04901	.000	.5526	.8459
	Kontrol Positif	-.04658	.04901	.874	-.1932	.1001
	Perlakuan 1	-.04346	.04901	.898	-.1901	.1032
	Perlakuan 2	-.01656	.04901	.997	-.1632	.1301

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Digital Repository Universitas Jember

Lampiran 4.5 Analisis Statistik Kreatinin

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Creatinin	Normal	.367	5	.026	.684	5	.006
	Kontrol Positif	.280	5	.200*	.908	5	.457
	Perlakuan 1	.246	5	.200*	.884	5	.327
	Perlakuan 2	.173	5	.200*	.991	5	.984
	Perlakuan 3	.192	5	.200*	.958	5	.791
BUN	Normal	.158	5	.200*	.977	5	.915
	Kontrol Positif	.328	5	.084	.822	5	.120
	Perlakuan 1	.358	5	.035	.768	5	.044
	Perlakuan 2	.314	5	.120	.854	5	.207
	Perlakuan 3	.197	5	.200*	.972	5	.889

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
tran_creat	Normal	.367	5	.026	.684	5	.006
	Kontrol Positif	.262	5	.200*	.923	5	.548
	Perlakuan 1	.266	5	.200*	.874	5	.281
	Perlakuan 2	.159	5	.200*	.994	5	.991
	Perlakuan 3	.148	5	.200*	.994	5	.991
tran_BUN	Normal	.158	5	.200*	.981	5	.940
	Kontrol Positif	.304	5	.148	.857	5	.217
	Perlakuan 1	.340	5	.060	.793	5	.071
	Perlakuan 2	.305	5	.145	.863	5	.240
	Perlakuan 3	.239	5	.200*	.943	5	.689

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Digital Repository Universitas Jember

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
Creatinin	Normal	5	3.00
	Kontrol Positif	5	17.30
	Perlakuan 1	5	17.60
	Perlakuan 2	5	14.70
	Perlakuan 3	5	12.40
	Total	25	

Test Statistics[a,b]

	Creatinin
Chi-Square	13.252
df	4
Asymp. Sig.	.010

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Creatinin	Normal	5	3.00	15.00
	Kontrol Positif	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics[a]

	Creatinin
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.660
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Digital Repository Universitas Jember

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Creatinin	Normal	5	3.00	15.00
	Perlakuan 1	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics[a]

	Creatinin
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.652
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Creatinin	Normal	5	3.00	15.00
	Perlakuan 2	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics[a]

	Creatinin
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.652
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Digital Repository Universitas Jember

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Creatinin	Normal	5	3.00	15.00
	Perlakuan 3	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics[a]

	Creatinin
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.652
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Creatinin	Kontrol Positif	5	5.10	25.50
	Perlakuan 1	5	5.90	29.50
	Total	10		

Test Statistics[a]

	Creatinin
Mann-Whitney U	10.500
Wilcoxon W	25.500
Z	-.420
Asymp. Sig. (2-tailed)	.674
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.690[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Digital Repository Universitas Jember

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Creatinin	Kontrol Positif	5	6.40	32.00
	Perlakuan 2	5	4.60	23.00
	Total	10		

Test Statistics[a]

	Creatinin
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	23.000
Z	-.952
Asymp. Sig. (2-tailed)	.341
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.421[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Creatinin	Kontrol Positif	5	6.80	34.00
	Perlakuan 3	5	4.20	21.00
	Total	10		

Test Statistics[a]

	Creatinin
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-1.362
Asymp. Sig. (2-tailed)	.173
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.222[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Digital Repository Universitas Jember

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Creatinin	Perlakuan 1	5	6.20	31.00
	Perlakuan 2	5	4.80	24.00
	Total	10		

Test Statistics[a]

	Creatinin
Mann-Whitney U	9.000
Wilcoxon W	24.000
Z	-.731
Asymp. Sig. (2-tailed)	.465
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.548[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Creatinin	Perlakuan 1	5	6.50	32.50
	Perlakuan 3	5	4.50	22.50
	Total	10		

Test Statistics[a]

	Creatinin
Mann-Whitney U	7.500
Wilcoxon W	22.500
Z	-1.048
Asymp. Sig. (2-tailed)	.295
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.310[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Digital Repository Universitas Jember

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Creatinin	Perlakuan 2	5	6.30	31.50
	Perlakuan 3	5	4.70	23.50
	Total	10		

Test Statistics[a]

	Creatinin
Mann-Whitney U	8.500
Wilcoxon W	23.500
Z	-.838
Asymp. Sig. (2-tailed)	.402
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.421[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.