



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI POTENSI NEFROPROTEKTIF SENYAWA DIMER DARI
ISOEUGENOL TERHADAP HISTOLOGI GINJAL MENCIT
(*MUS MUSCULUS*) JANTAN GALUR DDY**

SKRIPSI

**HARMITA MAHARANI
0806453200**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPOK
JUNI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI POTENSI NEFROPROTEKTIF SENYAWA DIMER DARI
ISOEUGENOL TERHADAP HISTOLOGI GINJAL MENCIT
(*MUS MUSCULUS*) JANTAN GALUR DDY**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains

**HARMITA MAHARANI
0806453200**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPOK
JUNI 2012**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

**Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.**

Nama : Harmita Maharani

NPM : 0806453200

Tanda Tangan :



Tanggal : 19 Juni 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Harmita Maharani
NPM : 0806453200
Program Studi : Biologi S1 Reguler
Judul Skripsi : Uji Potensi Nefroprotektif Senyawa Dimer dari Isoeugenol terhadap Histologi Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Jantan Galur DDY

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi Biologi S1 Reguler, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Dadang Kusmana

()
(.....)

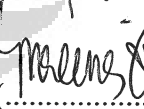
Pembimbing II : Dra. Setiorini M.Kes

()
(.....)

Penguji I : Dr. Abinawanto

()
(.....)

Penguji II : Dr. Luthfiralda Sjahfirdi, M.Biomed

()
(.....)

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 19 Juni 2012

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rezeki, karunia, dan rahmat yang diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini dengan baik. Setiap tahapan yang dilalui dalam pembuatan skripsi ini merupakan masa-masa berharga yang penuh dengan hikmah dan pelajaran. Pembuatan skripsi ini juga tidak lepas dari bantuan orang-orang sekitar penulis. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Dr. Dadang Kusmana selaku pembimbing dan penasehat akademik, dan Dra. Setiorini, M.Kes selaku pembimbing atas segala kemurahan hatinya dalam memberikan bimbingan, nasehat, motivasi, dan sumbangan pikiran selama penelitian hingga tersusunnya skripsi.
2. Dr. Abinawanto dan Dr. Luthfiralda Sjahfirdi, M.Biomed atas semua kebaikan, saran, dan masukan yang diberikan.
3. Dr. rer. nat. Mufti Petala Patria, M.Sc dan Dra. Nining Betawati Prihartini, M.Sc selaku Ketua dan Sekretaris Departemen Biologi FMIPA UI.
4. Dr. Herry Cahyana, Dosen Kimia FMIPA UI bidang kimia bahan alam atas bimbingan dan bantuannya menyediakan isoeugenol dalam penelitian.
5. Seluruh staf pengajar Departemen Biologi FMIPA UI atas ilmu bermanfaat yang penulis terima, khususnya Dr. Upi Chairun Nisa yang telah banyak berbagi ilmu dan pengalamannya kepada penulis.
6. Seluruh karyawan Departemen Biologi FMIPA UI, terutama pak Arif dan mba Asri, serta pak Surya, karyawan Fakultas Farmasi UI, atas semua bantuan yang diberikan.
7. Papa dan Mama tercinta atas segala cinta, kasih sayang, doa, perhatian, dukungan moril dan materil yang selalu diberikan, serta tentunya gen yang mereka wariskan kepada penulis. Kakakku tersayang Ria Harigusmita, M.Kom dan Kakakku Asep Fajar Firmansyah I.A, M.Ti yang selalu memberi nasehat, doa, motivasi, perhatian, dan dukungan materil kepada penulis.
8. Rekan penelitian dan sahabatku Dewi, sahabatku Winna, Titis, Okky, Micel, Icha, dan seluruh teman-teman Biosentris (Bio'08) yang tidak dapat

disebutkan satu per satu, atas kebaikan dan kebersamaannya dengan penulis menjalani perkuliahan di Departemen Biologi FMIPA UI selama 4 tahun dan berbagi suka duka.

9. Rekan kerja di Laboratorium Biologi Perkembangan: Ka Nova'07, Jill'08, Ka Bibil'07, Ka Januar'07, dan Latifa'08 atas segala bantuannya.
10. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi.

Semoga Allah SWT membalas semua kebaikan pihak-pihak yang telah membantu penulis. Akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.



Penulis

2012

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Harmita Maharani
NPM : 0806453200
Program Studi : Biologi S1 Reguler
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

demikian pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Uji Potensi Nefroprotektif Senyawa Dimer dari Isoeugenol terhadap Histologi Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Jantan Galur DDY,

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan karya ilmiah saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal :

Yang menyatakan



Harmita Maharani

ABSTRAK

Nama : Harmita Maharani
Program studi : Biologi
Judul : Uji Potensi Nefroprotektif Senyawa Dimer dari Isoeugenol terhadap Histologi Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Jantan Galur DDY

Penelitian dilakukan untuk mengetahui potensi nefroprotektif dimer isoeugenol terhadap histologi ginjal mencit jantan galur DDY. Tiga puluh ekor mencit jantan dibagi secara acak dalam enam kelompok, yang terdiri atas kelompok kontrol normal, kelompok kontrol kerusakan, dan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol dicekok dengan minyak zaitun selama 7 hari berturut-turut. Kelompok perlakuan dicekok dengan larutan dimer isoeugenol dosis 2, 4, 6, dan 8 mg/kg bb selama 7 hari berturut-turut. Kelompok kontrol kerusakan dan kelompok perlakuan diinjeksi intraperitoneal dengan karbon tetraklorida dua jam setelah pemberian dosis hari ke-7. Ginjal diamati secara makroskopik dan mikroskopik. Uji statistik menunjukkan terdapat pengaruh nefroprotektif dimer isoeugenol terhadap rata-rata diameter kapsula Bowman, diameter glomerulus, dan jumlah tubulus proksimal yang menutup, namun tidak terdapat pengaruh terhadap rata-rata diameter ruang Bowman dan berat basah ginjal. Hasil penelitian menunjukkan setiap dosis perlakuan dimer isoeugenol memiliki pengaruh nefroprotektif. Dimer isoeugenol dosis 4 mg/kg bb menunjukkan pengaruh paling baik.

Kata kunci : dimer isoeugenol, histologi ginjal, karbon tetraklorida, nefroprotektif.
xiii + 93 halaman : 23 gambar; 6 tabel; 21 lampiran
Bibliografi : 62 (1979--2012)

ABSTRACT

Name : Harmita Maharani
Study program : Biology
Title : Nephroprotective Potential Test of Isoeugenol Dimer on Kidney Histology of DDY strain Male Mice (*Mus musculus*)

This research was designed to investigate the nephroprotective potential of isoeugenol dimer on DDY strain male mice kidney histology. The animals were divided randomly into six groups, consisted of normal control group, injury control group, and treatment groups. Control groups were administered olive oil orally for 7 consecutive days. Treatment groups were administered doses of isoeugenol dimer solution 2, 4, 6, and 8 mg/kg w/v orally for 7 consecutive days. Injury control group and treatment groups was induced by intraperitoneal administration of carbon tetrachloride 2 hours after the 7th dose. Kidneys were observed in macroscopic and microscopic. Statistic study showed that there was a nephroprotective effect of isoeugenol dimer against the average diameter of Bowman's capsule, diameter of glomerulus, and total complete obliteration proximal tubule lumen, but no effect was found on the average diameter Bowman's space and kidney weight. The result showed that each dose of isoeugenol dimer has a nephroprotective effect. Isoeugenol dimer dose 4 mg/kg w/v has the best effect.

Keywords : carbon tetrachloride, isoeugenol dimer, kidney histology, nephroprotective effect
xiii + 93 pages : 23 figures; 6 tables; 21 appendices
Bibliography : 62 (1979--2012)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	vi
ABSTRAK.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
1. PENDAHULUAN.....	1
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Isoeugenol.....	5
2.1.1. Karakteristik Isoeugenol.....	6
2.1.2. Kegunaan Isoeugenol.....	7
2.1.3. Bioaktivitas Isoeugenol.....	7
2.2. Sawi Hijau (<i>Brassica juncea</i>).....	8
2.3. Dimer Isoeugenol.....	10
2.3.1. Karakteristik Dimer Isoeugenol.....	10
2.3.2. Bioaktivitas Dimer Isoeugenol.....	11
2.4. Antioksidan.....	12
2.5. Ginjal.....	13
2.5.1. Fungsi Ginjal.....	14
2.5.2. Histologi Ginjal.....	15
2.5.3. Analisis Morfometri dan Kerusakan pada Ginjal.....	17
2.6. Karbon Tetraklorida.....	18
2.7. Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	19
3. METODE PENELITIAN.....	21
3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	21
3.2. Bahan.....	21
3.2.1. Isoeugenol.....	21
3.2.2. Sawi Hijau (<i>Brassica juncea</i>).....	21
3.2.3. Hewan Uji.....	22
3.2.4. Makanan dan Minuman Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	22
3.2.5. Bahan Kimia dan Habis Pakai.....	23
3.3. Peralatan.....	23
3.3.1. Peralatan Pemeliharaan Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	23
3.3.2. Peralatan Pembuatan Larutan Dimer Isoeugenol dan Larutan Karbon Tetraklorida.....	23
3.3.3. Peralatan Pemberian Larutan Dimer Isoeugenol dan Larutan Karbon Tetraklorida.....	24
3.3.4. Peralatan Pembedahan dan Pembuatan Sediaan Histologi	

Ginjal.....	24
3.3.5. Peralatan Pengamatan Sediaan Histologi Ginjal.....	24
3.4. Cara Kerja.....	24
3.4.1. Rancangan Penelitian.....	24
3.4.2. Pemeliharaan Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	25
3.4.3. Pembuatan Larutan Dimer Isoeugenol.....	27
3.4.3.1. Isolasi Enzim Peroksidase dari Tumbuhan Sawi Hijau (<i>Brassica juncea</i>).....	27
3.4.3.2. Isolasi Dimer Isoeugenol yang Dikatalisis oleh Enzim Peroksidase.....	28
3.4.3.3. Pembuatan Larutan Dimer Isoeugenol dengan Pelarut Minyak Zaitun.....	29
3.4.4. Pembuatan Larutan Karbon Tetraklorida.....	29
3.4.5. Perlakuan terhadap Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	29
3.4.6. Pembedahan dan Pembuatan Sediaan Histologi Ginjal.....	30
3.4.7. Pengamatan Makroskopik dan Mikroskopik terhadap Ginjal.....	32
3.4.8. Pengolahan dan Analisis data.....	32
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	34
4.1. Hasil.....	34
4.1.1. Hasil Pengamatan Makroskopik Ginjal.....	34
4.1.1.1. Hasil Pengamatan terhadap Warna Ginjal.....	34
4.1.1.2. Hasil Pengamatan terhadap Rata-rata Berat Basah Ginjal.....	35
4.1.2. Hasil Pengamatan Mikroskopik Ginjal.....	37
4.1.2.1. Hasil Pengamatan terhadap Gambaran Histologi Ginjal Mencit Kelompok Kontrol 1 (KK1).....	37
4.1.2.2. Hasil Pengamatan terhadap Gambaran Histologi Ginjal Mencit Kelompok Kontrol 2 (KK2).....	38
4.1.2.3. Hasil Pengamatan terhadap Gambaran Histologi Ginjal Mencit Kelompok Perlakuan 1 (KP1).....	39
4.1.2.4. Hasil Pengamatan terhadap Gambaran Histologi Ginjal Mencit Kelompok Perlakuan 2 (KP2).....	40
4.1.2.5. Hasil Pengamatan terhadap Gambaran Histologi Ginjal Mencit Kelompok Perlakuan 3 (KP3).....	41
4.1.2.6. Hasil Pengamatan terhadap Gambaran Histologi Ginjal Mencit Kelompok Perlakuan 4 (KP4).....	42
4.1.2.7. Hasil Pengamatan Mikroskopik terhadap Rata-rata Diameter Kapsula Bowman.....	43
4.1.2.8. Hasil Pengamatan terhadap Rata-rata Diameter Glomerulus.....	45
4.1.2.9. Hasil Pengamatan terhadap Rata-rata Jarak Kapsula Bowman dengan Glomerulus (Ruang Bowman).....	47
4.1.2.10. Hasil Pengamatan terhadap Rata-rata Jumlah Tubulus Proksimal yang Menutup.....	49
4.2. Pembahasan.....	51

4.2.1. Pengamatan Makroskopik Ginjal.....	51
4.2.2. Pengamatan Mikroskopik dan Analisis Morfometri Ginjal.....	54
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	61
5.1. Kesimpulan.....	61
5.2. Saran.....	61
DAFTAR ACUAN.....	62

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Reaksi Isomerisasi Eugenol Menjadi Isoeugenol.....	6
Gambar 2.1.1	Isoeugenol.....	7
Gambar 2.2	Sawi Hijau (<i>Brassica juncea</i>).....	9
Gambar 2.3.1	Dimer Isoeugenol.....	11
Gambar 2.5	Sayatan Longitudinal Ginjal.....	14
Gambar 2.5.2	Korpuskel Renalis.....	16
Gambar 2.7	Mencit (<i>Mus musculus</i>) Jantan Galur DDY.....	19
Gambar 3.4.2	Pemeliharaan Mencit.....	26
Gambar 3.4.3.1	Isolasi Enzim Peroksidase dari Tumbuhan Sawi Hijau (<i>Brassica juncea</i>).....	27
Gambar 3.4.3.2	Isolasi Dimer Isoeugenol yang Dikatalisis oleh Enzim Peroxidase.....	28
Gambar 3.4.5	Perlakuan Secara Oral terhadap Mencit.....	30
Gambar 4.1.1.1	Warna Ginjal Mencit Setiap Kelompok Perlakuan.....	35
Gambar 4.1.1.2	Diagram Batang Rata-rata Berat Basah Ginjal.....	37
Gambar 4.1.2.1	Gambaran Histologi Ginjal Mencit KK1.....	38
Gambar 4.1.2.2	Gambaran Histologi Ginjal Mencit KK2.....	39
Gambar 4.1.2.3	Gambaran Histologi Ginjal Mencit KP1.....	40
Gambar 4.1.2.4	Gambaran Histologi Ginjal Mencit KP2.....	41
Gambar 4.1.2.5	Gambaran Histologi Ginjal Mencit KP3.....	42
Gambar 4.1.2.6	Gambaran Histologi Ginjal Mencit KP4.....	43
Gambar 4.1.2.7	Diagram Batang Rata-rata Diameter Kapsula Bowman.....	45
Gambar 4.1.2.8	Diagram Batang Rata-rata Diameter Glomerulus.....	47
Gambar 4.1.2.9	Diagram Batang Rata-rata Diameter Ruang Bowman...	49
Gambar 4.1.2.10	Diagram Batang Rata-rata Jumlah Tubulus Proksimal yang Menutup.....	51

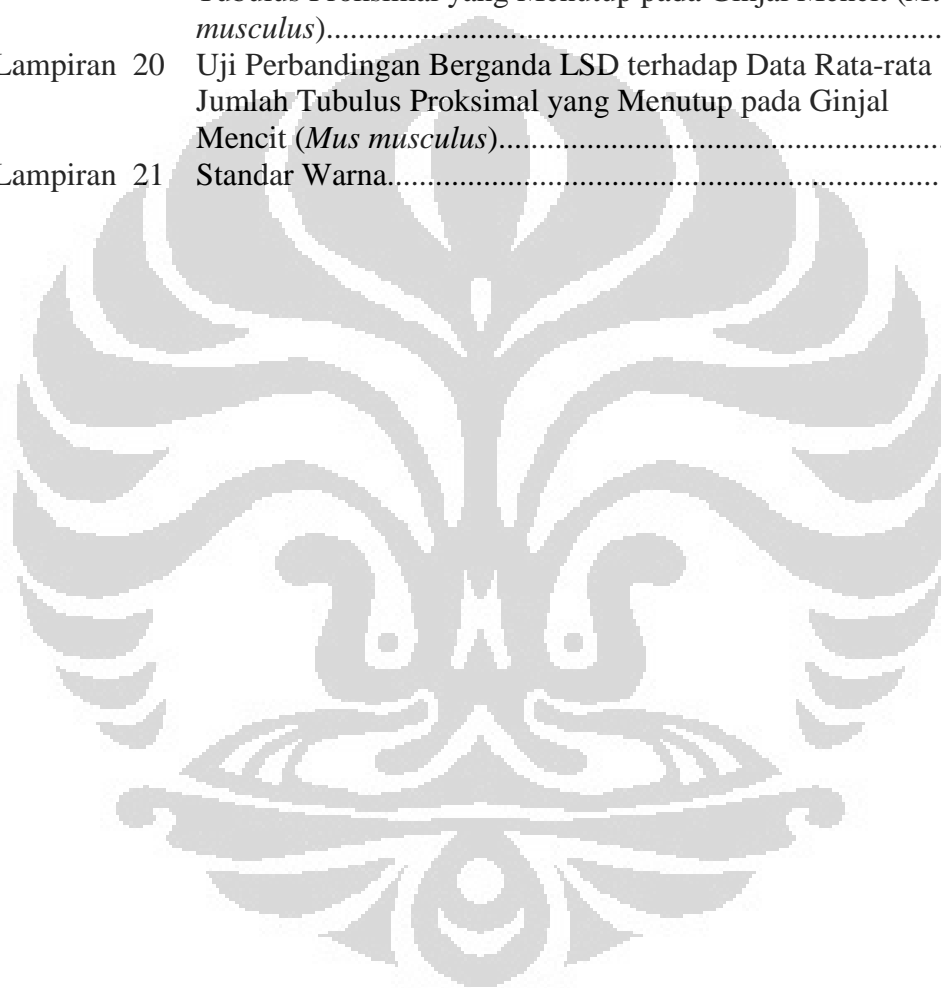
DAFTAR TABEL

Tabel 3.2.4	Komposisi Pakan Mencit.....	22
Tabel 4.1.1.2	Data Rata-rata Berat Basah Ginjal.....	36
Tabel 4.1.2.7	Data Rata-rata Diameter Kapsula Bowman.....	44
Tabel 4.1.2.8	Data Rata-rata Diameter Glomerulus.....	46
Tabel 4.1.2.9	Data Rata-rata Jarak Kapsula Bowman dengan Glomerulus (Ruang Bowman).....	48
Tabel 4.1.2.10	Data Rata-rata Jumlah Tubulus Proksimal yang Menutup.....	50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Penentuan dosis dimer isoeugenol.....	69
Lampiran 2	Pembuatan Larutan Karbon Tetraklorida (CCl ₄) Dosis 400 mg/kg bb.....	70
Lampiran 3	Uji Normalitas Shapiro-Wilk terhadap Data Rata-rata Berat Basah Ginjal Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	71
Lampiran 4	Uji Homogenitas Levene terhadap Data Rata-rata Berat Basah Ginjal Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	72
Lampiran 5	Uji Nonparametrik Kruskal-Wallis terhadap Data Rata-rata Berat Basah Ginjal Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	73
Lampiran 6	Uji Normalitas Shapiro-Wilk terhadap Data Rata-rata Diameter Kapsula Bowman Ginjal Mencit (<i>Mus musculus</i>)... 74	
Lampiran 7	Uji Homogenitas Levene terhadap Data Rata-rata Diameter Kapsula Bowman Ginjal Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	75
Lampiran 8	Uji Anava Satu Faktor terhadap Data Rata-rata Diameter Kapsula Bowman Ginjal Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	76
Lampiran 9	Uji Perbandingan Berganda LSD terhadap Data Rata-rata Diameter Kapsula Bowman Ginjal Mencit (<i>Mus musculus</i>)... 77	
Lampiran 10	Uji Normalitas Shapiro-Wilk terhadap Data Rata-rata Diameter Glomerulus Ginjal Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	80
Lampiran 11	Uji Homogenitas Levene terhadap Data Rata-rata Diameter Glomerulus Ginjal Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	81
Lampiran 12	Uji Nonparametrik Kruskal-Wallis terhadap Data Rata-rata Diameter Glomerulus Ginjal Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	82
Lampiran 13	Uji Nonparametrik Mann-Whitney terhadap Data Rata-rata Diameter Glomerulus Ginjal Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	83
Lampiran 14	Uji Normalitas Shapiro-Wilk terhadap Data Rata-rata Jarak Kapsula Bowman dengan Glomerulus Ginjal Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	85
Lampiran 15	Uji Homogenitas Levene terhadap Data Rata-rata Jarak Kapsula Bowman dengan Glomerulus Ginjal Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	86

Lampiran 16	Uji Anava Satu Faktor terhadap Data Rata-rata Jarak Kapsula Bowman dengan Glomerulus Ginjal Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	87
Lampiran 17	Uji Normalitas Shapiro-Wilk terhadap Data Rata-rata Jumlah Tubulus Proksimal yang Menutup pada Ginjal Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	88
Lampiran 18	Uji Homogenitas Levene terhadap Data Rata-rata Jumlah Tubulus Proksimal yang Menutup pada Ginjal Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	89
Lampiran 19	Uji Anava Satu Faktor terhadap Data Rata-rata Jumlah Tubulus Proksimal yang Menutup pada Ginjal Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	90
Lampiran 20	Uji Perbandingan Berganda LSD terhadap Data Rata-rata Jumlah Tubulus Proksimal yang Menutup pada Ginjal Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	91
Lampiran 21	Standar Warna.....	93



BAB 1

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan (Seeley *et al.* 2002: 571) dan bersifat sangat reaktif (Robbins *et al.* 1999: 5). Molekul tersebut di dalam tubuh akan bereaksi dengan molekul penyusun sel, seperti lemak, protein, atau DNA, sehingga mengubah struktur sel dan mengakibatkan kerusakan sel dan jaringan (Seeley *et al.* 2002: 471 & 571). Oleh karena itu, produksi berlebih molekul tersebut di dalam tubuh dapat menyebabkan berbagai macam penyakit (Denisov & Afanas'ev 2005: 916). Beberapa substansi diketahui dapat menghasilkan radikal bebas berlebih. Substansi tersebut dapat berasal dari berbagai sumber, seperti polutan, obat-obatan (Denisov & Afanas'ev 2005: 693), dan zat toksik (Underwood 1999: 119).

Salah satu organ yang rentan terkena dampak radikal bebas adalah ginjal. Ginjal merupakan organ ekskresi utama substansi-substansi atau zat-zat yang masuk ke dalam tubuh (Lu 1995: 224). Organ tersebut mengolah dan mengeluarkan sisa hasil metabolisme yang tidak digunakan oleh tubuh, seperti zat-zat yang bersifat toksik dan substansi asing lain yang masuk ke dalam tubuh, seperti pestisida dan obat-obatan (Guyton & Hall 2006: 307). Oleh karena itu, ginjal berisiko tinggi terpajan oleh radikal bebas dan menerima dampak negatif dari molekul tersebut. Kerusakan ginjal akibat radikal bebas adalah salah satu penyebab timbulnya penyakit ginjal (Pallor *et al.* 1984: 1160).

Dalam dunia kesehatan, jumlah penderita penyakit ginjal cukup besar. Penyakit tersebut merupakan penyakit yang persentasenya terus meningkat dari tahun ke tahun. Di Indonesia, jumlah pasien yang menderita penyakit ginjal kronis meningkat dengan sangat cepat (Prodjosudjadi & Suhardjono 2009: 33). Penyakit ginjal kronis umumnya berlanjut menjadi penyakit ginjal tahap akhir (*End-Stage Renal Disease* (ESRD)) atau gagal ginjal total. Gagal ginjal total (ESRD) merupakan kondisi ketika kerja ginjal tidak dapat memenuhi kebutuhan harian tubuh. Salah satu pengobatan penyakit tersebut adalah dengan hemodialisis (Zieve & Lin 2011: 1 & 2). Pada tahun 2002 sampai dengan 2006,

pasien ESRD di Indonesia yang menjalani pengobatan hemodialisis mengalami peningkatan berturut-turut dari 2077 orang pada tahun 2002, 2039 orang pada tahun 2003, 2594 orang pada tahun 2004, 3556 orang pada tahun 2005, dan 4344 orang pada tahun 2006 (Prodjosudjadi & Suhardjono 2009: 34). Di Amerika, jumlah penderita penyakit ginjal meningkat 6--7% setiap tahun (BALITBANGKES 2006: 1).

Peningkatan jumlah penderita penyakit ginjal yang signifikan membuat para peneliti berusaha menemukan upaya pencegahan terhadap penyakit tersebut. Beberapa penelitian tentang zat pelindung ginjal (nefroprotektif) telah dilakukan. Hal tersebut bertujuan untuk menemukan komponen (bahan) yang dapat digunakan untuk melindungi ginjal, terutama komponen yang berasal dari alam. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa kerusakan ginjal yang disebabkan oleh radikal bebas dapat dicegah dengan adanya aktivitas antioksidan. Penelitian Olagunju *et al.* (2009: 17) tentang aktivitas nefroprotektif ekstrak cair biji *Carica papaya*, menunjukkan bahwa ekstrak tersebut dapat berfungsi sebagai nefroprotektif karena mengandung antioksidan, seperti flavonoid dan alkaloid. Penelitian Ganie *et al.* (2010: 1677) menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak etanol rhizom tumbuhan *Podophyllum hexandrum* dapat melindungi ginjal dari dampak negatif radikal bebas yang dihasilkan oleh zat toksik karbon tetraklorida (CCl₄).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat meredam dampak negatif radikal bebas (Winarsi 2007: 19), antara lain dengan menghambat pembentukan radikal bebas (Denisov & Afanas'ev 2005: 933). Senyawa tersebut dapat berasal dari sumber alami maupun buatan. Antioksidan alami merupakan antioksidan yang berasal dari alam atau makhluk hidup, terutama tumbuhan. Senyawa tersebut umumnya merupakan senyawa fenol (Silalahi 2006: 48).

Salah satu senyawa fenol yang memiliki aktivitas antioksidan adalah isoeugenol (Aini *et al.* 2007: 63). Senyawa tersebut merupakan salah satu senyawa turunan fenilpropanoid yang dihasilkan oleh tumbuhan (Wang *et al.* 1997: 215). Senyawa tersebut juga dapat disintesis melalui reaksi isomerisasi eugenol (Wibowo *et al.* 2002: 143).

Penelitian Yuda (2007: 45 & 64) tentang isoeugenol menunjukkan bahwa isoeugenol dapat direaksikan menjadi senyawa dimer, yang memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi daripada bentuk sebelumnya (isoeugenol). Dimer isoeugenol tersebut dibentuk melalui reaksi kopling oksidasi dengan biokatalis enzim peroksidase, yang berasal dari tumbuhan, seperti sawi hijau (*Brassica juncea*). Tingkat aktivitas antioksidan dimer isoeugenol tersebut ditunjukkan dengan nilai IC_{50} (*inhibitor concentration*). Dimer isoeugenol memiliki nilai IC_{50} yang lebih kecil daripada isoeugenol, yang berarti bahwa aktivitas penangkapan radikal bebas dimer isoeugenol lebih tinggi (lebih baik) daripada isoeugenol

Dimer isoeugenol dan isoeugenol memiliki nilai IC_{50} masing-masing sebesar 0,7608 ppm dan 12,073 ppm (Yuda 2007: 64). Berdasarkan pengelompokan antioksidan dengan metode Blois dalam Sukandar *et al.* (2011: 395), dimer isoeugenol dan isoeugenol merupakan antioksidan sangat kuat ($IC_{50} < 50$ ppm). Namun, dimer isoeugenol memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi daripada isoeugenol. Berdasarkan tingkat aktivitas antioksidan yang dimiliki dimer isoeugenol, maka diduga senyawa tersebut dapat berfungsi sebagai pelindung ginjal (nefroprotektif). Oleh karena itu, penelitian untuk menguji hal tersebut perlu dilakukan.

Menurut Olagunju *et al.* (2009: 12), penelitian tentang uji potensi nefroprotektif suatu senyawa dapat dilakukan dengan memberikan senyawa uji dengan dosis tertentu kepada hewan uji sebelum diinduksi dengan zat toksik. Pemberian senyawa uji dilakukan secara oral terhadap hewan uji selama 7 hari berturut-turut. Dua jam setelah pemberian dosis hari ke-7, hewan uji diinduksi dengan larutan karbon tetraklorida (CCl_4) secara intraperitoneal (Aimedawaty 2010: 20 & 22). Karbon tetraklorida (CCl_4) merupakan senyawa kimia yang sering digunakan sebagai zat toksik untuk menginduksi kerusakan jaringan. Setelah 48 jam induksi karbon tetraklorida (CCl_4), dilakukan pembedahan dan isolasi ginjal (Ganie *et al.* 2010: 1673 & 1674). Pengamatan terhadap ginjal dapat dilakukan secara morfometrik, antara lain dengan mengukur nilai rata-rata diameter glomerulus (Patera *et al.* 2006: 208).

Prapenelitian telah dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian dimer isoeugenol terhadap histologi ginjal mencit (*Mus musculus*) jantan. Dosis

yang digunakan dalam prapenelitian ditentukan berdasarkan penelitian Yuda (2007: 61) yang menggunakan uji BSLT (*brine shrimp lethality test*) untuk mengetahui toksisitas senyawa dimer. Hasil uji BSLT menunjukkan bahwa nilai LC_{50} (*lethal concentration*) senyawa dimer adalah 8,175 ppm. Jika nilai tersebut dikonversi menjadi nilai dosis pada hewan uji mencit, maka didapatkan nilai 8,175 mg/kg bb. Oleh karena itu, dosis yang digunakan dalam prapenelitian adalah 1 mg/kg bb, 2 mg/kg bb, 4 mg/kg bb, dan 8 mg/kg bb.

Hasil prapenelitian menunjukkan bahwa pemberian dosis 2 mg/kg bb dan 4 mg/kg bb cenderung dapat memperkecil kerusakan kapsula Bowman, glomerulus, dan ruang Bowman. Analisis morfometri yang dilakukan menunjukkan nilai rata-rata hasil pengukuran diameter kapsula Bowman, glomerulus, dan ruang Bowman pada ginjal yang diberi dosis 2 mg/kg bb hingga 4 mg/kg bb mendekati nilai rata-rata pada ginjal kontrol normal, sedangkan pada dosis 8 mg/kg bb nilai rata-rata mulai menjauhi nilai kontrol normal. Oleh karena itu, dosis yang digunakan dalam penelitian adalah 2 mg/kg bb, 4 mg/kg bb, 6 mg/kg bb, dan 8 mg/kg bb.

Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian senyawa dimer isoeugenol secara oral, selama tujuh hari berturut-turut dengan dosis 2 mg/kg bb, 4 mg/kg bb, 6 mg/kg bb, dan 8 mg/kg bb terhadap histologi ginjal mencit (*Mus musculus*) jantan yang diberikan larutan karbon tetraklorida secara intraperitoneal. Hipotesis penelitian yang dilakukan adalah pemberian senyawa dimer isoeugenol secara oral, selama tujuh hari berturut-turut dengan dosis 2 mg/kg bb, 4 mg/kg bb, 6 mg/kg bb, dan 8 mg/kg bb dapat memberikan pengaruh nefroprotektif terhadap histologi ginjal mencit (*Mus musculus*) jantan yang diberikan larutan karbon tetraklorida secara intraperitoneal.

BAB 2

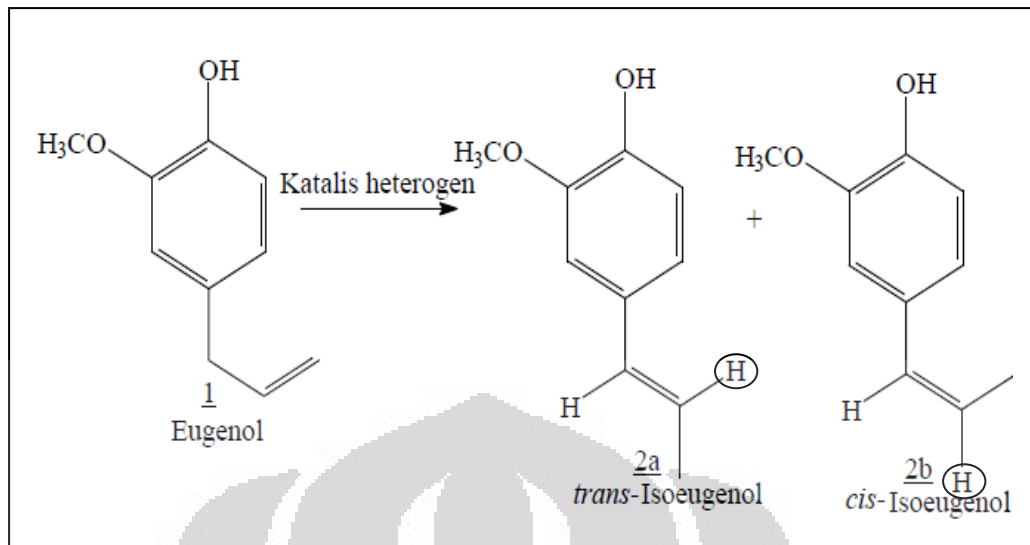
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Isoeugenol

Isoeugenol merupakan salah satu senyawa turunan fenilpropanoid yang terdapat pada tumbuhan (Wang *et al.* 1997: 215). Senyawa tersebut berperan dalam sistem pertahanan tumbuhan (Koeduka *et al.* 2006: 10131). Isoeugenol dapat ditemukan pada bagian vegetatif tumbuhan, seperti daun (Gang *et al.* 2001: 547), namun juga dapat ditemukan pada bunga (Wang *et al.* 1997: 215). Isoeugenol yang terdapat pada bunga berperan sebagai pemberi aroma bunga (*floral scent*) (Koeduka *et al.* 2006: 10131).

Salah satu tumbuhan yang menghasilkan isoeugenol adalah cengkeh (*Eugenia caryophyllata*). Senyawa tersebut dapat ditemukan dalam minyak cengkeh yang didestilasi dari tangkai dan daun cengkeh. Selain isoeugenol, minyak cengkeh juga mengandung eugenol. Eugenol merupakan komponen utama dalam minyak cengkeh dengan komposisi 70% sampai lebih dari 90% dalam bentuk bebas (Guenther 1990: 483 & 490).

Selain diperoleh secara alami dari tumbuhan, isoeugenol dapat diperoleh secara sintetis melalui reaksi isomerisasi eugenol yang umumnya berasal dari minyak cengkeh (Wibowo *et al.* 2002: 143). Eugenol dari minyak cengkeh digunakan dalam bidang industri untuk menghasilkan isoeugenol dan vanilin (Guenther 1990: 467). Reaksi isomerisasi eugenol menghasilkan campuran isomer *cis*-isoeugenol dan isomer *trans*-isoeugenol (Gambar 2.1). Komposisi isomer *trans*-isoeugenol lebih banyak daripada komposisi *cis*-isoeugenol. Isomer *trans*-isoeugenol lebih stabil secara termodinamika daripada isomer *cis*-isoeugenol (Wibowo *et al.* 2002: 144 & 145).



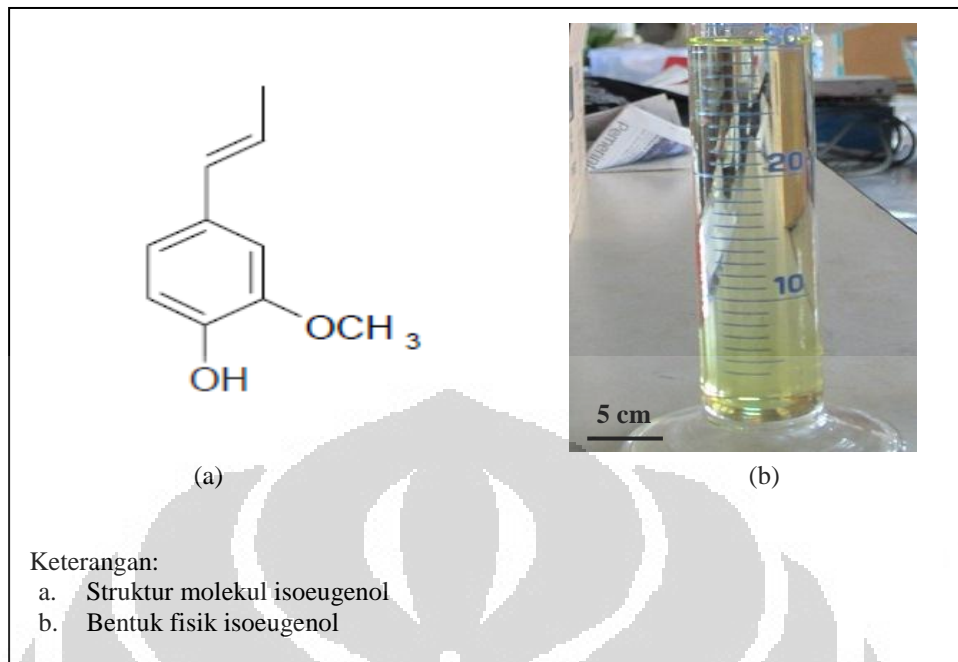
Gambar 2.1. Reaksi isomerisasi eugenol menjadi isoeugenol
[Sumber: Wibowo *et al.* 2002: 143]

2.1.1. Karakteristik Isoeugenol

Menurut HERA (2005: 8 & 9), isoeugenol adalah senyawa alkenil fenol yang memiliki karakteristik sebagai berikut:

Nama Trivial	: Isoeugenol
Nama IUPAC	: 4-propenyl-2-methoxyphenol
Nama Lain	: 2-Methoxy-4-propenylphenol; 2-Methoxy-4-(1-propenyl)phenol; 4-Propenylguaiacol; 4-Hydroxy-3-methoxy-1-propenylbenzene; 1-Hydroxy-2-methoxy-4-propen-1-ylbenzene.
Rumus Molekul	: C ₁₀ H ₁₂ O ₂
Bentuk Fisik	: Cairan kental berwarna kuning pucat
Berat Molekul	: 164,21 g/mol
Titik Didih	: 266 °C
Titik Lebur/Cair	: 27,3°C
Berat Jenis	: 1,081--1,087

Struktur molekul dan bentuk fisik isoeugenol dapat dilihat pada gambar 2.1.1.



Gambar 2.1.1. Isoeugenol

[Sumber: (a) HERA 2005: 75; (b) Dokumentasi Pribadi.]

2.1.2. Kegunaan Isoeugenol

Isoeugenol sering digunakan sebagai bahan wewangian dan pemberi rasa (NTP 2008: 18). Senyawa tersebut digunakan dalam produk-produk rumah tangga, seperti parfum, sabun, sampo, kondisioner, deterjen dan pembersih rumah tangga lainnya (HERA 2005: 10). Selain itu, senyawa tersebut digunakan sebagai salah satu bahan pada makanan dan minuman, seperti pada minuman tanpa alkohol, *baked food*, dan permen karet (NTP 2008: 18).

2.1.3. Bioaktivitas Isoeugenol

Isoeugenol memiliki aktivitas antioksidan (Yuda 2007: 64) dan antiinflamasi (Murakami *et al.* 2005: 329). Aktivitas tersebut disebabkan oleh struktur fenolik yang terdapat pada isoeugenol. Aktivitas antioksidan fenolik diketahui dapat menghasilkan aktivitas antiinflamasi dan efek kemopreventif (Kadoma *et al.* 2007: 1837). Aktivitas antiinflamasi isoeugenol ditunjukkan

dengan penghambatan ekspresi enzim siklooksigenase-2 (COX-2), yang terlibat dalam terjadinya inflamasi dan mutagenesis (Murakami *et al.* 2005: 329).

Aini *et al.* (2007: 64 & 65) menyatakan bahwa isoeugenol memiliki aktivitas antioksidan yang lebih efektif daripada eugenol dan vanilin. Penelitian Yuda (2007: 62) menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan isoeugenol yang diuji dengan metode *radical scavenger* menggunakan DPPH (1,1-difenil-2-pikril hidrazil) menghasilkan nilai IC_{50} (*inhibitor concentration* 50%) sebesar 12,073 ppm. Berdasarkan pengelompokan antioksidan dengan metode Blois dalam Sukandar *et al.* (2011: 395), nilai IC_{50} tersebut menunjukkan bahwa isoeugenol adalah antioksidan sangat kuat ($IC_{50} < 50$ ppm).

Selain memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi, isoeugenol memiliki aktivitas toksik. Berdasarkan penelitian Yuda (2007: 61), uji toksisitas isoeugenol yang dilakukan dengan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT) menunjukkan bahwa isoeugenol memiliki nilai LC_{50} (*lethal concentration*) sebesar 8,939 ppm. Nilai tersebut menunjukkan bahwa isoeugenol termasuk senyawa toksik ($LC_{50} \leq 30$ ppm) (Juniarti *et al.* 2009: 52). Penggunaan isoeugenol dalam konsentrasi tinggi dapat menyebabkan inflamasi dan reaksi alergi (Murakami *et al.* 2005: 326). Hal tersebut disebabkan isoeugenol juga merupakan salah satu alergen. Senyawa tersebut memiliki efek toksisitas moderat akut ketika terpajan melalui kulit dan mulut (HERA 2005: 7 & 38). Efek negatif isoeugenol tersebut disebabkan oleh sifat prooksidatif yang dimiliki oleh isoeugenol. Sifat prooksidatif isoeugenol dapat dikurangi dengan membentuk senyawa dimer (Murakami *et al.* 2005: 326). Dimer isoeugenol dibentuk melalui reaksi radikal yang melibatkan enzim peroksidase (Yuda 2007: 57).

2.2. Sawi Hijau (*Brassica juncea*)

Sawi hijau merupakan salah satu jenis tumbuhan sawi. Tumbuhan tersebut sering dimanfaatkan sebagai sayuran. Sawi hijau memiliki batang yang pendek dan tegap dan memiliki daun yang lebar, berwarna hijau tua, bertangkai pipih, dan berbulu halus (Gambar 2.2; Hidajati 2010: 1).



Gambar 2.2. Sawi hijau (*Brassica juncea*)
[Sumber: Dokumentasi Pribadi.]

Sawi hijau merupakan salah satu tumbuhan yang mengandung enzim peroksidase. Menurut Singh *et al.* (2006: 48), enzim peroksidase pada tumbuhan sawi hijau dapat ditemukan pada bagian akar. Selain itu, penelitian Singh *et al.* (2011: 20), menunjukkan bahwa enzim peroksidase pada sawi hijau juga dapat ditemukan pada daun dan kuncup bunga. Penelitian Yuda (2007: 42) menggunakan enzim peroksidase yang diisolasi dari batang sawi hijau. Menurut Magliano & Casal (1998: 1492), sebagian besar isoform peroksidase pada tumbuhan sawi umumnya terdapat pada batang.

Enzim peroksidase merupakan enzim oksidoreduktase yang sebagian besar mengandung gugus prostetik porfirin besi (Manitto 1981: 91). Enzim tersebut dapat digunakan sebagai biokatalis dalam pembentukan senyawa bioaktif dari senyawa fenol (Yuda 2007: 45). Hal tersebut disebabkan enzim peroksidase dapat menginduksi perangkaian oksidatif senyawa-senyawa fenol dengan melibatkan hidrogen peroksida (H_2O_2). Enzim peroksidase yang banyak dikenal adalah *horseradish* peroksidase, yang berasal dari tumbuhan horseradish (*Nasturtium armoracia*) (Manitto 1981: 91). Tumbuhan tersebut berasal dari famili yang sama dengan tumbuhan sawi hijau, yaitu famili Brassicaceae (Hopkins & Huner 2009: 466; Wright 2010: 7).

2.3. Dimer Isoeugenol

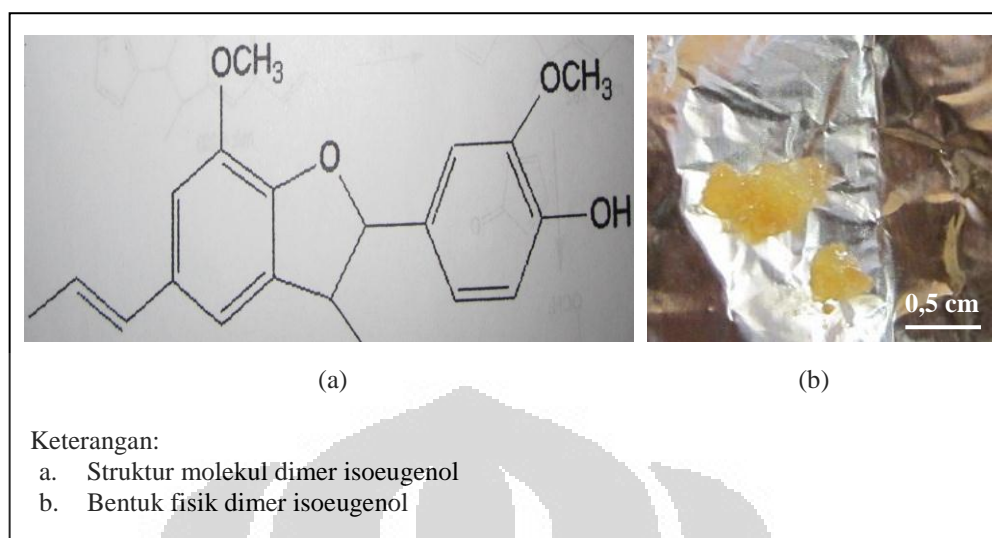
Dimer isoeugenol (dehidrodiisoeugenol) merupakan senyawa bioaktif yang terbentuk dari isoeugenol. Senyawa tersebut terbentuk melalui reaksi kopling oksidasi dengan melibatkan enzim peroksidase. Reaksi kopling oksidasi adalah reaksi yang terjadi antara sesama senyawa radikal fenoksi (fenol) (*lihat Yuda 2007: 14 & 16*).

Pembentukan senyawa dimer isoeugenol berlangsung dengan adanya pemindahan atom hidrogen. Reaksi tersebut melibatkan isoeugenol sebagai donor atom hidrogen, H_2O_2 sebagai akseptor hidrogen, dan enzim peroksidase sebagai biokatalisator. Enzim peroksidase akan mengalami oksidasi dengan adanya H_2O_2 , sedangkan H_2O_2 akan mengalami reduksi. Peroksidase yang teroksidasi akan menangkap atom hidrogen dari isoeugenol, sehingga isoeugenol mengalami oksidasi menjadi radikal isoeugenol. Radikal isoeugenol akan mengalami resonansi dan penggabungan dengan radikal isoeugenol lainnya, sehingga membentuk suatu dimer (*Yuda 2007: 45 & 57*).

2.3.1. Karakteristik Dimer Isoeugenol

Dimer isoeugenol (Gambar 2.3.1) memiliki karakteristik sebagai berikut:

Nama Trivial	: Dehidrodiisoeugenol
Nama IUPAC	: <i>2-methoxy-4-[7-methoxy-3-methyl-5-[(E)-prop-1-enyl]-2,3-dihydro-1-benzofuran-2-yl] phenol</i>
Nama Lain	: <i>2-methoxy-4-(7-methoxy-3-methyl-5-propenyl-2,3-dihydrobenzofuran-2-yl) phenol;</i> <i>Phenol, 4-(2,3-dihydro-7-methoxy-3-methyl-5-propenyl-2-benzofuranyl)-2-methoxy-</i>
Rumus Molekul	: $C_{20}H_{22}O_4$
Berat Molekul	: 326,38 g/mol
(NCBI 2012: 1--3),	
Bentuk Fisik	: Kristal berwarna kuning
(Yuda 2007: 47).	



Gambar 2.3.1. Dimer isoeugenol

[Sumber: (a) Yuda 2007: 53; (b) Dokumentasi Pribadi.]

2.3.2. Bioaktivitas Dimer Isoeugenol

Dimer isoeugenol memiliki aktivitas antioksidan (Yuda 2007: 64) dan antiinflamasi (Murakami *et al.* 2005: 329). Menurut Yuda (2007: 64--65), aktivitas antioksidan dimer isoeugenol lebih baik daripada isoeugenol. Hal tersebut berdasarkan uji antioksidan dengan metode *radical scavenger* menggunakan DPPH yang menunjukkan nilai IC₅₀ (*inhibitor concentration 50%*) dimer isoeugenol sebesar 0,7608 ppm. Berdasarkan pengelompokan antioksidan dengan metode Blois dalam Sukandar *et al.* (2011: 395), dimer isoeugenol adalah antioksidan sangat kuat (IC₅₀ < 50 ppm). Selain itu, aktivitas antioksidan dimer isoeugenol lebih tinggi daripada isoeugenol. Hal tersebut ditunjukkan melalui nilai IC₅₀ dimer isoeugenol yang lebih kecil daripada isoeugenol. Nilai IC₅₀ yang semakin kecil menunjukkan aktivitas antioksidan yang semakin tinggi (Yuda 2007: 64 & 65).

Aktivitas antiinflamasi dimer isoeugenol berlangsung melalui beberapa mekanisme, antara lain dengan menghambat induksi lipopolisakarida (LPS) terhadap ekspresi gen siklooksigenase-2 (COX-2). Dimer isoeugenol juga dapat menghambat stimulasi lipopolisakarida terhadap pengikatan NF-kB, yang merupakan faktor transkripsi dalam ekspresi berbagai macam mediator inflamasi

(Murakami *et al.* 2005: 329 & 330). Macam-macam mediator inflamasi antara lain histamin, kinin, dan prostaglandin (Seeley *et al.* 2002: 88). Prostaglandin merupakan mediator inflamasi yang terbentuk dari asam arakidonat dengan bantuan enzim siklooksigenase-2 (COX-2) (Corwin 2009: 464).

2.4. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menahan pembentukan radikal bebas, baik secara langsung atau tidak langsung. Aktivitas antioksidan langsung, yaitu bereaksi (berikatan) dengan radikal bebas untuk membentuk radikal nonaktif, sedangkan aktivitas antioksidan tidak langsung, antara lain dengan menghambat enzim-enzim prooksidan yang memengaruhi pembentukan radikal bebas (Denisov & Afanas'ev 2005: 848). Secara umum, aktivitas penghambatan radikal bebas oleh antioksidan dapat dibedakan menjadi tiga mekanisme, yaitu mencegah atau menghambat pembentukan radikal bebas baru, menginaktivasi atau menangkap radikal bebas, dan memperbaiki kerusakan akibat radikal bebas (Winarsi 2007: 20).

Antioksidan dapat dibedakan menjadi antioksidan enzim, vitamin, dan senyawa lain. Antioksidan enzim berperan sebagai pertahanan utama (primer) dari dampak negatif radikal bebas. Senyawa tersebut, antara lain terdiri dari superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase. Antioksidan vitamin dan senyawa lain dikenal sebagai antioksidan sekunder atau disebut juga sebagai antioksidan nonenzim. Senyawa tersebut dapat diperoleh dari asupan bahan makanan. Antioksidan vitamin terdiri dari vitamin E, vitamin C, dan vitamin A, sedangkan antioksidan senyawa lain, salah satunya adalah flavonoid (Winarsi 2007: 21). Antioksidan seperti flavonoid banyak ditemukan pada tumbuhan. Antioksidan senyawa lain yang berasal dari tumbuhan umumnya merupakan senyawa fenol (Silalahi 2006: 48). Senyawa tersebut dan antioksidan vitamin menahan pembentukan radikal bebas dengan cara berikatan atau menangkap radikal bebas dan menginduksi status antioksidan enzim (Winarsi 2007: 21).

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan. Molekul tersebut bersifat sangat reaktif dan secara kimiawi bersifat tidak stabil (Underwood 1999: 119). Molekul tersebut di dalam tubuh dapat dengan cepat bereaksi dengan komponen seluler disekitarnya, seperti lipoprotein, lipid, protein, dan DNA, sehingga menyebabkan kerusakan struktur dan fungsi sel (Winarsi 2007: 18 & 19). Radikal bebas dapat berasal dari berbagai sumber, seperti dari polutan, obat-obatan (Denisov & Afanas'ev 2005: 693), dan zat toksik (Underwood 1999: 119), namun juga dapat berasal dari metabolisme normal (Seeley *et al.* 2002: 571). Pembentukan radikal bebas berlebih di dalam tubuh dapat menimbulkan berbagai macam penyakit, seperti penyakit kardiovaskular, kanker (Denisov & Afanas'ev 2005: 916), dan penyakit ginjal (Pallor *et al.* 1984: 189).

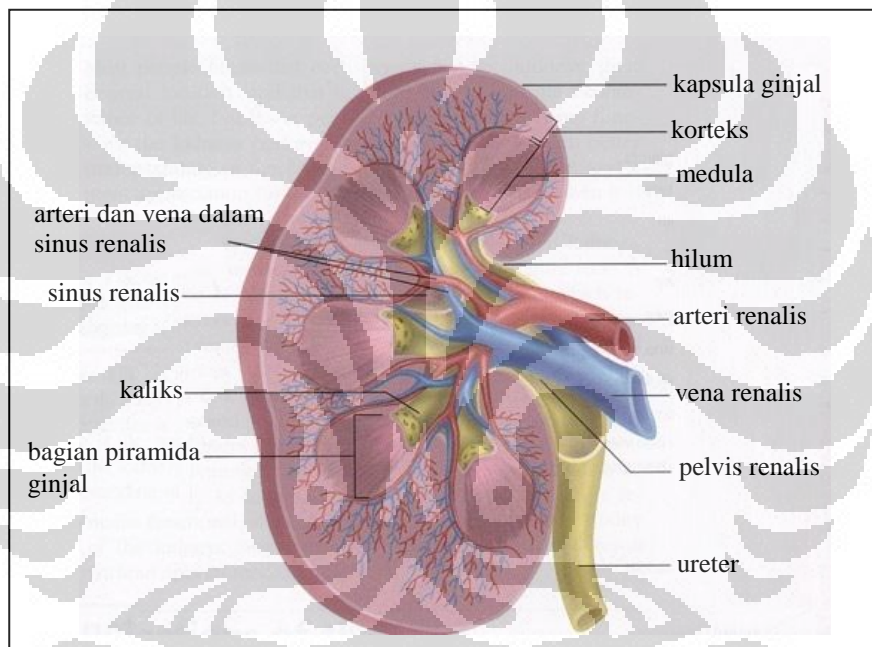
Antioksidan dapat menghambat kerusakan atau penyakit yang ditimbulkan oleh radikal bebas (Winarsi 2007: 20). Senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan diketahui dapat menghambat kerusakan ginjal yang diinduksi oleh gentamisin. Kerusakan tersebut berkaitan dengan pembentukan spesies oksigen reaktif (radikal bebas) di dalam ginjal (Makwana *et al.* 2012: 178 & 179). Menurut Ganie *et al.* (2010: 1677), ekstrak tumbuhan *Podophyllum hexandrum* yang memiliki aktivitas antioksidan kuat dapat berfungsi sebagai komponen pelindung ginjal dari dampak negatif radikal bebas yang disebabkan oleh zat toksik karbon tetraklorida (CCl₄). Aktivitas protektif ekstrak tersebut adalah melalui stabilisasi membran sel dan aktivasi antioksidan enzim, seperti enzim glutathion reduktase (GR), glutathion-S-transferase (GST), dan superoksida dismutase (SOD).

2.5. Ginjal

Ginjal merupakan salah satu organ dalam sistem uriner (Dellmann & Brown 1992: 411). Sistem uriner adalah sistem organ utama yang berperan dalam homeostasis air dan elektrolit, serta berperan dalam ekskresi sisa hasil metabolisme tubuh (Burkitt *et al.* 1995: 282). Sistem tersebut terdiri dari sepasang ginjal, sepasang ureter, serta kandung kemih dan uretra (Dellmann &

Brown 1992: 411). Fungsi utama sistem uriner dilakukan oleh ginjal, yaitu mengatur komposisi dan volume cairan tubuh (Seeley *et al.* 2002: 488).

Ginjal pada mamalia berjumlah sepasang, yang terletak dalam rongga abdomen retroperitoneal primer kiri dan kanan kolumna vertebralis. Ukuran ginjal kiri lebih panjang daripada ukuran ginjal kanan. Organ tersebut berbentuk menyerupai kacang yang sisi cekungnya menghadap ke medial (Setiadi 2007: 117). Sisi cekung pada bagian medial tersebut dinamakan hilum, yang merupakan tempat masuk pembuluh darah arteri renalis dan saraf, serta tempat keluar pembuluh darah vena renalis dan ureter (Gambar 2.5; Seeley *et al.* 2002: 488).



Gambar 2.5. Sayatan longitudinal ginjal
[Sumber: Seeley *et al.* 2002: 490, diterjemahkan sesuai aslinya]

2.5.1. Fungsi Ginjal

Ginjal memiliki peranan penting dalam mempertahankan homeostasis cairan tubuh. Hal tersebut disebabkan ginjal mengekskresikan sebagian besar produk akhir metabolisme tubuh (sisa metabolisme dan obat-obatan). Organ tersebut berperan dalam mengontrol sekresi hormon-hormon aldosteron dan ADH yang berperan dalam mengatur jumlah cairan tubuh. Ginjal juga mengatur metabolisme ion kalsium dan vitamin D, serta menghasilkan beberapa hormon,

seperti eritropoetin yang berfungsi dalam pembentukan sel darah merah dan renin yang berfungsi untuk mengatur tekanan darah (Setiadi 2007: 117).

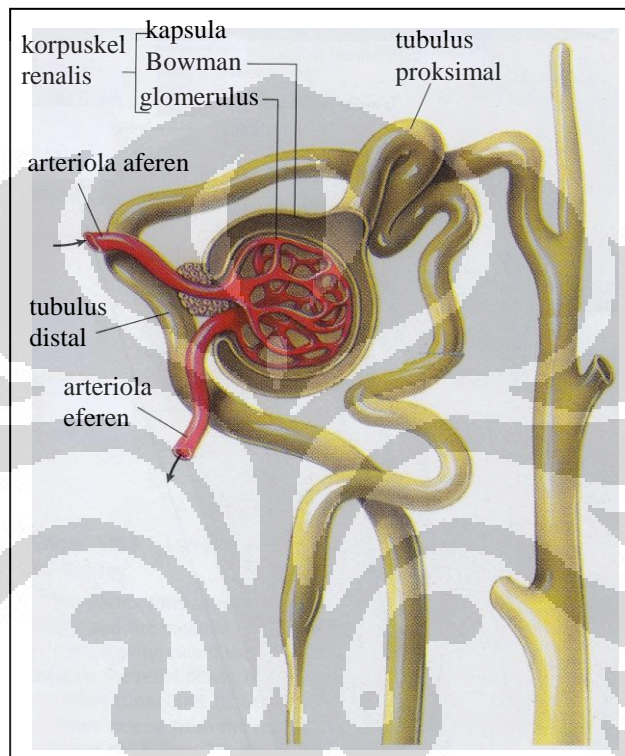
Salah satu mekanisme ginjal dalam mengatur komposisi dan volume cairan tubuh adalah dengan mengontrol volume darah. Sebagian besar volume darah mengalir melewati ginjal (Seeley *et al.* 2002: 488). Beberapa substansi dalam darah yang tidak dibutuhkan lagi oleh tubuh akan diseleksi oleh ginjal, kemudian dieksresikan dalam bentuk urin (Guyton & Hall 2006: 307). Urin mengandung beberapa komponen, yaitu air dan ion berlebih, sisa hasil metabolisme, seperti urea, dan substansi toksik yang masuk ke dalam tubuh melalui makanan. Urin yang dihasilkan oleh ginjal dialirkan menuju kandung kemih melalui ureter, lalu akan dikeluarkan dari tubuh melalui uretra. Tiga tahap penting dalam pembentukan urin tersebut dinamakan filtrasi, reabsorpsi, dan sekresi. Pengaturan volume urin yang dihasilkan oleh ginjal adalah mekanisme ginjal dalam mengontrol volume darah (Seeley *et al.* 2002: 488 & 495).

2.5.2. Histologi Ginjal

Setiap ginjal terdiri dari sekitar satu juta unit fungsional yang disebut nefron. Setiap nefron berawal sebagai suatu berkas kapiler, yang disebut glomerulus. Ginjal secara anatomis dibagi menjadi dua bagian, yaitu bagian sebelah luar, yang disebut korteks dan bagian sebelah dalam, yang disebut medula (Corwin 2000: 442). Korteks berwarna coklat kemerahan dan memiliki penampilan bergranul, sedangkan medula berwarna lebih cerah daripada korteks dan memiliki penampilan lurik (Rhoades & Tanner 1995: 419). Korteks mengandung semua kapiler glomerulus dan sebagian segmen tubulus pendek, sedangkan medula merupakan tempat terdapatnya sebagian besar segmen tubulus. Setiap tubulus pengumpul menyatu dengan tubulus-tubulus pengumpul lain untuk membentuk duktus yang lebih besar. Duktus pengumpul besar terletak di papila, yang termasuk bagian medula (Corwin 2000: 442--443).

Nefron terdiri dari dua komponen utama, yaitu korpuskel renalis dan tubulus renalis. Korpuskel renalis berperan dalam filtrasi plasma. Komponen tersebut merupakan kombinasi dari dua struktur, yaitu kapsula Bowman dan

glomerulus (Gambar 2.5.2), sedangkan tubulus renalis terbagi menjadi empat zona histo-fisiologik berlainan, yang masing-masing memiliki fungsi tubular yang berbeda. Empat zona histo-fisiologik tersebut adalah tubulus kontortus proksimal, ansa Henle, tubulus kontortus distal, dan tubulus koligen (Burkitt *et al.* 1995: 285).



Gambar 2.5.2. Korpuskel renalis
[Sumber: Seeley *et al.* 2002: 492, diterjemahkan sesuai aslinya]

Kapsula Bowman tersusun atas selapis sel epitel pipih yang terdapat di atas membran basal. Struktur tersebut membentuk ujung buntu tubulus renalis yang lebar. Glomerulus merupakan jalinan globular dari kapiler yang beranastomosis memasuki kapsula Bowman. Glomerulus dilapisi selapis sel epitel yang disebut podosit, yang membentuk lapisan viseral kapsula Bowman. Lapisan viseral tersebut terbentuk di sekitar segmen pembuluh darah glomerulus dan tersambung dengan lapisan parietal yang melapisi kapsula Bowman. Ruang di antara lapisan viseral dan lapisan parietal disebut ruang Bowman. Sejumlah air dan plasma dengan berat molekul kecil difiltrasi dari kapiler glomerulus ke ruang

Bowman. Sawar filtrasi di antara lumen kapiler dan ruang Bowman merupakan struktur yang terdiri dari endotel kapiler, lapisan podosit, dan membran basal glomerulus (Burkitt *et.al* 1995: 285).

Tubulus renalis berfungsi dalam reabsorpsi selektif air, ion anorganik, dan molekul lain dari filtrat glomerulus. Beberapa ion anorganik juga disekresi langsung dari darah ke lumen tubulus. Bagian tubulus renalis yang berperan penting dalam reabsorpsi adalah tubulus kontortus proksimal. Tubulus kontortus proksimal berperan dalam reabsorpsi sekitar 75% ion dan air dari filtrat glomerulus. Struktur tubulus tersebut berkelok dan panjang. Bagian akhir tubulus tersebut berbentuk lurus dan menurun menuju medula sebelum membentuk ansa Henle (Burkitt *et.al* 1995: 285).

2.5.3. Analisis Morfometri dan Kerusakan pada Ginjal

Ginjal adalah salah satu organ sasaran utama dari efek toksik. Hal tersebut disebabkan ginjal memiliki volume aliran darah yang tinggi, sehingga dapat mengkonsentrasikan toksikan pada filtrat di dalam tubuh, membawa toksikan melalui sel tubulus, dan mengaktifkan toksikan tertentu. Selain itu, urin yang dihasilkan oleh ginjal merupakan jalur utama ekskresi sebagian besar toksikan (Lu 1995: 224).

Ginjal membuang toksikan dari tubuh melalui mekanisme yang digunakan untuk membuang hasil akhir metabolisme. Mekanisme tersebut terdiri dari filtrasi glomerulus, difusi tubuler, dan sekresi tubuler. Kapiler glomerulus memiliki pori-pori yang besar (70 nm). Hal tersebut menyebabkan sebagian besar toksikan dapat melewati glomerulus dan mengalami absorpsi pasif di sel-sel tubuler. Oleh karena itu, setiap bagian nefron, seperti glomerulus secara potensial dapat dirusak oleh efek toksikan. Kerusakan yang ditimbulkan oleh toksikan dapat beragam, mulai dari perubahan biokimia atau sampai kematian sel (Lu 1995: 23 & 224). Kerusakan pada glomerulus umumnya berupa nekrosis (Olagunju 2009: 14), yang disebut juga kematian sel (Underwood 1999: 120).

Bagian dalam ginjal yang paling rentan terhadap efek toksikan adalah tubulus kontortus proksimal. Hal tersebut disebabkan absorpsi dan sekresi aktif

yang terjadi di dalam tubulus tersebut. Selain itu, kadar sitokrom P-450 pada tubulus kontortus proksimal lebih tinggi untuk mendetoksifikasi atau mengaktifkan toksikan. Logam berat, seperti merkuri, kromium, kadmium, dan timbal, dapat mengubah fungsi tubulus yang ditandai dengan glikosuria, aminoasiduria, dan poliuria (Lu 1995: 228). Bentuk kerusakan sel tubulus proksimal dapat berupa penutupan lumen tubulus (Olagunju *et al.* 2009: 14).

Perubahan histologi ginjal akibat toksikan dapat diukur dengan menggunakan metode analisis morfometri. Analisis tersebut bertujuan untuk mengetahui seberapa besar kerusakan ginjal yang disebabkan oleh toksikan. Analisis morfometri ginjal dalam penelitian Agungpriyono (2008: 174) tentang uji histopatologi hati dan ginjal mencit yang diberikan ekstrak pauh kijang (*Irvingia malayana*) dilakukan pada sel-sel glomerulus dan sel-sel epitel tubulus. Analisis tersebut berupa penghitungan jumlah rata-rata sel yang mengalami kerusakan (lesio) dan jumlah rata-rata sel normal. Selain itu, Patera *et.al* (2006: 208) dalam penelitiannya tentang morfometri dan abnormalitas fungsi ginjal pada anak mencit yang diberi cokelat selama masa kehamilan dan laktasi, melakukan analisis morfometri dengan menentukan total area korteks, jumlah sel-sel glomerulus, dan diameter glomerulus.

2.6. Karbon Tetraklorida

Karbon tetraklorida (CCl₄) merupakan salah satu senyawa hidrokarbon alifatik halogen (Jeyaratnam & Koh 2009: 223). Senyawa tersebut dalam bidang industri digunakan, antara lain sebagai pelarut minyak dan sebagai bahan pembersih mesin (Fishbein 1979: 218). Karbon tetraklorida yang masuk ke dalam tubuh dapat menyebabkan berbagai macam kerusakan. Kerusakan tersebut dimulai dari proses yang terjadi di dalam retikulum endoplasma (Jeyaratnam & Koh 2009: 223). Karbon tetraklorida akan membentuk radikal triklorometil yang terikat secara kovalen pada protein dan lipid tak jenuh, sehingga dapat menyebabkan peroksidasi lipid. Reaksi awal tersebut akan diikuti oleh gangguan pada berbagai komponen sel di dalam tubuh (Lu 1995: 37--38).

Karbon tetraklorida umumnya menyebabkan efek toksik pada hati. Namun, senyawa tersebut juga dapat menyebabkan efek toksik pada ginjal, terutama pada tubulus kontortus proksimal. Selain itu, karbon tetraklorida dalam dosis tinggi dapat menyebabkan perubahan morfologi pada bagian nefron yang lain (Lu 1995: 228).

2.7. Mencit (*Mus musculus*)

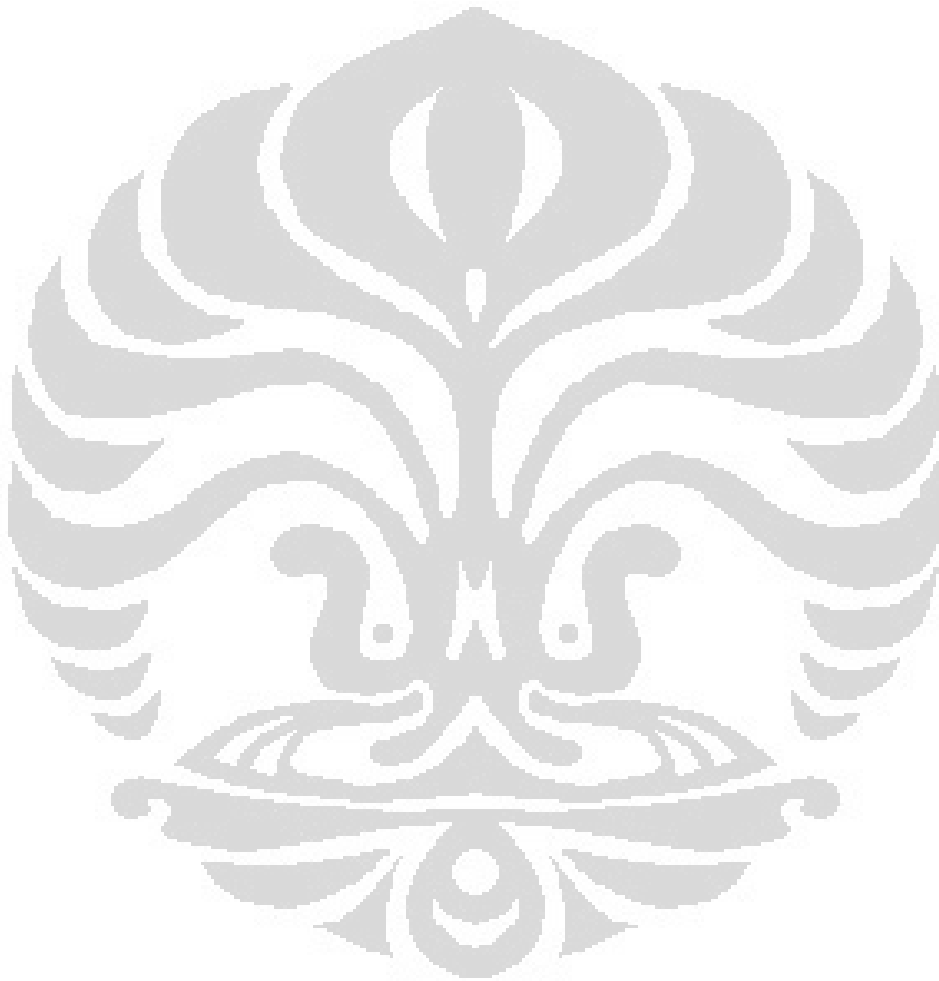
Mencit (*Mus musculus*) merupakan kelompok mamalia yang termasuk dalam ordo rodentia dan famili Muridae (Linzey & Brecht 2005: 2). Hewan tersebut hidup berkelompok dan memiliki kebiasaan aktif pada malam hari (Linzey & Brecht 2005: 3; UACC 2009: 2). Mencit memiliki tubuh yang panjang dan ramping, dan memiliki ekor meruncing yang sedikit ditutupi oleh rambut dan sisik (Gambar 2.7; Linzey & Brecht 2005: 1). Mencit jantan dewasa memiliki berat tubuh sebesar 25--40 g, sedangkan mencit betina dewasa memiliki berat tubuh sebesar 20--40 g (UACC 2009: 2).



Gambar 2.7. Mencit (*Mus musculus*) jantan galur DDY
[Sumber: Dokumentasi pribadi.]

Mencit sering digunakan sebagai hewan percobaan dalam laboratorium, terutama percobaan tentang uji toksisitas. Hewan lain yang sering digunakan dalam percobaan laboratorium adalah tikus. Kedua hewan tersebut sering digunakan karena mudah didapat, ekonomis, dan mudah dipelihara. Namun berdasarkan nilai ekonomis, penggunaan mencit sebagai hewan percobaan lebih

banyak dipilih. Hal tersebut disebabkan penggunaan hewan yang berukuran lebih besar seperti tikus, membawa konsekuensi biaya yang besar. Selain itu, penggunaan tikus sebagai suatu model patologik sering tidak relevan karena sulit untuk menyamakan keadaan patologi tikus dengan patologi manusia (Harmita & Radji 2004: 51). Mencit sebagai hewan percobaan dapat memberikan gambaran secara ilmiah yang mungkin terjadi pada manusia (Sihombing & Raflizar 2010: 33).



BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di tiga lokasi, yaitu Laboratorium Biologi Perkembangan, Laboratorium Mikroteknik, dan Rumah Hewan Departemen Biologi, FMIPA-UI, Depok. Penelitian dilakukan selama delapan bulan, mulai dari bulan Juli 2011 hingga Februari 2012. Waktu tersebut diperpanjang dari enam bulan menjadi delapan bulan untuk melengkapi analisis data mikroskopik.

3.2. Bahan

3.2.1. Isoeugenol

Isoeugenol yang digunakan dalam penelitian adalah *trans*-isoeugenol yang disintesis dari eugenol minyak cengkeh. Senyawa tersebut berbentuk cairan kental berwarna kuning pucat dengan volume sebanyak 30 mL, 0,197 mol, dan kemolaran sebesar 5,93 molar. Isoeugenol direaksikan menjadi dimer isoeugenol, sehingga berbentuk kristal berwarna kuning. Isoeugenol diperoleh dari Departemen Kimia FMIPA-UI.

3.2.2. Sawi Hijau (*Brassica juncea*)

Tanaman sawi hijau yang digunakan dalam penelitian adalah tanaman yang masih segar dengan kisaran umur siap panen (\pm 2 bulan). Sawi hijau digunakan dalam penelitian sebagai sumber enzim peroksidase. Bagian tanaman yang digunakan adalah batang. Bagian batang dipilih karena memiliki kandungan enzim peroksidase (terutama dalam bentuk isoform) yang lebih banyak daripada bagian lainnya (Magliano & Casal 1998: 1492). Tanaman sawi hijau diperoleh dari Pasar Tradisional Kemiri Muka, Depok.

3.2.3. Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) jantan galur DDY sebanyak 30 ekor, berumur sekitar 2--3 bulan dengan berat 20--30 g. Mencit diperoleh dari Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH), Jl. Pembangunan, Gunung Sindur, Bogor, Jawa Barat.

3.2.4. Makanan dan Minuman Mencit (*Mus musculus*)

Makanan mencit berupa pelet yang diperoleh dari CV Kasman, Jl. Bentengan Blok C1 No. 8, Sunter Jaya, Jakarta Utara. Komposisi pakan mencit dapat dilihat pada tabel 3.2.4. Minuman mencit berupa air matang yang dimasukkan ke dalam botol tempat minum dan diletakkan pada kawat penutup kandang.

Tabel 3.2.4. Komposisi pakan mencit

Bahan dasar pakan mencit
Bungkil kedelai
Bungkil kelapa
Tepung ikan
Jagung
Dedak
Tapioka
Menir
Tepung rumput
Minyak kelapa

Analisis proksimat pakan mencit	Persentase setiap 100 g (%)
Protein	20--22
Lemak	2--4
Serat kasar	4
Kadar abu	7--9

[Sumber: CV. Kasman, Jl. Bentengan Blok C1 No. 8, Sunter Jaya, Jakarta Utara]

3.2.5. Bahan Kimia dan Habis Pakai

Etil asetat ($\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$), hidrogen peroksida (H_2O_2) 30%, larutan buffer fosfat pH 7,4 [Merck], natrium sulfat anhidrat (Na_2SO_4 anhidrat) [Merck], minyak zaitun [Borges], karbon tetraklorida (CCl_4) [Merck], larutan Bouin, natrium klorida (NaCl) 0,9% [Merck], alkohol 70% [AMS], alkohol 96% [AMS], alkohol 100% [Merck], benzil benzoat [Merck], benzol [Merck], parafin, spiritus, albumin Mayer, akuades, xilol, Hematoksin Bohmer 1%, Eosin Y 1%, entelan [Merck], desinfektan [Bayclin], dan sabun cuci [Mama Lemon].

3.3. Peralatan

3.3.1. Peralatan Pemeliharaan Mencit (*Mus musculus*)

Kandang mencit berupa bak plastik berukuran (30 x 20 x 10) cm^3 yang diberi serutan kayu sebagai alas, tutup kandang yang terbuat dari anyaman kawat dengan jarak anyaman 0,5--1 cm, tempat makanan, botol gelas minuman [You C1000], timbangan [OHAUS GT 4000], *Exhaust fan* [National W-100], lampu [Philips], dan pengatur cahaya.

3.3.2. Peralatan Pembuatan Larutan Dimer Isoeugenol dan Larutan Karbon Tetraklorida

Blender [Philips], cawan porselen, kain katun, gelas beker 10 ml, 100 ml, dan 1000 ml [Schott Duran], gelas ukur 15 ml dan 50 ml [Pyrex], labu erlenmeyer 200 ml [Pyrex], mesin sentrifugasi, tabung sentrifugasi, corong pisah [Pyrex], batang pengaduk, kertas saring Whatman, corong kaca [Pyrex], spatula, timbangan analitik [Percisa], *magnetic stirrer* beserta pemanas [Cole Parmer Instrument Company], magnet pengaduk, dan mikro pipet 0,5 μl .

3.3.3. Peralatan Pemberian Larutan Dimer Isoeugenol dan Larutan Karbon Tetraklorida

Sonde lambung (*gavage needle*) dan *disposable syringe* 1 ml [Terumo].

3.3.4. Peralatan Pembedahan dan Pembuatan Sediaan Histologi Ginjal

Dissecting set, papan bedah, botol film, oven [Lab. Line Instrument], inkubator [Sakura], pisau *cutter*, kayu, spatula, pembakar spiritus, silet [Goal], kuas kecil, mikrotom putar [American Optical], *hot plate* [Sakura], gelas obyek [Sail Brand], kaca penutup [Sail Brand], *staining jar*, dan kotak preparat yang terbuat dari kayu.

3.3.5. Peralatan Pengamatan Sediaan Histologi Ginjal

Mikroskop cahaya [Nikon], kamera digital [Canon IXUS 115], mikrometer obyektif, *microprojector* [Ken A Vision], penggaris, dan alat tulis [Faber Castell].

3.4. Cara kerja

3.4.1. Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan bersifat eksperimental dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Penelitian tersebut terdiri atas enam kelompok perlakuan, dan setiap kelompok perlakuan terdiri atas lima ulangan. Jumlah ulangan ditentukan berdasarkan rumus Frederer, yaitu $(t-1)(n-1) = 15$, dengan (t) adalah jumlah perlakuan dan (n) adalah jumlah ulangan (*lihat Cahyaningsih 2010: 17*). Kelompok-kelompok perlakuan yang dilaksanakan dalam penelitian adalah:

- Kelompok kontrol 1 (KK1), yaitu kelompok mencit yang diberikan minyak zaitun sebanyak 10 ml/kg bb secara oral selama tujuh hari berturut-turut. Dua jam setelah pemberian minyak zaitun hari ke-7 secara oral, mencit diinjeksi

dengan minyak zaitun secara intraperitoneal, lalu 48 jam setelah injeksi dilakukan pembedahan.

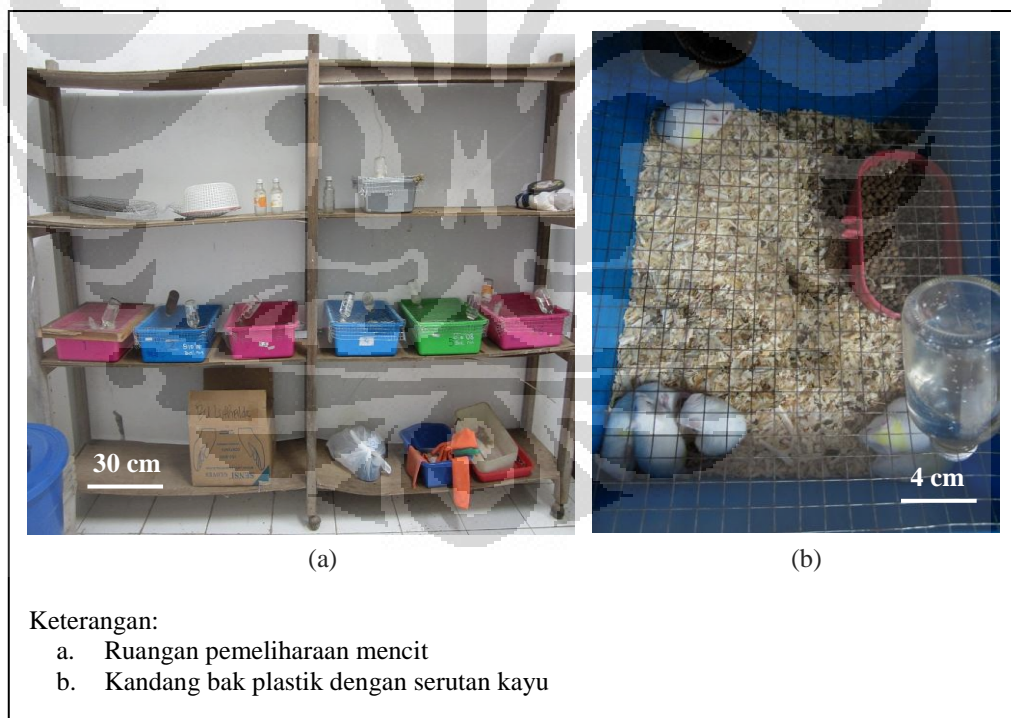
- b. Kelompok kontrol 2 (KK2), yaitu kelompok mencit yang diberikan minyak zaitun sebanyak 10 ml/kg bb secara oral selama tujuh hari berturut-turut. Dua jam setelah pemberian minyak zaitun hari ke-7, mencit diinjeksi dengan 400 mg/kg bb larutan karbon tetraklorida secara intraperitoneal, lalu 48 jam setelah injeksi dilakukan pembedahan.
- c. Kelompok perlakuan 1 (KP1), yaitu kelompok mencit yang diberikan 2 mg/kg bb larutan dimer isoeugenol secara oral selama tujuh hari berturut-turut. Dua jam setelah pemberian dosis hari ke-7, mencit diinjeksi dengan 400 mg/kg bb larutan karbon tetraklorida secara intraperitoneal, lalu 48 jam setelah injeksi dilakukan pembedahan.
- d. Kelompok perlakuan 2 (KP2), yaitu kelompok mencit yang diberikan 4 mg/kg bb larutan dimer isoeugenol secara oral selama tujuh hari berturut-turut. Dua jam setelah pemberian dosis hari ke-7, mencit diinjeksi dengan 400 mg/kg bb larutan karbon tetraklorida secara intraperitoneal, lalu 48 jam setelah injeksi dilakukan pembedahan.
- e. Kelompok perlakuan 3 (KP3), yaitu kelompok mencit yang diberikan 6 mg/kg bb larutan dimer isoeugenol secara oral selama tujuh hari berturut-turut. Dua jam setelah pemberian dosis hari ke-7, mencit diinjeksi dengan 400 mg/kg bb larutan karbon tetraklorida secara intraperitoneal, lalu 48 jam setelah injeksi dilakukan pembedahan.
- f. Kelompok perlakuan 4 (KP4), yaitu kelompok mencit yang diberikan 8 mg/kg bb larutan dimer isoeugenol secara oral selama tujuh hari berturut-turut. Dua jam setelah pemberian dosis hari ke-7, mencit diinjeksi dengan 400 mg/kg bb larutan karbon tetraklorida secara intraperitoneal, lalu 48 jam setelah injeksi dilakukan pembedahan.

3.4.2. Pemeliharaan Mencit (*Mus musculus*)

Tiga puluh ekor mencit jantan dipelihara dalam kandang bak plastik yang diberikan serutan kayu sebagai alasnya. Serutan kayu tersebut berfungsi untuk

alas tidur dan untuk menyerap kotoran mencit agar kandang selalu kering (Gambar 3.4.2). Kandang mencit dibersihkan setiap dua kali seminggu atau setiap telah tercium bau amoniak dari kandang tersebut. Kandang dibersihkan dengan cara direndam dalam desinfektan, kemudian dicuci dengan sabun cuci hingga bersih.

Setiap kandang berisi enam ekor mencit yang mewakili enam kelompok perlakuan, yaitu KK1, KK2, KP1, KP2, KP3, dan KP4. Masing-masing mencit diberi tanda pada anggota tubuh yang berbeda untuk setiap kelompok perlakuan. Pemberian tanda pada anggota tubuh mencit dilakukan dengan menggunakan larutan pikrat 10% (Harmita & Radji 2004: 77). Mencit diadaptasikan selama satu minggu atau sampai berat badan konstan. Makanan dan minuman diberikan secara *ad libitum* (tanpa batas). Makanan diletakkan dalam mangkuk makanan di dalam kandang, sedangkan minuman diletakkan dalam botol minuman yang ditelungkupkan pada kawat penutup kandang.



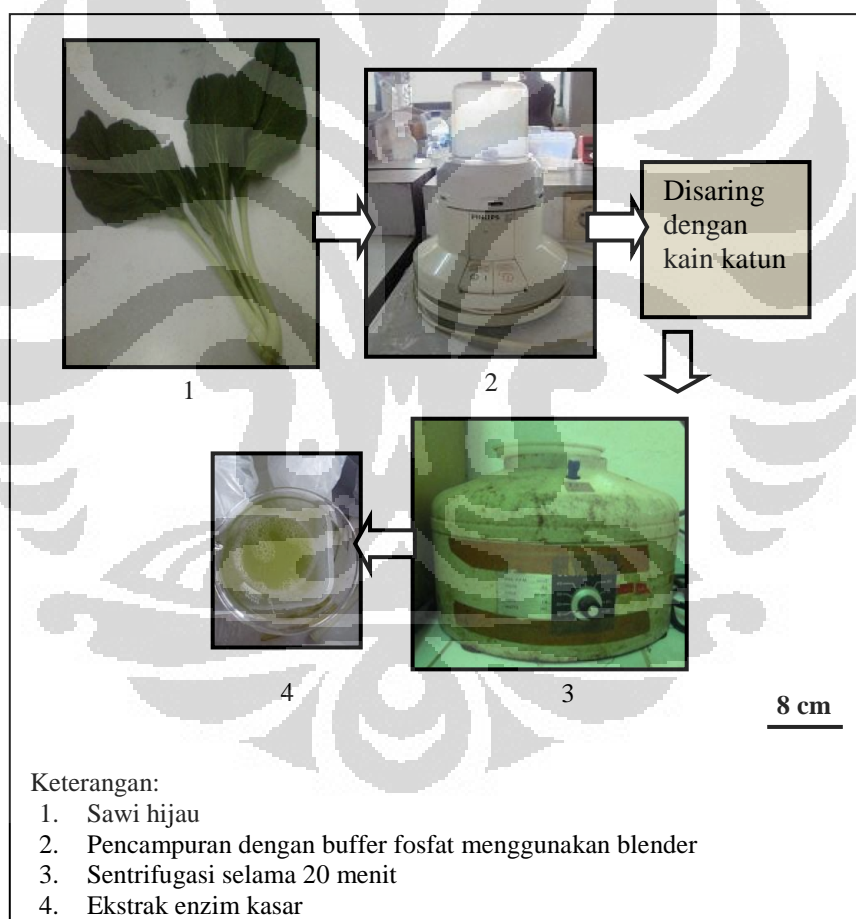
Gambar 3.4.2. Pemeliharaan mencit
[Sumber: Dokumentasi pribadi.]

3.4.3. Pembuatan Larutan Dimer Isoeugenol

3.4.3.1. Isolasi Enzim Peroksidase dari Tumbuhan Sawi Hijau (*Brassica juncea*)

Sebanyak 250 g batang sawi hijau segar dalam larutan buffer fosfat pH 7,0 dalam keadaan dingin (0--5°C) dihaluskan dengan menggunakan blender.

Campuran batang sawi yang telah halus disaring dengan kain katun, kemudian filtrat yang diperoleh disentrifugasi dengan kecepatan 1100 rpm selama 20 menit untuk memisahkan molekul enzim kasar dan serpihan sel (Gambar 3.4.3.1; Yuda 2007: 35).

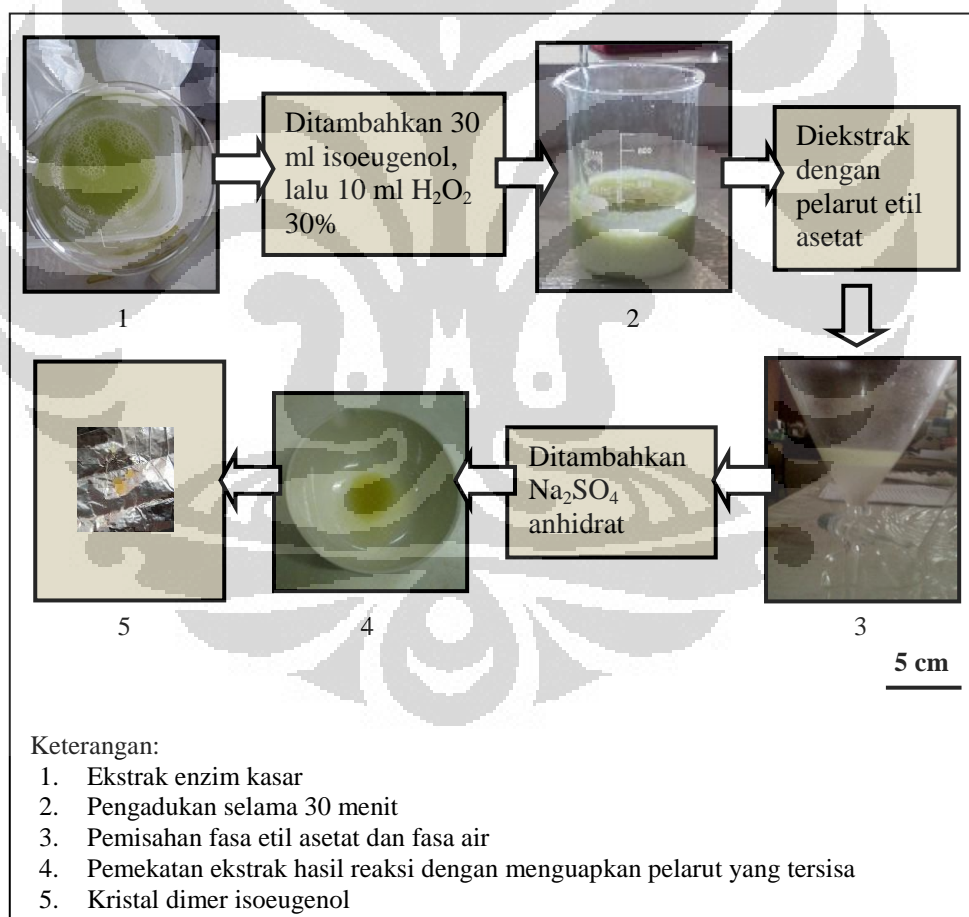


Gambar 3.4.3.1. Isolasi enzim peroksidase dari tumbuhan sawi hijau (*Brassica juncea*)

[Sumber: Dokumentasi pribadi.]

3.4.3.2. Isolasi Dimer Isoeugenol yang Dikatalisis oleh Enzim Peroksidase

Sebanyak 300 ml ekstrak enzim kasar dengan 30 ml isoeugenol ditambahkan 10 ml H₂O₂ 30%. Reaksi dilakukan dengan pengadukan selama 30 menit hingga terbentuk produk berwarna. Produk berwarna tersebut kemudian diekstrak dengan menggunakan pelarut etil asetat. Hasil ekstraksi yang didapat akan membentuk fasa etil asetat dan fasa air. Fasa etil asetat kemudian dipisahkan dari fasa air. Air yang masih tersisa dihilangkan dengan menambahkan Na₂SO₄ anhidrat, kemudian ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan cara menguapkan pelarutnya. Senyawa hasil reaksi (dimer isoeugenol) yang didapat kemudian ditimbang (Gambar 3.4.3.2; Yuda 2007: 38).



Gambar 3.4.3.2. Isolasi dimer isoeugenol yang dikatalisis oleh enzim peroksidase

[Sumber: Dokumentasi pribadi.]

3.4.3.3. Pembuatan Larutan Dimer Isoeugenol dengan Pelarut Minyak Zaitun

Sebanyak 80 mg senyawa dimer yang berbentuk padatan dilarutkan dalam 100 ml minyak zaitun dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Larutan yang terbentuk merupakan larutan untuk dosis 8 mg/kg bb. Sebanyak 50 ml larutan dosis 8 mg/kg bb tersebut kemudian dituangkan ke dalam gelas beker ukuran 100 ml, lalu ditambahkan 50 ml minyak zaitun dan kembali diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Larutan yang didapat merupakan larutan untuk dosis 4 mg/kg bb. Dosis 2 mg/kg bb didapatkan dengan langkah yang sama, yaitu dengan penambahan 50 ml minyak zaitun ke dalam 50 ml larutan dosis sebelumnya, sedangkan untuk mendapatkan dosis 6 mg/kg bb, dilakukan dengan melarutkan 60 mg senyawa dimer dalam 100 ml minyak zaitun.

3.4.4. Pembuatan Larutan Karbon Tetraklorida

Larutan karbon tetraklorida dosis 400 mg/kg bb sebanyak 10 ml dibuat dengan cara memasukkan 0,25 ml karbon tetraklorida ke dalam gelas beker ukuran 10 ml, kemudian ditambahkan minyak zaitun hingga mencapai volume 10 ml.

3.4.5. Perlakuan terhadap Mencit (*Mus musculus*)

Perlakuan larutan dimer isoeugenol terhadap mencit KP1, KP2, KP3, dan KP4 diberikan secara oral dengan menggunakan jarum cekok (Gambar 3.4.5). Pemberian larutan dimer isoeugenol atau minyak zaitun disesuaikan dengan berat badan mencit, yaitu 10 ml/kg bb. Larutan dimer isoeugenol atau minyak zaitun dicekikkan selama tujuh hari berturut-turut. Penyuntikkan larutan karbon tetraklorida atau minyak zaitun secara intraperitoneal dilakukan dua jam setelah pemberian dosis hari ke-7.



Gambar 3.4.5. Perlakuan secara oral terhadap mencit
[Sumber: Dokumentasi pribadi.]

3.4.6. Pembedahan dan Pembuatan Sediaan Histologi Ginjal

Pembedahan dilakukan untuk mengisolasi ginjal mencit yang berada di dalam rongga abdomen retroperitoneal primer kiri dan kanan kolumna vertebralis (Setiadi 2007: 117). Mencit diterminasi dengan cara dislokasi *cervicalis vertebra*, kemudian dibedah menggunakan *dissecting set* untuk mengisolasi ginjal. Ginjal yang telah diisolasi dicuci dengan NaCl 0,9%, lalu ditimbang dan diamati warnanya. Ginjal kemudian diproses untuk pembuatan sediaan (preparat) histologi. Pembuatan preparat histologi ginjal dilakukan dengan menggunakan metode parafin.

Urutan kerja pembuatan sediaan histologi ginjal dengan metode parafin, yaitu:

a. Fiksasi

Ginjal yang telah diisolasi dan telah dicuci dengan larutan NaCl 0,9%, dimasukkan ke dalam botol film yang berisi larutan Bouin (Suntoro1983: 49). Setiap botol film diberi label berdasarkan kelompok mencit. Ginjal direndam selama 24 jam di dalam larutan Bouin, kemudian setelah 24 jam, ginjal diiris di bagian tengah secara *cross section*, sehingga menjadi dua bagian.

b. Pencucian, dehidrasi, dan penjernihan

Ginjal yang telah direndam dalam larutan Bouin selama 24 jam dipindahkan ke dalam alkohol 70%, lalu didiamkan selama 2 jam (pencucian). Setelah itu, ginjal direndam dalam alkohol 96% dan 100% masing-masing selama 2 jam untuk dehidrasi (Suntoro 1983: 49). Setelah direndam dalam alkohol konsentrasi bertingkat, ginjal direndam dalam larutan benzil benzoat selama 24 jam untuk penjernihan (*clearing*). Setelah 24 jam, ginjal direndam dalam larutan benzol I dan II, masing-masing selama 15 menit.

c. Infiltrasi parafin dan penanaman

Setelah selesai direndam dalam benzol II, ginjal dimasukkan dalam parafin cair dan diletakkan dalam oven dengan suhu 68°C sebanyak dua kali, masing-masing selama 60 menit. Setelah infiltrasi parafin selesai, selanjutnya ginjal dimasukkan (ditanam) ke dalam kotak persegi panjang yang berisi parafin cair baru, dengan posisi irisan ginjal menghadap ke bawah, lalu ditunggu hingga parafin mengeras (Suntoro 1983: 54 & 57).

d. Penyayatan dan penempelan

Ginjal yang berada dalam parafin yang telah mengeras dilekatkan ke ujung kayu (*holder*) dengan posisi irisan menghadap ke depan. Parafin berisi ginjal tersebut, selanjutnya disayat menggunakan mikrotom dengan ketebalan 7 mikrometer. Hasil penyayatan tersebut adalah berupa pita-pita halus. Pita-pita halus berisi jaringan, lalu ditempelkan pada gelas obyek yang telah diolesi albumin Mayer dan ditetesi akuades secukupnya. Gelas obyek kemudian diletakkan di atas *hot plate* (meja pemanas) dengan suhu 47°C hingga pita-pita jaringan mengembang, lalu akuades yang tersisa diserap dengan tisu (Suntoro 1983: 61, 65, 67, & 68). Gelas obyek tersebut kemudian diberi label sesuai dengan kelompok mencit.

e. Deparafinasi, pewarnaan, dan penutupan

Pita-pita berisi jaringan yang telah merekat pada gelas obyek direndam dalam xilol I dan xilol II, masing-masing selama 3 menit untuk deparafinasi. Sediaan tersebut selanjutnya direndam dalam alkohol 100%, 96%, dan 70% masing-masing selama 3 menit, lalu dibiarkan di bawah air mengalir selama 4 menit. Sediaan kemudian diberi pewarnaan Hematoksilin Eosin. Sediaan

direndam dalam larutan pewarna Hematoksilin Bohmer 1% dalam *staining jar* selama 7 menit. Setelah direndam dalam larutan Hematoksilin, sediaan dicuci dengan air mengalir sampai berwarna biru, lalu dicelupkan dalam larutan Eosin Y 1 % selama 3 menit. Sediaan selanjutnya dicelupkan dalam alkohol konsentrasi bertingkat, yaitu 70%, 96%, dan 100% masing-masing selama 1--3 menit. Setelah direndam dalam alkohol konsentrasi bertingkat, sediaan direndam kembali dalam larutan xilol I dan xilol II, masing-masing selama 3 menit. Xilol dan kotoran yang tersisa pada sediaan dibersihkan dengan tisu, lalu di atas pita jaringan diberi satu atau dua tetes entelan, kemudian ditutup dengan kaca penutup. Sediaan dibiarkan mengering pada suhu kamar (Suntoro 1983: 69--72).

3.4.7. Pengamatan Makroskopik dan Mikroskopik terhadap Ginjal

Pengamatan kerusakan ginjal dilakukan secara makroskopik dan mikroskopik. Pengamatan makroskopik dilakukan dengan cara mengamati warna dan menimbang berat basah ginjal. Pengamatan mikroskopik dilakukan dengan mengukur diameter glomerulus, diameter kapsula Bowman, jarak ruang antara kapsula Bowman dan glomerulus (ruang Bowman), dan menghitung jumlah tubulus proksimal yang menutup pada setiap 5 lapangan pandang berbeda (empat sudut atas dan bawah, serta bagian tengah) pada perbesaran 400 kali (10 x 40).

Pengukuran diameter dilakukan dengan menggunakan mikroprojektor yang telah dikalibrasi dengan mikrometer obyektif, sedangkan penghitungan jumlah tubulus proksimal yang menutup dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya. Setiap unit perlakuan dibuat 3 sediaan. Pengukuran diameter dilakukan pada 50 kapsula Bowman, sedangkan penghitungan jumlah tubulus proksimal yang menutup dilakukan pada 5 sayatan, kemudian dihitung rata-rata yang didapat.

3.4.8 Pengolahan dan Analisis Data

Pengolahan dan analisis data dilakukan dengan pendekatan statistik terhadap data berat basah ginjal, diameter glomerulus, diameter kapsula Bowman,

jarak ruang antara kapsula Bowman dan glomerulus (ruang Bowman), dan jumlah tubulus proksimal yang menutup. Data tersebut diolah dengan menggunakan program komputer *Statistical Package for Social Science (SPSS) 16.0 for Windows*. Data tersebut diuji normalitasnya dengan uji normalitas Shapiro-Wilk dan diuji homogenitasnya dengan uji Levene. Jika data tersebut berdistribusi normal dan bervariasi homogen, maka selanjutnya diuji dengan uji statistik parametrik. Namun, jika data tersebut berdistribusi tidak normal dan bervariasi tidak homogen, maka selanjutnya diuji dengan uji statistik nonparametrik (Ngatidjan 1991: 85).

Data rata-rata diameter kapsula Bowman, rata-rata diameter ruang Bowman, dan rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup diketahui berdistribusi normal dan bervariasi homogen. Oleh karena itu, selanjutnya dilakukan uji statistik parametrik Analisis Variansi (Anava). Uji tersebut dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang nyata pengaruh faktor perlakuan terhadap rata-rata diameter kapsula Bowman, rata-rata diameter ruang Bowman, dan rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup antarkelompok perlakuan (Mursyidi 1985: 69).

Data rata-rata diameter glomerulus diketahui berdistribusi tidak normal dan bervariasi tidak homogen, sedangkan data rata-rata berat basah ginjal diketahui berdistribusi tidak normal, namun bervariasi homogen. Oleh karena itu, selanjutnya dilakukan uji statistik nonparametrik Kruskal-Wallis untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang nyata pada rata-rata diameter glomerulus dan rata-rata berat basah ginjal antarkelompok perlakuan (McDonald 2009: 1). Jika terdapat perbedaan yang nyata pada data tersebut, maka selanjutnya dilakukan uji Mann-Whitney U (Scholbach 1999: 560).

BAB 4

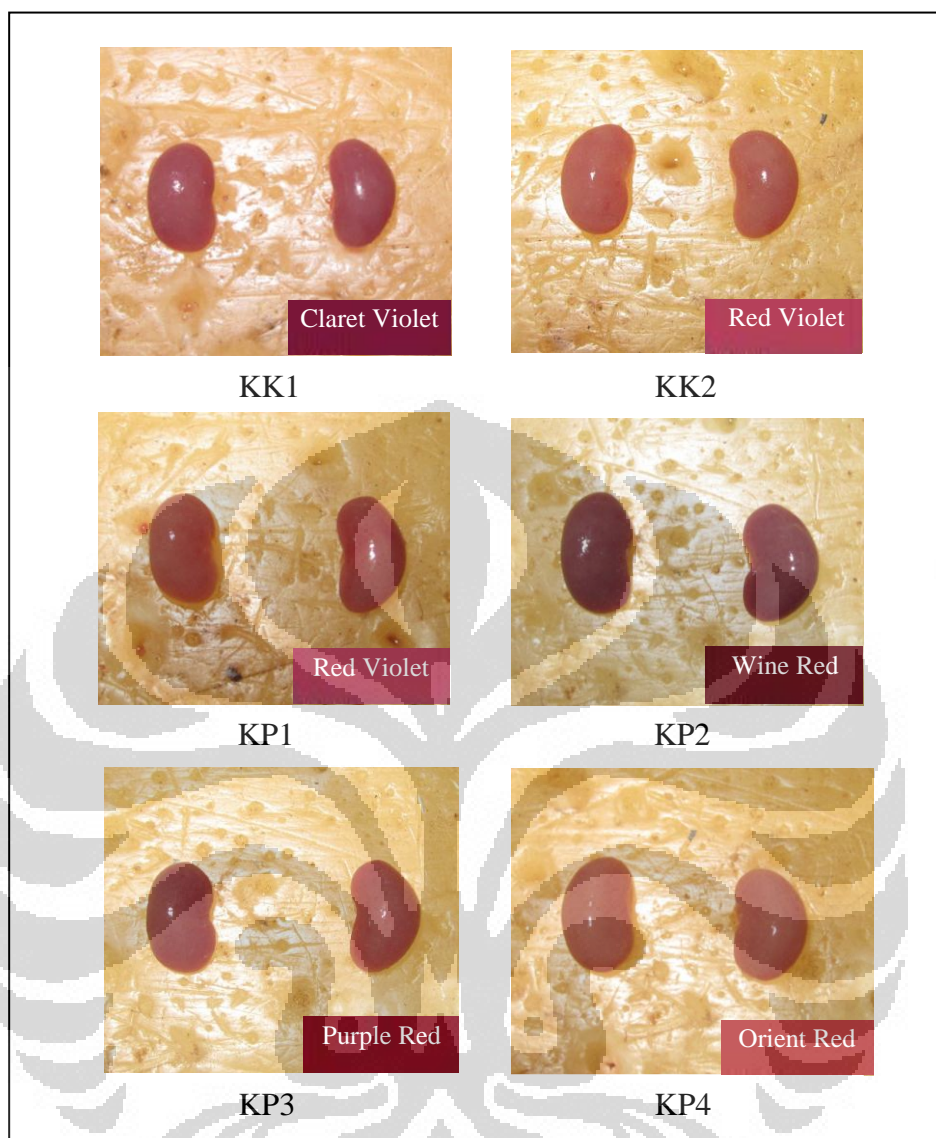
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil

4.1.1. Hasil Pengamatan Makroskopik Ginjal

4.1.1.1. Hasil Pengamatan terhadap Warna Ginjal

Pengamatan terhadap warna ginjal menunjukkan ginjal kelompok kontrol 1 atau kelompok kontrol normal (KK1), yang hanya diberi minyak zaitun tampak berwarna merah anggur (*claret violet*). Ginjal kelompok kontrol 2 atau kelompok kontrol kerusakan (KK2), yang hanya diberi karbon tetraklorida tampak berwarna merah ungu muda (*red violet*) dan sedikit pucat. Warna ginjal kelompok kontrol 1 tampak lebih tua daripada warna ginjal kelompok kontrol 2. Ginjal kelompok perlakuan 1 (KP1), yang diberi dimer isoeugenol dosis 2 mg/kg bb tampak berwarna merah ungu muda (*red violet*). Warna tersebut serupa dengan warna ginjal kelompok kontrol 2. Ginjal kelompok perlakuan 2 (KP2) dan kelompok perlakuan 3 (KP3), yang diberi dimer isoeugenol dosis 4 mg/kg bb dan 6 mg/kg bb tampak berwarna merah tua (*wine red*) dan merah ungu tua (*purple red*), sedangkan ginjal kelompok perlakuan 4 (KP4), yang diberi dimer isoeugenol dosis 8 mg/kg bb tampak berwarna merah pucat (*orient red*). Warna ginjal kelompok perlakuan 4 tampak lebih muda daripada kelompok kontrol 2 dan kelompok perlakuan 1 (Gambar 4.1.1.1).



Gambar 4.1.1.1. Warna ginjal menciut setiap kelompok perlakuan
[Sumber standar warna: Westwood Security Shutters 2012: 2]

4.1.1.2. Hasil Pengamatan terhadap Rata-rata Berat Basah Ginjal

Data rata-rata berat basah ginjal dapat dilihat pada tabel 4.1.1.2 dan gambar 4.1.1.2. Hasil uji normalitas Shapiro-Wilk ($\alpha > 0,05$) menunjukkan bahwa data rata-rata berat basah ginjal tidak berdistribusi normal, meskipun telah dikonversi dalam bentuk akar dan logaritma (Lampiran 3). Uji homogenitas Levene ($\alpha > 0,05$) menunjukkan bahwa data rata-rata berat basah ginjal bervariasi homogen (Lampiran 4). Data rata-rata berat basah ginjal tidak

berdistribusi normal, sehingga uji parametrik Anava tidak dilakukan. Oleh karena itu, selanjutnya data tersebut diuji dengan uji nonparametrik Kruskal-Wallis. Hasil uji Kruskal-Wallis ($\alpha < 0,05$) menunjukkan bahwa rata-rata berat basah ginjal pada setiap kelompok perlakuan tidak berbeda nyata, yang berarti tidak terdapat pengaruh pemberian dimer isoeugenol terhadap rata-rata berat basah ginjal (Lampiran 5).

Tabel 4.1.1.2. Data rata-rata berat basah ginjal

Ulangan	Rata-rata berat basah ginjal (g)					
	KK1	KK2	KP1	KP2	KP3	KP4
1	0,200	0,200	0,200	0,150	0,150	0,200
2	0,300	0,250	0,300	0,250	0,200	0,200
3	0,200	0,250	0,150	0,300	0,300	0,250
4	0,200	0,200	0,150	0,200	0,300	0,200
5	0,200	0,200	0,200	0,200	0,100	0,200
ΣX	1,100	1,100	1,000	1,100	1,050	1,050
\bar{X}	0,220	0,220	0,200	0,220	0,210	0,210
SD	0,044	0,027	0,061	0,057	0,089	0,022

Keterangan:

KK1 = kelompok kontrol 1 (minyak zaitun dosis 10 ml/kg bb)

KK2 = kelompok kontrol 2 (CCl₄ dosis 400 mg/kg bb)

KP1 = kelompok perlakuan 1 (CCl₄ dosis 400 mg/kg bb + dimer isoeugenol dosis 2 mg/kg bb)

KP2 = kelompok perlakuan 2 (CCl₄ dosis 400 mg/kg bb + dimer isoeugenol dosis 4 mg/kg bb)

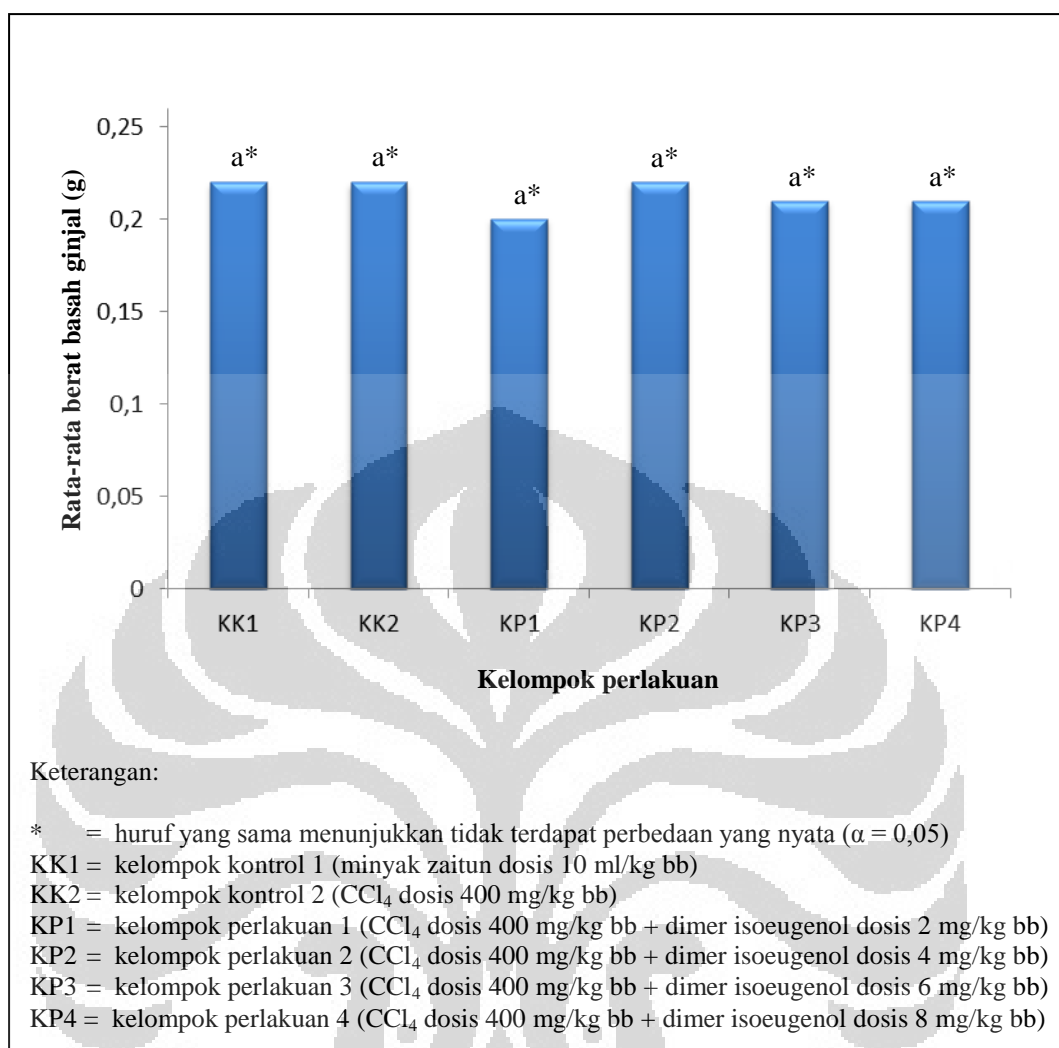
KP3 = kelompok perlakuan 3 (CCl₄ dosis 400 mg/kg bb + dimer isoeugenol dosis 6 mg/kg bb)

KP4 = kelompok perlakuan 4 (CCl₄ dosis 400 mg/kg bb + dimer isoeugenol dosis 8 mg/kg bb)

ΣX = jumlah nilai berat basah ginjal

\bar{X} = nilai rata-rata berat basah ginjal

SD = standar deviasi



Gambar 4.1.1.2. Diagram batang rata-rata berat basah ginjal

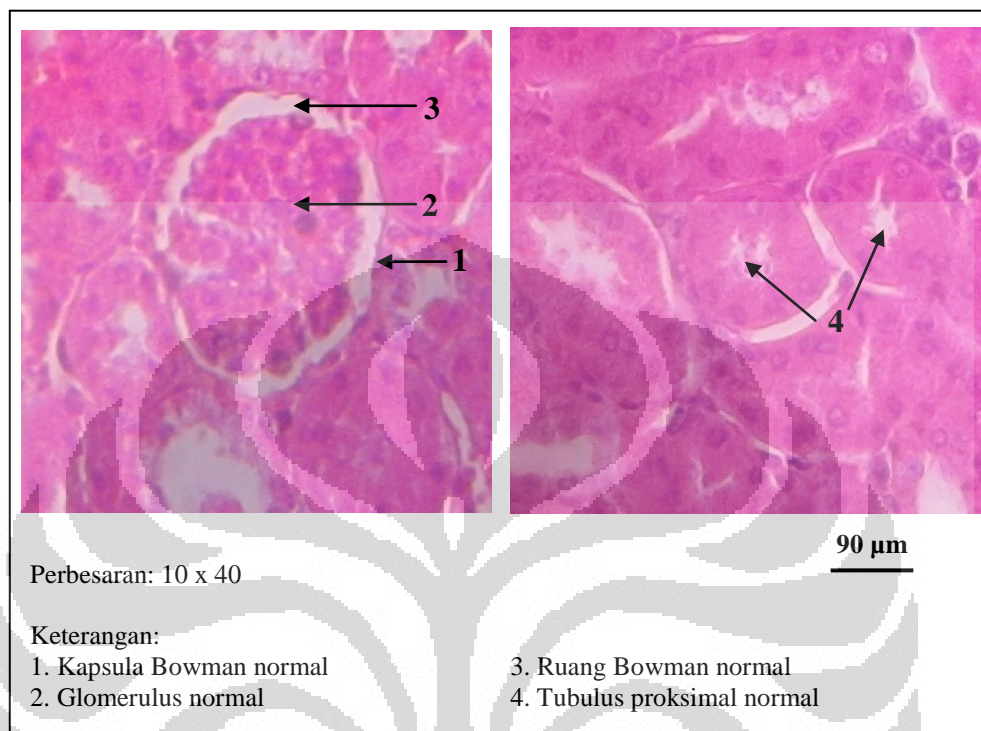
4.1.2. Hasil Pengamatan Mikroskopik Ginjal

4.1.2.1. Hasil Pengamatan terhadap Gambaran Histologi Ginjal Mencit

Kelompok Kontrol 1 (KK1)

Gambaran histologi ginjal mencit kelompok kontrol 1 atau kelompok kontrol normal (KK1), yang hanya diberi minyak zaitun memperlihatkan histoarsitektur kapsula Bowman, glomerulus, ruang Bowman, dan tubulus proksimal normal. Hal tersebut ditunjukkan dengan sel-sel epitel penyusun kapsula Bowman dan glomerulus yang utuh, serta ruang Bowman yang jaraknya

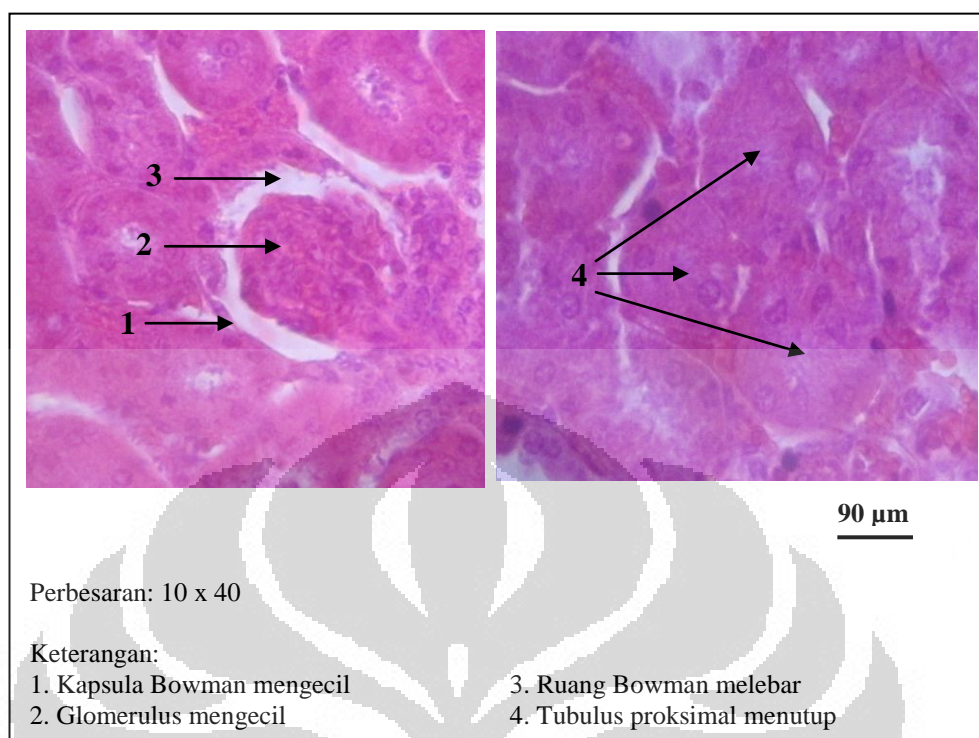
seragam ($5,183 \pm 0,545 \mu\text{m}$). Gambaran histologi ginjal kelompok kontrol 1 juga memperlihatkan lumen tubulus proksimal yang utuh (Gambar 4.1.2.1).



Gambar 4.1.2.1. Gambaran histologi ginjal mencit KK1

4.1.2.2. Hasil Pengamatan terhadap Gambaran Histologi Ginjal Mencit Kelompok Kontrol 2 (KK2)

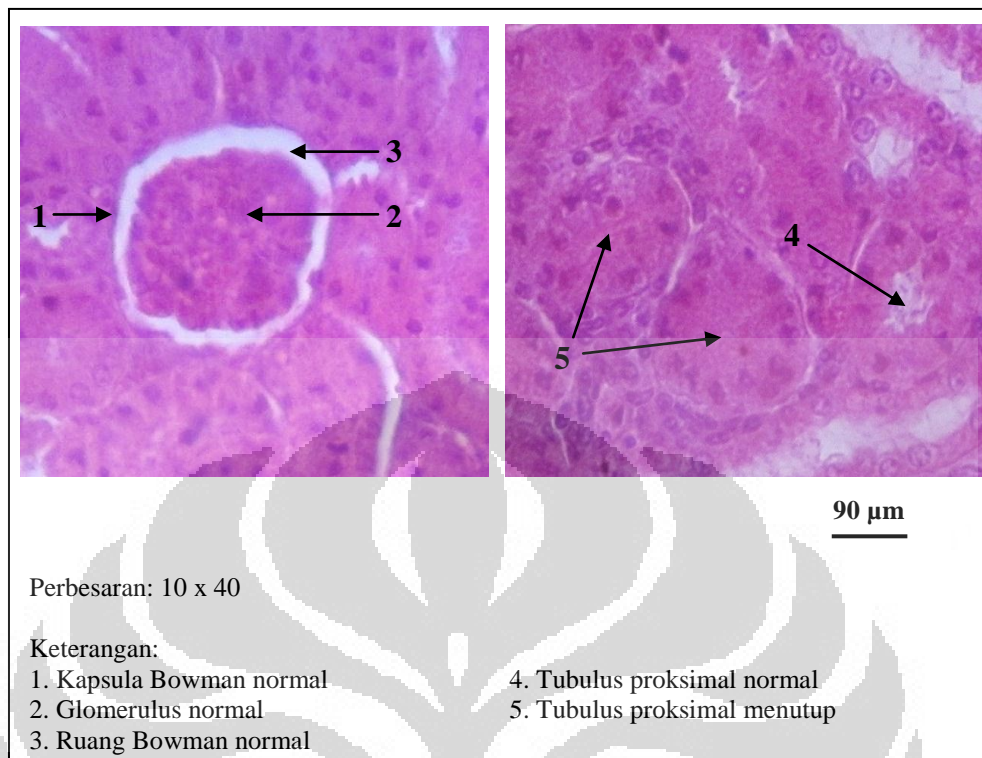
Gambaran histologi ginjal mencit kelompok kontrol 2 atau kelompok kontrol kerusakan (KK2), yang hanya diberi larutan karbon tetraklorida memperlihatkan histoarsitektur yang berbeda dari kelompok kontrol 1 (KK1). Ukuran kapsula Bowman dan glomerulus ginjal kelompok kontrol 2 tampak mengecil ($58,746 \pm 2,754 \mu\text{m}$ & $47,957 \pm 2,192 \mu\text{m}$). Sel-sel epitel penyusun kapsula Bowman dan glomerulus terlihat mengalami degenerasi. Jarak ruang Bowman tampak sedikit melebar ($7,641 \pm 2,361 \mu\text{m}$) dan lumen tubulus proksimal terlihat menutup (Gambar 4.1.2.2).



Gambar 4.1.2.2. Gambaran histologi ginjal mencit KK2

4.1.2.3. Hasil Pengamatan terhadap Gambaran Histologi Ginjal Mencit Kelompok Perlakuan 1 (KP1)

Gambaran histologi ginjal mencit kelompok perlakuan 1 (KP1), yang diberi larutan dimer isoeugenol dosis 2 mg/kg bb dan karbon tetraklorida memperlihatkan histoarsitektur kapsula Bowman, glomerulus, dan ruang Bowman normal. Hal tersebut ditunjukkan dengan sel-sel epitel penyusun kapsula Bowman dan sel-sel glomerulus yang utuh, serta jarak ruang Bowman yang seragam ($5,689 \pm 0,925 \mu\text{m}$). Ukuran kapsula Bowman dan glomerulus ginjal kelompok perlakuan 1 tampak tidak jauh berbeda dari ukuran kapsula Bowman dan glomerulus kelompok kontrol 1. Sebagian lumen tubulus proksimal pada ginjal kelompok perlakuan 1 tampak menutup (Gambar 4.1.2.3). Namun, jumlah lumen tubulus proksimal yang menutup pada ginjal kelompok perlakuan 1 ($6,960 \pm 1,728$) tidak sebanyak jumlah lumen tubulus proksimal yang menutup pada ginjal kelompok kontrol 2 ($14,120 \pm 2,516$) (Gambar 4.1.2.2).

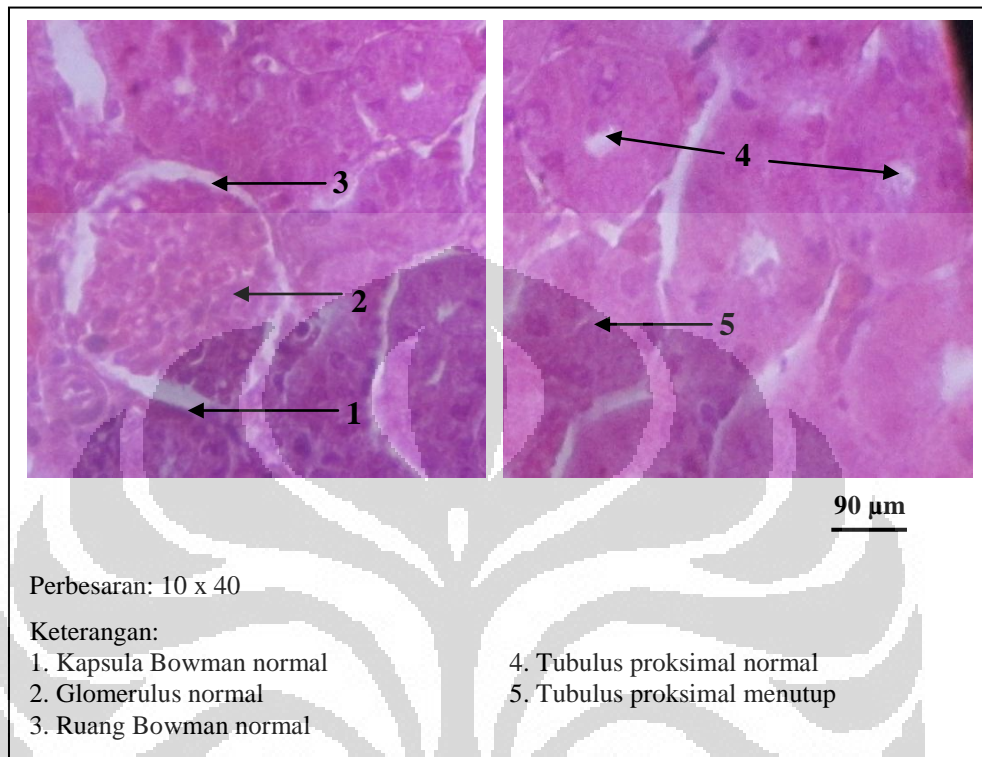


Gambar 4.1.2.3. Gambaran histologi ginjal mencit KP1

4.1.2.4. Hasil Pengamatan terhadap Gambaran Histologi Ginjal Mencit Kelompok Perlakuan 2 (KP2)

Gambaran histologi ginjal mencit kelompok perlakuan 2 (KP2), yang diberi larutan dimer isoeugenol dosis 4 mg/kg bb dan karbon tetraklorida memperlihatkan histoarsitektur kapsula Bowman, glomerulus, dan ruang Bowman normal. Hal tersebut ditunjukkan dengan sel-sel epitel penyusun kapsula Bowman dan glomerulus yang utuh, serta jarak ruang Bowman yang seragam ($5,741 \pm 0,716 \mu\text{m}$). Ukuran kapsula Bowman dan glomerulus ginjal kelompok perlakuan 2 tampak tidak jauh berbeda dari ukuran kapsula Bowman dan glomerulus ginjal kelompok kontrol 1. Lumen tubulus proksimal ginjal kelompok perlakuan 2 yang menutup tampak lebih sedikit daripada lumen tubulus proksimal yang normal (terbuka) (Gambar 4.1.2.4). Jumlah lumen tubulus proksimal yang menutup pada ginjal kelompok perlakuan 2 ($5,560 \pm 1,935$) jauh lebih sedikit

daripada jumlah lumen tubulus proksimal yang menutup pada ginjal kelompok kontrol 2 ($14,120 \pm 2,516$) (Gambar 4.1.2.2).

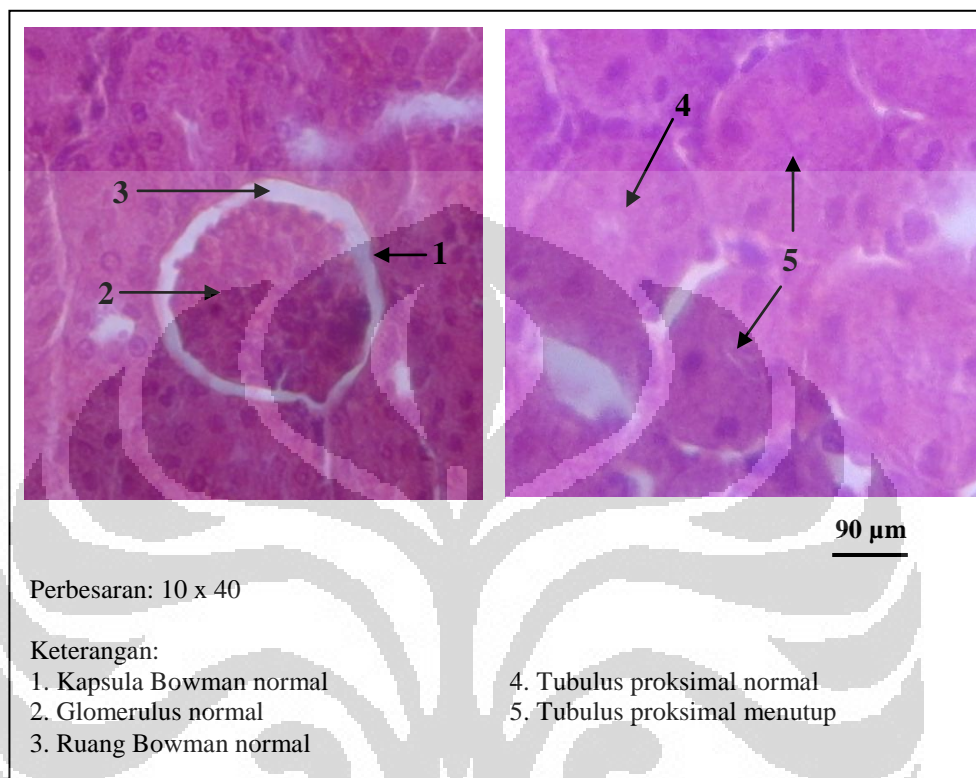


Gambar 4.1.2.4. Gambaran histologi ginjal mencit KP2

4.1.2.5. Hasil Pengamatan terhadap Gambaran Histologi Ginjal Mencit Kelompok Perlakuan 3 (KP3)

Gambaran histologi ginjal mencit kelompok perlakuan 3 (KP3), yang diberi larutan dimer isoeugenol dosis 6 mg/kg bb dan karbon tetraklorida menunjukkan histoarsitektur kapsula Bowman, glomerulus, dan ruang Bowman normal. Hal tersebut ditunjukkan dengan sel-sel epitel penyusun kapsula Bowman dan glomerulus yang utuh, serta ruang Bowman yang seragam ($5,686 \pm 1,457 \mu\text{m}$). Ukuran kapsula Bowman dan glomerulus ginjal kelompok perlakuan 3 tampak tidak jauh berbeda dari ukuran kapsula Bowman dan glomerulus kelompok kontrol 1. Sebagian lumen tubulus proksimal pada ginjal kelompok perlakuan 3 tampak menutup (Gambar 4.1.2.5). Namun, jumlah lumen tubulus

proksimal yang menutup pada ginjal kelompok perlakuan 3 ($7,600 \pm 1,157$) lebih sedikit daripada kelompok kontrol 2 ($14,120 \pm 2,516$) (Gambar 4.1.2.2).

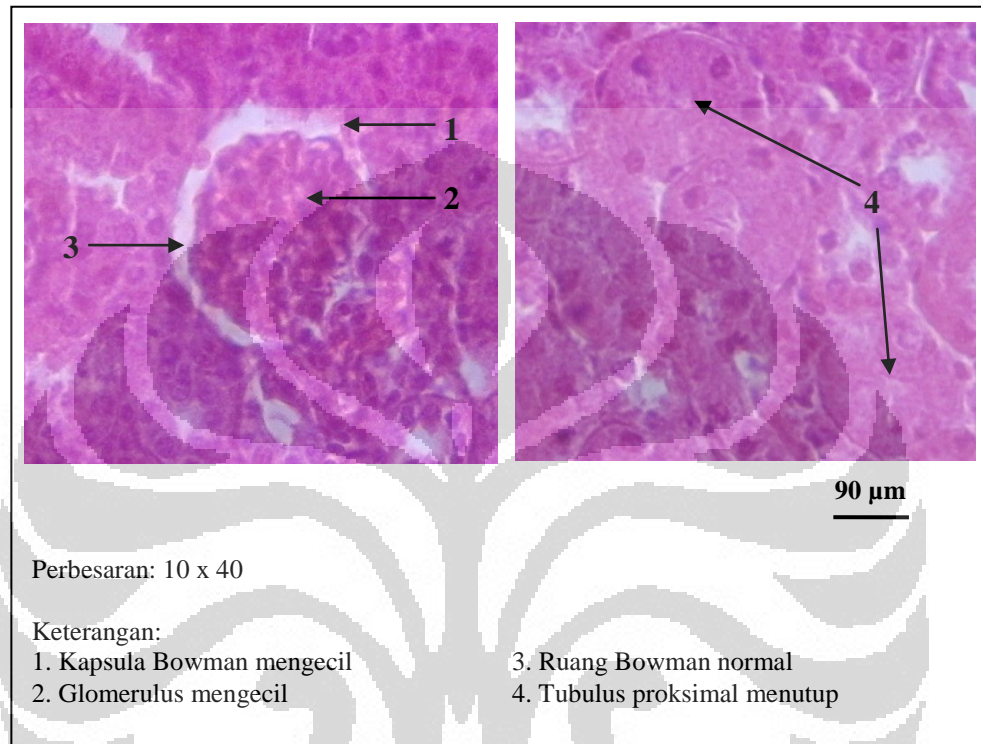


Gambar 4.1.2.5. Gambaran histologi ginjal mencit KP3

4.1.2.6. Hasil Pengamatan terhadap Gambaran Histologi Ginjal Mencit Kelompok Perlakuan 4 (KP4)

Gambaran histologi ginjal mencit kelompok perlakuan 4 (KP4), yang diberi larutan dimer isoeugenol dosis 8 mg/kg bb dan karbon tetraklorida menunjukkan histoarsitektur kapsula Bowman dan glomerulus yang berbeda dari kelompok kontrol 1. Ukuran kapsula Bowman dan glomerulus ginjal kelompok perlakuan 4 tampak mengecil ($60,465 \pm 3,765 \mu\text{m}$ & $52,063 \pm 3,280 \mu\text{m}$). Namun, ukuran kapsula Bowman dan glomerulus ginjal kelompok perlakuan 4 tidak lebih kecil daripada ukuran kapsula Bowman dan glomerulus ginjal kelompok kontrol 2. Sel-sel epitel penyusun kapsula Bowman dan glomerulus tampak mengalami degenerasi (kerusakan). Namun, ruang Bowman tampak

normal ($5,985 \pm 1,267 \mu\text{m}$) (Gambar 4.1.2.6). Sebagian lumen tubulus proksimal ginjal kelompok perlakuan 4 tampak menutup ($8,840 \pm 3,829$), namun jumlah lumen yang menutup tersebut tidak sebanyak pada ginjal kelompok kontrol 2 ($14,120 \pm 2,516$) (Gambar 4.1.2.2).



Gambar 4.1.2.6. Gambaran histologi ginjal mencit KP4

4.1.2.7. Hasil Pengamatan Mikroskopik terhadap Rata-rata Diameter Kapsula Bowman

Data rata-rata diameter Kapsula Bowman dapat dilihat pada tabel 4.1.2.7 dan gambar 4.1.2.7. Hasil uji normalitas Shapiro-Wilk ($\alpha > 0,05$) menunjukkan bahwa data rata-rata diameter kapsula Bowman berdistribusi normal (Lampiran 6). Hasil uji homogenitas Levene ($\alpha > 0,05$) menunjukkan bahwa data rata-rata diameter kapsula Bowman bervariasi homogen (Lampiran 7). Berdasarkan hasil kedua uji tersebut, maka data rata-rata diameter kapsula Bowman selanjutnya diuji dengan uji analisis variansi (Anava). Hasil uji Anava ($\alpha < 0,05$) menunjukkan bahwa rata-rata diameter kapsula Bowman pada setiap kelompok

perlakuan berbeda nyata, yang berarti terdapat pengaruh pemberian dimer isoeugenol terhadap rata-rata diameter kapsula Bowman (Lampiran 8). Hasil uji perbandingan berganda LSD menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara KK2 dengan KK1, KP1, KP2, dan KP3; dan KP4 dengan KP2 dan KP3 (Lampiran 9).

Tabel 4.1.2.7. Data rata-rata diameter kapsula Bowman

Ulangan	Rata-rata diameter kapsula Bowman (μm)					
	KK1	KK2	KP1	KP2	KP3	KP4
1	63,716	59,292	67,654	65,929	66,548	59,796
2	63,716	60,973	63,380	65,884	65,000	62,654
3	59,929	61,106	60,000	62,761	64,292	57,230
4	61,415	57,964	61,991	61,212	63,469	65,769
5	63,495	54,398	62,008	66,814	60,637	56,876
ΣX	312,271	293,733	315,033	322,600	319,946	302,325
X	62,454	58,746	63,006	64,520	63,989	60,465
SD	1,712	2,754	2,863	2,405	2,189	3,765

Keterangan:

KK1 = kelompok kontrol 1 (minyak zaitun dosis 10 ml/kg bb)

KK2 = kelompok kontrol 2 (CCl_4 dosis 400 mg/kg bb)

KP1 = kelompok perlakuan 1 (CCl_4 dosis 400 mg/kg bb + dimer isoeugenol dosis 2 mg/kg bb)

KP2 = kelompok perlakuan 2 (CCl_4 dosis 400 mg/kg bb + dimer isoeugenol dosis 4 mg/kg bb)

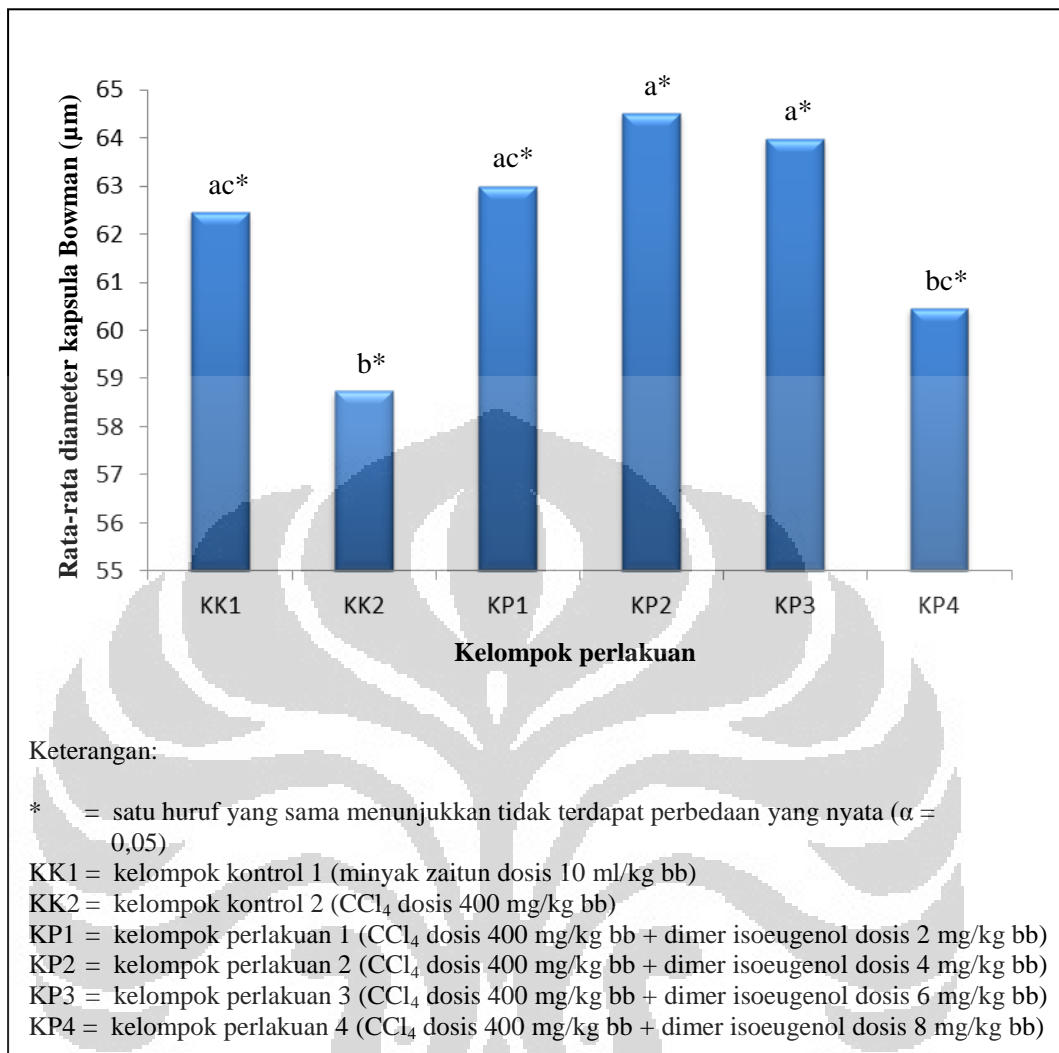
KP3 = kelompok perlakuan 3 (CCl_4 dosis 400 mg/kg bb + dimer isoeugenol dosis 6 mg/kg bb)

KP4 = kelompok perlakuan 4 (CCl_4 dosis 400 mg/kg bb + dimer isoeugenol dosis 8 mg/kg bb)

ΣX = jumlah nilai diameter kapsula Bowman

X = nilai rata-rata diameter kapsula Bowman

SD = standar deviasi



Gambar 4.1.2.7. Diagram batang rata-rata diameter kapsula Bowman

4.1.2.8. Hasil Pengamatan terhadap Rata-rata Diameter Glomerulus

Data rata-rata diameter glomerulus dapat dilihat pada tabel 4.1.2.8 dan gambar 4.1.2.8. Hasil uji normalitas Shapiro-Wilk ($\alpha > 0,05$) menunjukkan bahwa data rata-rata diameter glomerulus tidak berdistribusi normal, meskipun telah dikonversi dalam bentuk akar dan logaritma (Lampiran 10). Hasil uji homogenitas Levene ($\alpha > 0,05$) menunjukkan bahwa data rata-rata diameter glomerulus tidak bervariasi homogen (Lampiran 11). Oleh karena itu, selanjutnya data tersebut diuji dengan uji nonparametrik Kruskal-Wallis. Hasil uji Kruskal-Wallis ($\alpha < 0,05$) menunjukkan bahwa rata-rata diameter glomerulus pada setiap kelompok perlakuan berbeda nyata, yang berarti terdapat pengaruh

pemberian dimer isoeugenol terhadap rata-rata diameter glomerulus (Lampiran 12). Hasil uji Mann-Whitney ($\alpha < 0,05$) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara KK2 dengan KK1, KP1, KP2, dan KP3 (Lampiran 13).

Tabel 4.1.2.8. Data rata-rata diameter glomerulus

Ulangan	Rata-rata diameter glomerulus (μm)					
	KK1	KK2	KP1	KP2	KP3	KP4
1	53,982	44,955	57,893	57,522	57,566	50,442
2	54,575	49,752	53,867	56,327	56,831	55,504
3	52,300	50,106	53,097	54,929	55,814	49,601
4	54,398	48,469	53,495	52,893	53,424	55,725
5	54,911	46,504	53,601	58,026	53,982	49,044
ΣX	270,166	239,786	271,953	279,697	277,617	260,316
\bar{X}	54,033	47,957	54,390	55,939	55,523	52,063
SD	1,025	2,192	1,977	2,080	1,785	3,280

Keterangan:

KK1 = kelompok kontrol 1 (minyak zaitun dosis 10 ml/kg bb)

KK2 = kelompok kontrol 2 (CCl_4 dosis 400 mg/kg bb)

KP1 = kelompok perlakuan 1 (CCl_4 dosis 400 mg/kg bb + dimer isoeugenol dosis 2 mg/kg bb)

KP2 = kelompok perlakuan 2 (CCl_4 dosis 400 mg/kg bb + dimer isoeugenol dosis 4 mg/kg bb)

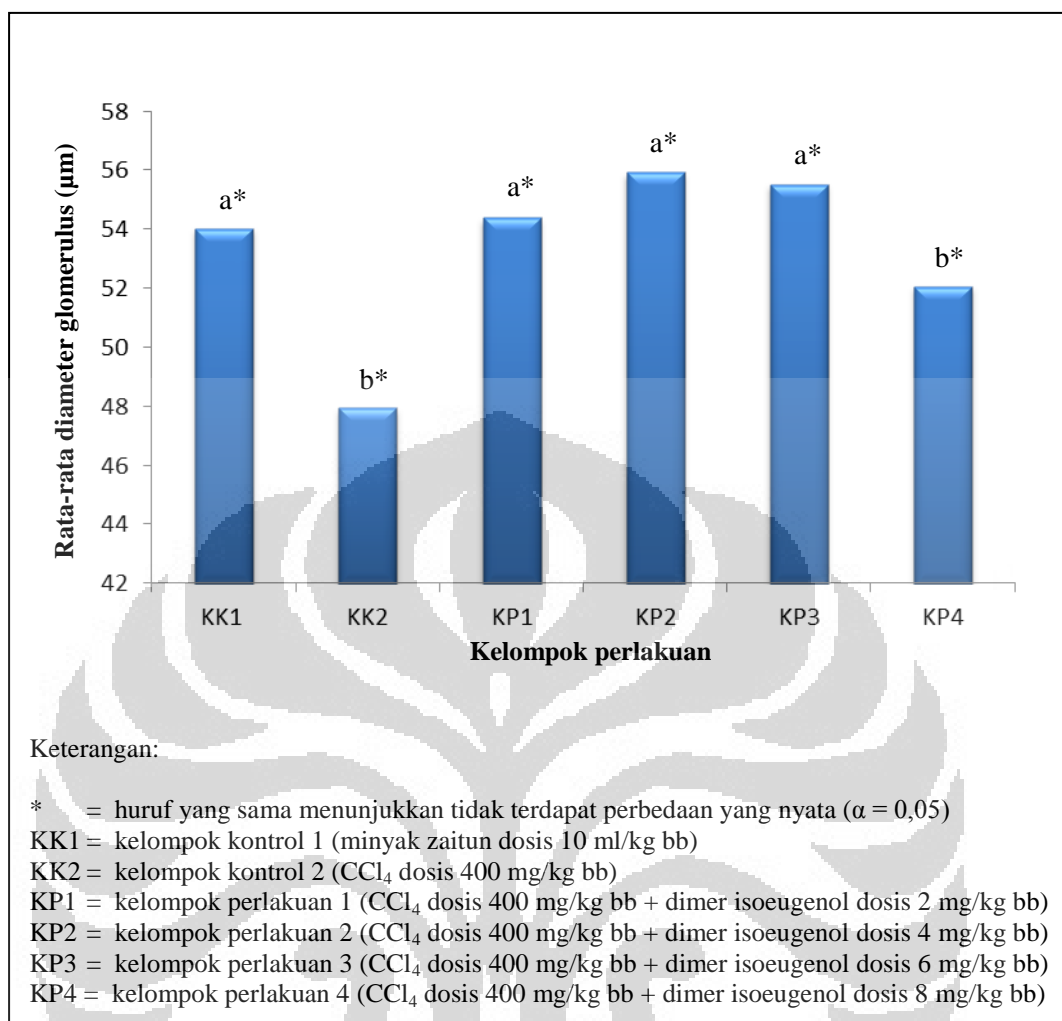
KP3 = kelompok perlakuan 3 (CCl_4 dosis 400 mg/kg bb + dimer isoeugenol dosis 6 mg/kg bb)

KP4 = kelompok perlakuan 4 (CCl_4 dosis 400 mg/kg bb + dimer isoeugenol dosis 8 mg/kg bb)

ΣX = jumlah nilai diameter glomerulus

\bar{X} = nilai rata-rata diameter glomerulus

SD = standar deviasi



Gambar 4.1.2.8. Diagram batang rata-rata diameter glomerulus

4.1.2.9. Hasil Pengamatan terhadap Rata-rata Jarak Kapsula Bowman dengan Glomerulus (Ruang Bowman)

Data rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus (ruang Bowman) dapat dilihat pada tabel 4.1.2.9 dan gambar 4.1.2.9. Hasil uji normalitas Shapiro-Wilk ($\alpha > 0,05$) menunjukkan bahwa data rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus (ruang Bowman) berdistribusi normal (Lampiran 14). Hasil uji homogenitas Levene ($\alpha > 0,05$) menunjukkan bahwa data rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus (ruang Bowman) bervariasi homogen (Lampiran 15). Berdasarkan hasil kedua uji tersebut, maka selanjutnya data rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus (ruang Bowman) diuji dengan uji analisis

variansi (Anava). Hasil uji Anava ($\alpha < 0,05$) menunjukkan bahwa rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus pada setiap kelompok perlakuan tidak berbeda nyata, yang berarti tidak terdapat pengaruh pemberian dimer isoeugenol terhadap rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus (ruang Bowman) (Lampiran 16).

Tabel 4.1.2.9. Data rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus (ruang Bowman)

Ulangan	Rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus (μm)					
	KK1	KK2	KP1	KP2	KP3	KP4
1	5,185	10,619	6,451	4,539	5,159	5,814
2	5,486	8,123	5,920	6,469	5,150	4,778
3	4,982	8,672	4,265	5,911	6,761	5,035
4	4,407	6,415	6,486	5,929	7,522	6,336
5	5,858	4,380	5,327	5,858	3,840	7,964
ΣX	25,918	38,209	28,449	28,706	28,432	29,927
\bar{X}	5,183	7,641	5,689	5,741	5,686	5,985
SD	0,545	2,361	0,925	0,716	1,457	1,267

Keterangan:

KK1 = kelompok kontrol 1 (minyak zaitun dosis 10 ml/kg bb)

KK2 = kelompok kontrol 2 (CCl_4 dosis 400 mg/kg bb)

KP1 = kelompok perlakuan 1 (CCl_4 dosis 400 mg/kg bb + dimer isoeugenol dosis 2 mg/kg bb)

KP2 = kelompok perlakuan 2 (CCl_4 dosis 400 mg/kg bb + dimer isoeugenol dosis 4 mg/kg bb)

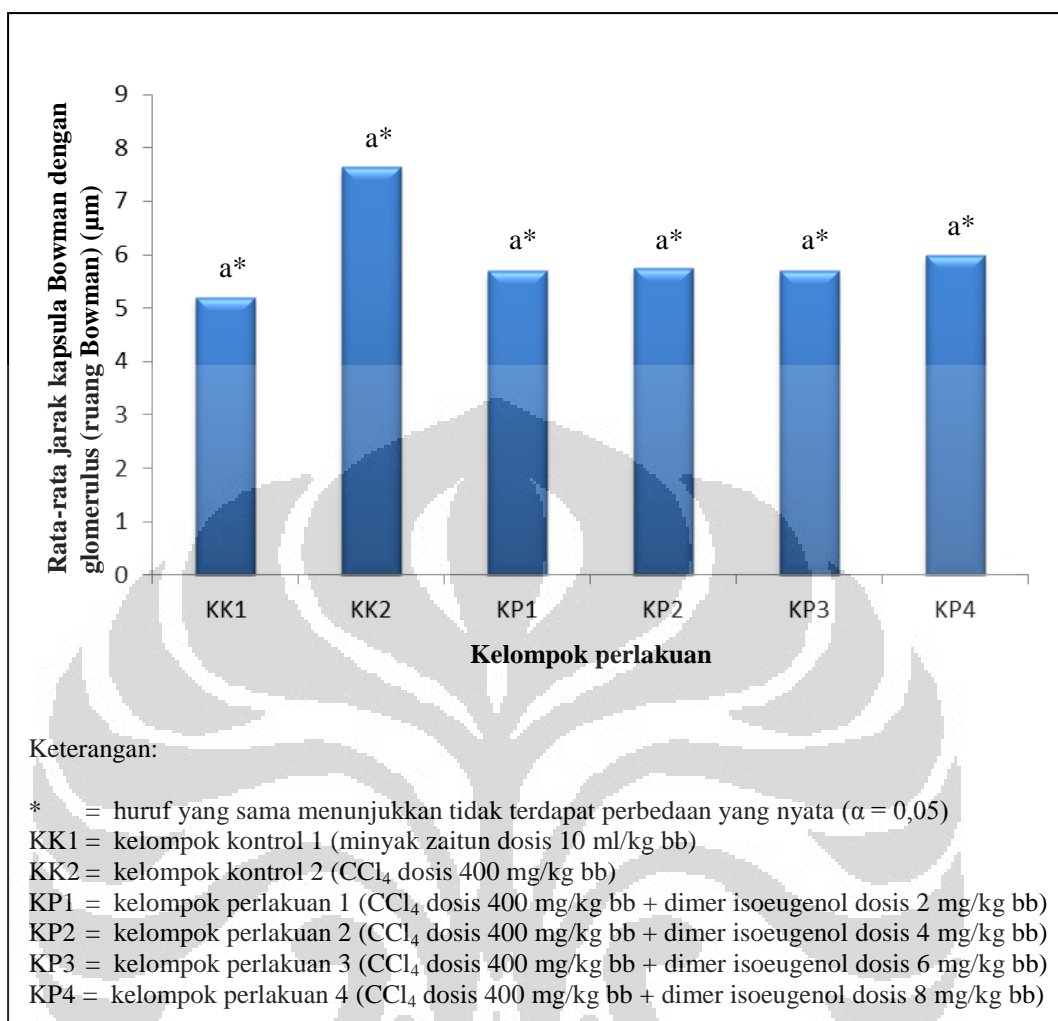
KP3 = kelompok perlakuan 3 (CCl_4 dosis 400 mg/kg bb + dimer isoeugenol dosis 6 mg/kg bb)

KP4 = kelompok perlakuan 4 (CCl_4 dosis 400 mg/kg bb + dimer isoeugenol dosis 8 mg/kg bb)

ΣX = jumlah nilai jarak kapsula Bowman dengan glomerulus (ruang Bowman)

\bar{X} = nilai rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus (ruang Bowman)

SD = standar deviasi



Gambar 4.1.2.9. Diagram batang rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus (ruang Bowman)

4.1.2.10. Hasil Pengamatan terhadap Rata-rata Jumlah Tubulus Proksimal yang Menutup

Data rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup dapat dilihat pada tabel 4.1.2.10 dan gambar 4.1.2.10. Hasil uji normalitas Shapiro-Wilk ($\alpha > 0,05$) menunjukkan bahwa data rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup berdistribusi normal (Lampiran 17). Hasil uji homogenitas Levene ($\alpha > 0,05$) menunjukkan bahwa data rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup bervariasi homogen (Lampiran 18). Berdasarkan hasil kedua uji tersebut, maka data rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup selanjutnya diuji dengan uji

analisis variansi (Anava). Hasil uji Anava ($\alpha < 0,05$) menunjukkan bahwa rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup pada setiap kelompok perlakuan berbeda nyata, yang berarti terdapat pengaruh pemberian dimer isoeugenol terhadap rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup (Lampiran 19). Hasil uji perbandingan berganda LSD ($\alpha < 0,05$) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara KK2 dengan KK1, KP1, KP2, KP3 dan KP4; KK1 dengan KK2, KP1, KP3 dan KP4; dan KP2 dengan KK2 dan KP4 (Lampiran 20).

Tabel 4.1.2.10. Data rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup

Ulangan	Rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup					
	KK1	KK2	KP1	KP2	KP3	KP4
1	5,200	13,200	7,200	4,800	7,000	9,800
2	2,800	14,800	9,000	7,400	8,800	14,200
3	1,800	12,200	7,200	4,400	8,600	6,600
4	5,200	18,200	7,200	7,800	7,600	9,600
5	2,200	12,200	4,200	3,400	6,000	4,000
ΣX	17,200	70,600	34,800	27,800	38,000	44,200
\bar{X}	3,440	14,120	6,960	5,560	7,600	8,840
SD	1,645	2,516	1,728	1,935	1,157	3,829

Keterangan:

KK1 = kelompok kontrol 1 (minyak zaitun dosis 10 ml/kg bb)

KK2 = kelompok kontrol 2 (CCl₄ dosis 400 mg/kg bb)

KP1 = kelompok perlakuan 1 (CCl₄ dosis 400 mg/kg bb + dimer isoeugenol dosis 2 mg/kg bb)

KP2 = kelompok perlakuan 2 (CCl₄ dosis 400 mg/kg bb + dimer isoeugenol dosis 4 mg/kg bb)

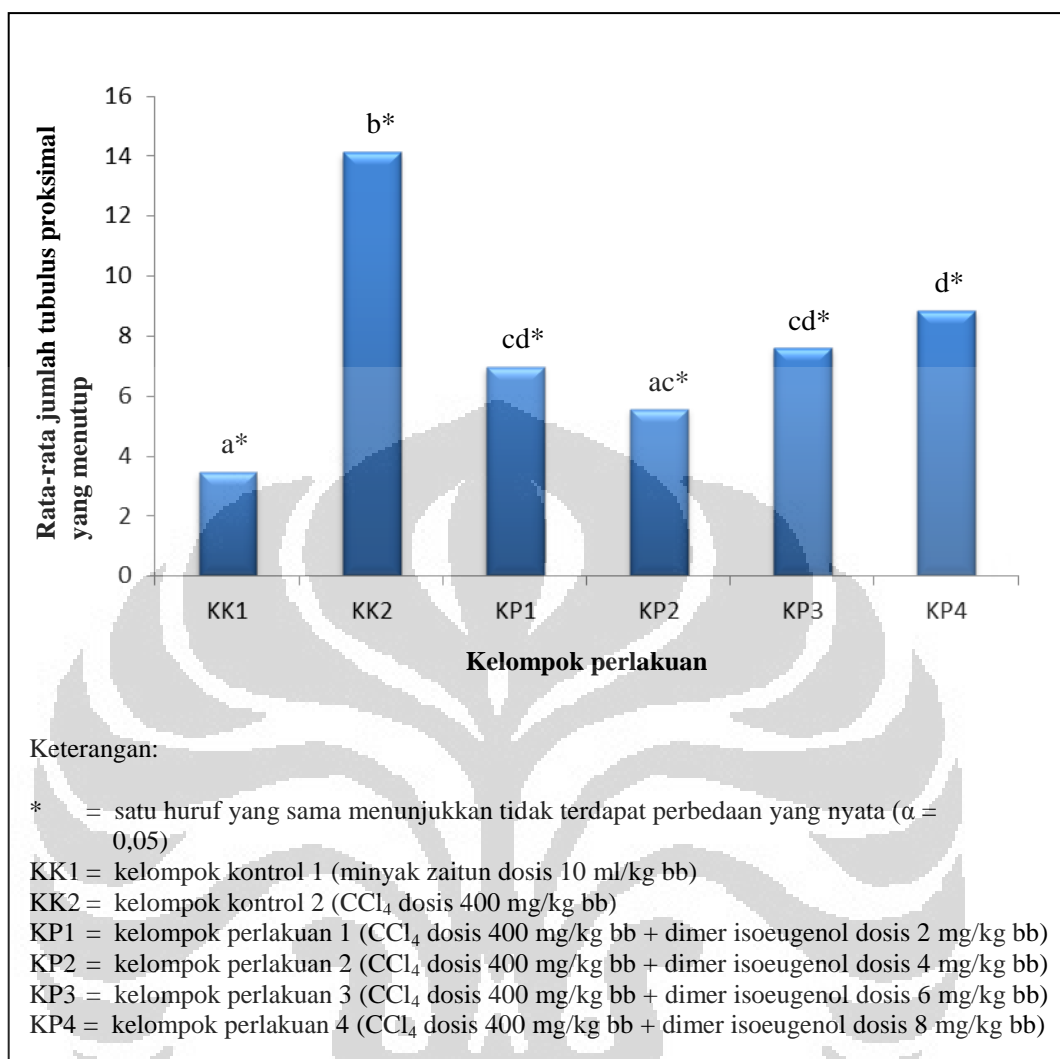
KP3 = kelompok perlakuan 3 (CCl₄ dosis 400 mg/kg bb + dimer isoeugenol dosis 6 mg/kg bb)

KP4 = kelompok perlakuan 4 (CCl₄ dosis 400 mg/kg bb + dimer isoeugenol dosis 8 mg/kg bb)

ΣX = jumlah tubulus proksimal yang menutup

\bar{X} = nilai rata-rata tubulus proksimal yang menutup

SD = standar deviasi



Gambar 4.1.2.10. Diagram batang rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup

4.2 Pembahasan

4.2.1 Pengamatan Makroskopik Ginjal

Pengamatan makroskopik ginjal dilakukan terhadap warna dan berat basah ginjal. Pengamatan terhadap warna ginjal menunjukkan adanya perbedaan antara kelompok kontrol dan perlakuan. Pengamatan terhadap berat basah ginjal yang diuji dengan analisis statistik menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata ($\alpha = 0,05$) antara kelompok kontrol dan perlakuan. Perbedaan warna ginjal antara kelompok kontrol dan perlakuan menunjukkan telah terjadi perubahan warna

ginjal. Menurut Ressang (1984), perubahan warna organ umumnya disebabkan oleh adanya perubahan fisiologis dan struktur mikroskopik yang cukup berarti (*lihat Sunityoso 1996: 4*).

Pengamatan terhadap warna ginjal mencit kelompok kontrol 1 atau kontrol normal (KK1) menunjukkan ginjal berwarna merah anggur (*claret violet*) (Gambar 4.1.1.1). Berdasarkan penelitian uji nefroprotektif yang dilakukan oleh Aimedawaty (2010: 37), ginjal mencit kontrol normal yang tidak diberi perlakuan zat toksik dan zat uji tampak berwarna merah delima (*ruby red*). Berdasarkan standar warna Westwood Security Shutters (2012: 2), warna merah delima (*ruby red*) dan merah anggur (*claret red*) menunjukkan intensitas warna merah yang kuat (tidak pucat) (Lampiran 21). Warna ginjal seperti warna tersebut mungkin disebabkan oleh volume aliran darah yang tinggi di dalam ginjal. Ginjal diketahui menerima aliran darah sebanyak 22% dari seluruh volume darah yang dipompa oleh jantung (Guyton & Hall 2006: 309).

Ginjal mencit kelompok kontrol 2 atau kelompok kontrol kerusakan (KK2) tampak berwarna merah ungu muda (*red violet*) (Gambar 4.1.1.1). Warna tersebut berbeda dengan warna ginjal kelompok kontrol 1 (KK1). Intensitas warna merah pada ginjal kelompok kontrol 2 lebih lemah daripada warna ginjal kelompok kontrol 1. Hal tersebut diduga disebabkan oleh adanya penurunan volume aliran darah di dalam ginjal akibat toksisitas karbon tetraklorida. Karbon tetraklorida (CCl₄) diketahui dapat menyebabkan nekrosis pada tubulus ginjal (Olagunju 2009: 14). Menurut Robbins *et al.* (1999: 582), peristiwa nekrosis atau kerusakan tubulus dapat menyebabkan vasokonstriksi pada arteriol ginjal. Hal tersebut diduga menyebabkan terjadinya penurunan volume aliran darah di dalam ginjal.

Warna ginjal mencit kelompok perlakuan 1 (KP1) tampak merah ungu muda (*red violet*) (Gambar 4.1.1.1). Warna ginjal mencit kelompok perlakuan 1 tidak berbeda dengan warna ginjal mencit kelompok kontrol 2 yang hanya diberi larutan karbon tetraklorida. Hal tersebut mungkin disebabkan oleh dosis dimer isoeugenol sebanyak 2 mg/kg bb belum mampu memberi pengaruh nefroprotektif terhadap makroskopik (warna) ginjal mencit yang diinduksi karbon tetraklorida.

Ginjal mencit kelompok perlakuan 2 (KP2) dan kelompok perlakuan 3 (KP3) tampak berwarna merah tua (*wine red*) dan merah ungu tua (*purple red*) (Gambar 4.1.1.1). Berdasarkan standar warna Westwood Security Shutters (2012: 2), warna ginjal mencit kelompok perlakuan 2 dan kelompok perlakuan 3 tidak jauh berbeda dengan warna ginjal mencit kelompok kontrol 1 yang tidak diberi larutan karbon tetraklorida dan dimer isoeugenol (Lampiran 21). Hal tersebut diduga karena dosis dimer isoeugenol sebanyak 4 mg/kg bb dan 6 mg/kg bb telah mampu memberi pengaruh nefroprotektif terhadap makroskopik (warna) ginjal mencit yang diinduksi karbon tetraklorida. Dimer isoeugenol diketahui memiliki aktivitas antioksidan (Yuda 2007: 64). Menurut Olagunju *et al.* (2009:17), aktivitas antioksidan dapat menjadi mekanisme perlindungan terhadap nefrotoksisitas yang disebabkan oleh karbon tetraklorida.

Warna ginjal mencit kelompok perlakuan 4 (KP4) tampak merah pucat (*orient red*) (Gambar 4.1.1.1). Berdasarkan standar warna Westwood Security Shutters (2012: 2), warna ginjal mencit kelompok perlakuan 4 mendekati warna ginjal mencit kelompok kontrol 2 (Lampiran 21). Hal tersebut diduga karena dosis dimer isoeugenol sebanyak 8 mg/kg bb mulai menimbulkan efek toksik terhadap ginjal. Uji toksisitas dimer isoeugenol yang dilakukan oleh Yuda (2007: 59 & 61) dengan metode BSLT (*brine shrimp lethality test*) menunjukkan bahwa dimer isoeugenol memiliki nilai LC_{50} (*lethal concentration 50*) sebesar 8,175 ppm, yaitu setara dengan 8,175 mg/kg bb. Nilai dosis 8 mg/kg bb mendekati nilai toksisitas dimer isoeugenol, sehingga diduga dosis tersebut dapat menimbulkan efek toksik.

Data pengamatan terhadap rata-rata berat basah ginjal yang diuji dengan analisis statistik nonparametrik Kruskal-Wallis menunjukkan tidak terdapat perbedaan antara kelompok kontrol dan perlakuan. Hal tersebut menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh pemberian dimer isoeugenol terhadap berat basah ginjal. Pengukuran berat basah ginjal pada penelitian uji potensi nefroprotektif infus simplisia sirih merah yang dilakukan oleh Aimatedawaty (2010: 39) menunjukkan hasil yang sama. Namun berdasarkan penelitian uji potensi nefroprotektif ekstrak etanol biji pepaya dan labu oleh Debnath *et al.* (2010: 243), berat ginjal yang diberikan kedua jenis ekstrak tersebut mengalami peningkatan

dibandingkan dengan berat ginjal yang diinduksi zat toksik. Peningkatan berat tersebut diketahui sebagai salah satu efek nefroprotektif. Zat toksik seperti karbon tetraklorida dapat mengakibatkan kematian sel (Olagunju 2009: 17), sehingga dapat mengurangi masa sel dan diduga turut mengurangi berat organ. Hasil penelitian yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan berat basah ginjal antara kelompok kontrol dan perlakuan diduga disebabkan oleh regenerasi sel ginjal. Kemampuan regenerasi tersebut menggantikan sel yang rusak akibat zat toksik sehingga berat ginjal menjadi konstan.

4.2.2. Pengamatan Mikroskopik dan Analisis Morfometri Ginjal

Pengamatan mikroskopik ginjal dilakukan terhadap struktur korpuskel renalis yang terdiri dari kapsula Bowman, glomerulus, dan ruang Bowman, dan terhadap struktur tubulus proksimal. Analisis morfometri dengan pendekatan statistik terhadap diameter kapsula Bowman dan diameter glomerulus menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata ($\alpha = 0,05$) antara kelompok kontrol dan perlakuan, sedangkan analisis morfometri terhadap diameter ruang Bowman menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata ($\alpha = 0,05$). Pendekatan statistik terhadap penghitungan jumlah tubulus proksimal yang menutup menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata ($\alpha = 0,05$) antara kelompok kontrol dan perlakuan.

Pengamatan terhadap ginjal kelompok kontrol 1 (KK1) menunjukkan histoarsitektur kapsula Bowman, glomerulus, ruang Bowman, dan tubulus proksimal normal (Gambar 4.1.2.1). Pengamatan terhadap histoarsitektur ginjal kelompok kontrol 2 (KK2) menunjukkan terdapat kerusakan pada sel epitel penyusun kapsula Bowman (Gambar 4.1.2.2). Kerusakan tersebut diduga akibat peristiwa nekrosis berupa pecahnya organel sel. Pecahnya organel sel tersebut ditandai dengan hilangnya nukleus. Menurut Bevelander & Ramaley (1988: 324), kapsula Bowman normal disusun oleh epitel berlapis dua dengan nukleus yang menggembung ke dalam ruang tempat glomerulus. Peristiwa nekrosis yang menyebabkan hilangnya nukleus epitel penyusun kapsula Bowman diduga akibat pengaruh toksisitas karbon tetraklorida. Glomerulus ginjal kelompok kontrol 2

juga mengalami kerusakan. Kerusakan tersebut ditandai dengan berkurangnya ukuran glomerulus. Hal tersebut diduga juga disebabkan oleh peristiwa nekrosis berupa pecahnya organel sel. Berdasarkan penelitian Olagunju *et al.* (2009: 14), dampak toksisitas karbon tetraklorida terhadap ginjal dapat berupa nekrosis tubulus interstisial dan glomerulus. Penyusutan ukuran glomerulus akibat nekrosis menyebabkan jarak ruang Bowman sedikit melebar ($7,641 \pm 2,361 \mu\text{m}$).

Analisis morfometri terhadap diameter kapsula Bowman kelompok kontrol 2 (KK2) dan kelompok kontrol 1 (KK1) menunjukkan bahwa rata-rata diameter kapsula Bowman ginjal KK2 ($58,746 \pm 2,754 \mu\text{m}$) lebih kecil daripada rata-rata diameter kapsula Bowman ginjal KK1 ($62,454 \pm 1,712 \mu\text{m}$) (Tabel 4.1.2.7). Hal tersebut sesuai dengan penelitian Cahyaningsih (2010: 34) yang menunjukkan bahwa rata-rata diameter kapsula Bowman pada ginjal yang diinduksi karbon tetraklorida mengalami penurunan. Penurunan rata-rata diameter kapsula Bowman pada ginjal KK2 diduga disebabkan oleh nekrosis sel-sel epitel penyusun kapsula Bowman.

Analisis morfometri terhadap diameter glomerulus kelompok kontrol 2 (KK2) dan kelompok kontrol 1 (KK1) menunjukkan bahwa rata-rata diameter glomerulus ginjal KK2 ($47,957 \pm 2,192 \mu\text{m}$) lebih kecil daripada rata-rata diameter glomerulus ginjal KK1 ($54,033 \pm 1,025 \mu\text{m}$) (Tabel 4.1.2.8). Analisis morfometri terhadap jarak ruang Bowman menunjukkan bahwa rata-rata jarak ruang Bowman ginjal KK2 ($7,641 \pm 2,361 \mu\text{m}$) lebih besar daripada rata-rata jarak ruang Bowman ginjal KK1 ($5,183 \pm 0,545 \mu\text{m}$) (Tabel 4.1.2.9). Hasil analisis tersebut sesuai dengan penelitian Aimedawaty (2010: 39). Namun berdasarkan uji statistik Anava, rata-rata jarak ruang Bowman ginjal KK2 dan rata-rata jarak ruang Bowman ginjal KK1 tidak berbeda nyata ($\alpha = 0,05$). Hal tersebut diduga disebabkan oleh penyusutan diameter kapsula Bowman pada ginjal KK2, sehingga jarak antara glomerulus dan dinding dalam kapsula Bowman tidak terlalu jauh ($7,641 \pm 2,361 \mu\text{m}$).

Pengamatan terhadap tubulus proksimal yang menutup menunjukkan bahwa rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal kelompok kontrol 2 (KK2) ($14,120 \pm 2,516 \mu\text{m}$) lebih banyak daripada rata-rata tubulus proksimal yang menutup pada ginjal kelompok kontrol 1 (KK1) ($3,440 \pm 1,645$

μm) (Tabel 4.1.2.10). Hal tersebut diduga akibat toksisitas karbon tetraklorida. Berdasarkan penelitian Olagunju *et al.* (2009: 14), induksi karbon tetraklorida pada ginjal dapat menyebabkan nekrosis tubulus interstisial yang ditandai dengan penutupan lumen tubulus (degenerasi hidropik). Nekrosis merupakan bentuk kerusakan sel yang umum terjadi akibat pemajanan zat toksik di dalam tubuh. Bentuk-bentuk kerusakan tersebut dapat berupa pembengkakan, denaturasi dan koagulasi protein, dan pecahnya organel sel (Robbins *et al.* 1999: 2). Penutupan lumen tubulus proksimal diduga merupakan salah satu bentuk pembengkakan sel-sel tubulus.

Mekanisme kerusakan ginjal oleh karbon tetraklorida diketahui berlangsung melalui reaksi radikal (Ganie *et al.* 2010: 1676). Karbon tetraklorida (CCl_4) yang masuk ke dalam tubuh akan mengalami konversi menjadi radikal bebas triklorometil ($\text{CCl}_3\text{-Cl}$) (Fishbein 1979: 220). Radikal triklorometil secara kovalen akan mengikat protein dan lipid tidak jenuh, sehingga menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid (Lu 1995: 211). Peningkatan peroksidasi lipid di dalam ginjal dapat menyebabkan kerusakan membran sel-sel ginjal (Ganie *et al.* 2010: 1677). Kerusakan tersebut diduga menjadi pemicu rusaknya struktur mikroskopik ginjal, seperti kerusakan sel-sel glomerulus dan tubulus ginjal. Berdasarkan penelitian Xu *et al.* (2010: 1392), kerusakan mikroskopik ginjal akibat efek toksik karbon tetraklorida berupa atrofi (penyusutan) glomerulus dan dilatasi (pelebaran) jarak ruang Bowman. Penelitian Olagunju *et al.* (2009: 14) menunjukkan kerusakan tubulus ginjal akibat efek toksik karbon tetraklorida berupa penutupan lumen tubulus.

Rata-rata diameter kapsula Bowman ginjal kelompok perlakuan 1 (KP1) ($63,006 \pm 2,863 \mu\text{m}$) tidak berbeda nyata ($\alpha = 0,05$) dengan rata-rata diameter kapsula Bowman ginjal kelompok kontrol 1 (KK1) ($62,454 \pm 1,712 \mu\text{m}$) (Tabel 4.1.2.7). Rata-rata diameter glomerulus ginjal KP1 ($54,390 \pm 1,977 \mu\text{m}$) tidak berbeda nyata ($\alpha = 0,05$) dengan rata-rata diameter glomerulus ginjal KK1 ($54,033 \pm 1,025 \mu\text{m}$) (Tabel 4.1.2.8). Hal tersebut menunjukkan dimer isoeugenol dosis 2 mg/kg bb dapat memberikan pengaruh nefroprotektif terhadap struktur kapsula Bowman dan glomerulus. Rata-rata jarak ruang Bowman ginjal KP1 ($5,689 \pm 0,925 \mu\text{m}$) tidak berbeda nyata ($\alpha = 0,05$) dengan rata-rata jarak ruang

Bowman ginjal KK1 ($5,183 \pm 0,545 \mu\text{m}$) dan KK2 ($7,641 \pm 2,361 \mu\text{m}$) (Tabel 4.1.2.9). Berdasarkan uji Anava, data jarak ruang Bowman tidak berbeda nyata ($\alpha = 0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa dimer isoeugenol dosis 2 mg/kg bb tidak memberikan pengaruh nefroprotektif terhadap ruang Bowman ginjal mencit yang diinduksi karbon tetraklorida.

Rata-rata diameter kapsula Bowman kelompok perlakuan 2 (KP2) ($64,520 \pm 2,405 \mu\text{m}$) dan kelompok perlakuan 3 (KP3) ($63,989 \pm 2,189 \mu\text{m}$) tidak berbeda nyata ($\alpha = 0,05$) dengan rata-rata diameter kapsula Bowman kelompok kontrol 1 (KK1) ($62,454 \pm 1,712 \mu\text{m}$) (Tabel 4.1.2.7). Rata-rata diameter glomerulus ginjal KP2 ($55,939 \pm 2,080 \mu\text{m}$) dan rata-rata diameter glomerulus ginjal KP3 ($55,523 \pm 1,785 \mu\text{m}$) tidak berbeda nyata ($\alpha = 0,05$) dengan rata-rata diameter glomerulus ginjal KK1 ($54,033 \pm 1,025 \mu\text{m}$) (Tabel 4.1.2.8). Hal tersebut menunjukkan bahwa dimer isoeugenol dosis 4 mg/kg bb dan dosis 6 mg/kg bb dapat memberikan pengaruh nefroprotektif terhadap struktur kapsula Bowman dan glomerulus. Rata-rata jarak ruang Bowman ginjal KP2 ($5,741 \pm 0,716 \mu\text{m}$) dan rata-rata jarak ruang Bowman ginjal KP3 ($5,686 \pm 1,457 \mu\text{m}$) tidak berbeda nyata ($\alpha = 0,05$) dengan rata-rata jarak ruang Bowman ginjal KK1 ($5,183 \pm 0,545 \mu\text{m}$) dan KK2 ($7,641 \pm 2,361 \mu\text{m}$) (Tabel 4.1.2.9). Berdasarkan uji Anava, data jarak ruang Bowman tidak berbeda nyata ($\alpha = 0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa dimer isoeugenol dosis 4 mg/kg bb dan 6 mg/kg bb tidak memberikan pengaruh nefroprotektif terhadap jarak ruang Bowman ginjal mencit yang diinduksi karbon tetraklorida.

Rata-rata diameter kapsula Bowman ginjal KP4 ($60,465 \pm 3,765 \mu\text{m}$) tidak berbeda nyata ($\alpha = 0,05$) dengan rata-rata diameter kapsula Bowman ginjal KK1 ($62,454 \pm 1,712 \mu\text{m}$) dan ginjal KK2 ($58,746 \pm 2,754 \mu\text{m}$) (Tabel 4.1.2.7). Rata-rata diameter glomerulus ginjal KP4 ($52,063 \pm 3,280 \mu\text{m}$) tidak berbeda nyata ($\alpha = 0,05$) dengan rata-rata diameter glomerulus ginjal KK1 ($54,033 \pm 1,025 \mu\text{m}$) dan ginjal KK2 ($47,957 \pm 2,192 \mu\text{m}$) (Tabel 4.1.2.8). Hal tersebut menunjukkan bahwa dimer isoeugenol dosis 8 mg/kg bb memberikan pengaruh nefroprotektif terhadap struktur kapsula Bowman dan struktur glomerulus, namun kurang optimal. Rata-rata jarak ruang Bowman ginjal KP4 ($5,985 \pm 1,267 \mu\text{m}$) tidak berbeda nyata ($\alpha = 0,05$) dengan rata-rata jarak ruang Bowman ginjal KK1 ($5,183$

$\pm 0,545 \mu\text{m}$) dan KK2 ($7,641 \pm 2,361 \mu\text{m}$) (Tabel 4.1.2.9). Berdasarkan uji Anava, data jarak ruang Bowman tidak berbeda nyata ($\alpha = 0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa dimer isoeugenol dosis 8 mg/kg bb tidak memberikan pengaruh nefroprotektif terhadap struktur ruang Bowman ginjal yang diinduksi karbon tetraklorida.

Jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal KP1 ($6,960 \pm 1,728 \mu\text{m}$), ginjal KP3 ($7,600 \pm 1,157 \mu\text{m}$), dan ginjal KP4 ($8,840 \pm 3,829 \mu\text{m}$) berbeda nyata ($\alpha = 0,05$) dengan jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal KK1 ($3,440 \pm 1,645 \mu\text{m}$) dan ginjal KK2 ($14,120 \pm 2,516 \mu\text{m}$) (Tabel 4.1.2.10). Hal tersebut diduga karena dimer isoeugenol dosis 2 mg/kg bb, 6 mg/kg bb, dan 8 mg/kg bb dapat memberikan pengaruh nefroprotektif terhadap struktur tubulus proksimal ginjal, namun pengaruh tersebut sebatas cukup optimal. Jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal KP2 ($5,560 \pm 1,935 \mu\text{m}$) tidak berbeda nyata ($\alpha = 0,05$) dengan tubulus proksimal yang menutup pada ginjal KK1 ($3,440 \pm 1,645 \mu\text{m}$) dan berbeda nyata ($\alpha = 0,05$) dengan jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal KK2 ($14,120 \pm 2,516 \mu\text{m}$) (Tabel 4.1.2.10). Hal tersebut mungkin disebabkan dimer isoeugenol dosis 4 mg/kg bb dapat memberikan pengaruh nefroprotektif yang paling optimal terhadap struktur tubulus proksimal di antara dosis lainnya.

Dimer isoeugenol merupakan salah satu senyawa fenol yang memiliki aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan dimer isoeugenol berlangsung melalui mekanisme penangkapan radikal bebas (*radical scavenging*) (Yuda 2007: 64). Mekanisme tersebut diduga dapat mengurangi peroksidasi lipid oleh radikal triklorometil dari karbon tetraklorida dengan cara mengikat radikal tersebut sehingga reaktifitasnya berkurang atau hilang. Mekanisme penangkapan radikal bebas dapat menyebabkan stabilisasi membran sel (Ganie *et al.* 2010: 1677). Stabilisasi membran sel yang disebabkan oleh aktivitas penangkapan radikal bebas dimer isoeugenol diduga memberikan pengaruh nefroprotektif terhadap induksi karbon tetraklorida.

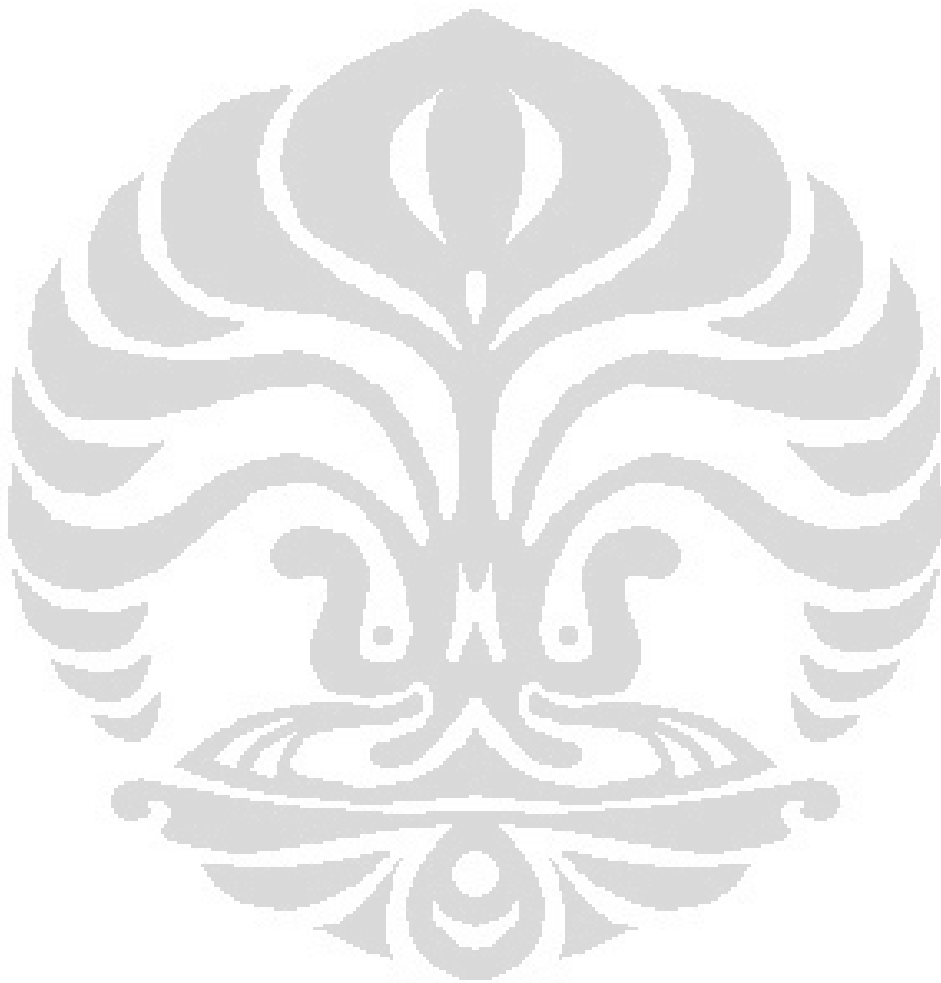
Pengaruh nefroprotektif dimer isoeugenol diketahui terdapat pada hampir setiap dosis yang digunakan, yaitu dosis 2 mg/kg bb (KP1), 4 mg/kg bb (KP2), 6 mg/kg bb (KP3), dan 8 mg/kg bb (KP4). Pengaruh nefroprotektif dimer

isoeugenol dosis 2 mg/kg bb, 4 mg/kg bb, dan 6 mg/kg bb terhadap struktur kapsula Bowman dan glomerulus cenderung menunjukkan hasil yang tidak berbeda jauh. Hal tersebut mungkin disebabkan oleh kisaran dosis yang tidak terlalu besar dan waktu pemberian yang tidak terlalu lama (7 hari), sehingga menghasilkan pengaruh yang hampir sama. Dimer isoeugenol dosis 8 mg/kg bb menunjukkan pengaruh yang lebih kecil daripada dosis lainnya, namun tidak berbeda jauh. Hal tersebut disebabkan bioaktivitas dimer isoeugenol pada dosis 8 mg/kg bb memungkinkan terjadinya efek toksik. Menurut Murakami *et al.* (2005: 331), dimer isoeugenol memiliki bioaktivitas antioksidan dan antiinflamasi. Namun menurut Yuda (2007: 61), dimer isoeugenol dalam konsentrasi 8,175 ppm (~8,175 mg/kg bb) memiliki bioaktivitas toksik.

Pengaruh nefroprotektif dimer isoeugenol dosis 4 mg/kg bb (KP2) terhadap jumlah tubulus proksimal yang menutup menunjukkan hasil yang paling optimal daripada dosis 2 mg/kg bb, 6 mg/kg bb, dan 8 mg/kg bb. Hal tersebut diduga disebabkan oleh dimer isoeugenol dosis 4 mg/kg bb merupakan dosis yang sesuai terhadap aktivitas antioksidan dimer isoeugenol pada tubulus proksimal ginjal. Dimer isoeugenol diketahui memiliki sifat prooksidatif. Namun, sifat prooksidatif tersebut lebih lemah dibandingkan dengan sifat prooksidatif bentuk senyawa awalnya, yaitu isoeugenol (Murakami *et al.* 2005: 331). Oleh karena itu, dimer isoeugenol dengan dosis-dosis tertentu mungkin dapat bersifat antioksidan efektif atau kurang efektif.

Berdasarkan analisis morfometri dengan pendekatan statistik terhadap diameter kapsula Bowman, diameter glomerulus, dan jumlah tubulus proksimal yang menutup, dimer isoeugenol dosis 2 mg/kg bb, 4 mg/kg bb, 6 mg/kg bb, dan 8 mg/kg bb memberikan pengaruh nefroprotektif terhadap ginjal mencit yang diinduksi karbon tetraklorida. Berdasarkan pengamatan makroskopik warna ginjal, dimer isoeugenol dosis 4 mg/kg bb dan 6 mg/kg bb memberikan pengaruh nefroprotektif terhadap ginjal mencit yang diinduksi karbon tetraklorida. Dosis dimer isoeugenol yang diduga paling baik memberikan pengaruh nefroprotektif terhadap struktur mikroskopik (kapsula Bowman, glomerulus, dan tubulus proksimal) dan makroskopik (warna) ginjal adalah dosis 4 mg/kg bb. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh

nefroprotektif dari dosis 4 mg/kg bb yang benar-benar optimal terutama terhadap struktur mikroskopik ginjal dengan pemberian dimer isoeugenol dalam waktu lebih dari 7 hari.



BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Penelitian mengenai uji potensi nefroprotektif senyawa dimer dari isoeugenol yang diberikan secara oral dengan dosis 2 mg/kg bb, 4 mg/kg bb, 6 mg/kg bb, dan 8 mg/kg bb memberikan pengaruh yang nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap diameter kapsula Bowman, diameter glomerulus, dan jumlah tubulus proksimal yang menutup, namun tidak memberikan pengaruh yang nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap jarak ruang Bowman dan berat basah ginjal. Berdasarkan hasil pengamatan makroskopik dan mikroskopik, dosis yang memberikan pengaruh nefroprotektif paling baik adalah dosis 4 mg/kg bb.

5.2. Saran

1. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruh nefroprotektif dosis 4 mg/kg bb yang benar-benar optimal dengan memberikan dimer isoeugenol dosis 4 mg/kg bb lebih dari 7 hari.
2. Perlu ditetapkan suatu ketentuan dalam membuat sediaan jaringan yang akan digunakan untuk mengukur diameter kapsula Bowman, glomerulus, dan ruang bowman agar hasil pengukuran yang didapatkan lebih baik.
3. Dimer isoeugenol dengan dosis lebih dari 8 mg/kg bb diketahui bersifat toksik. Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengetahui dosis dimer isoeugenol yang dapat ditoleransi oleh tubuh dalam waktu tertentu.

DAFTAR ACUAN

- Agungpriyono, D.W., E. Rahayu, & Praptiwi. 2008. Uji toksikopatologi hati dan ginjal mencit pada pemberian ekstrak Pauh Kijang (*Irvingia malayana* Oliv ex A. Benn). *Majalah Farmasi Indonesia* **19**(4): 172--174.
- Aimedawaty, L. 2010. Uji potensi nefroprotektif infus simplisia sirih merah (*Piper betle* L.) terhadap histologi ginjal *Mus musculus* L. jantan galur DDY. Skripsi Sarjana S1 Departemen Biologi FMIPA UI, Depok: xii +73 hlm.
- Aini, N., B. Purwono, & I. Tahir. 2007. Structure-antioxidant activities relationship analysis of isoeugenol, eugenol, vanilin, and their derivatives. *Indonesian Journal of Chemistry* **7**(1): 61--66.
- BALITBANGKES (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan). 2006. Info aktual: Gangguan kardiovaskuler pada penderita ginjal. 3 hlm. <http://www.litbang.depkes.go.id/aktual/kliping/ginjal250406.htm>. 20 Juni 2011, pk. 11.35 WIB.
- Bevelander, G. & J.A. Ramaley. 1988. *Dasar-dasar histologi. Ed.ke-8*. Terj. dari *Essentials of histology. 8th ed.*, oleh Gunarso, W. Penerbit Erlangga, Jakarta: 459 hlm.
- Burkitt, H.G., B. Young, & J.W. Heath. 1995. *Histologi fungsional. Ed.ke-3*. Terj. dari *Wheater's functional histology: A text and colour atlas, 3rd ed.*, oleh Tambajong, J. Penerbit Buku Kedokteran (EGC), Jakarta: viii + 407 hlm.
- Cahyaningsih, R.A. 2010. Efek nefroprotektif infus daun sukun (*Artocarpus altilis* (Park) Fsb.) ditinjau dari kadar urea dan kreatinin plasma serta gambaran histologis ginjal pada tikus jantan yang diinduksi karbon tetraklorida. Skripsi Sarjana S1 Fakultas Farmasi UI, Depok: xiv + 71 hlm.
- Corwin, E.J. 2000. *Buku saku patofisiologi*. Terj. dari *Handbook of pathophysiology*, oleh Brahm, U. Penerbit Buku Kedokteran (EGC), Jakarta: xxix + 696 hlm.
- Corwin, E.J. 2009. *Buku saku patofisiologi. Ed.ke-3*. Terj. dari *Handbook of*

- pathophysiology. 3rd ed.*, oleh Subekti, N.B. Penerbit Buku Kedokteran (EGC), Jakarta: xiv + 842 hlm.
- Debnath, S., N. Babre, Y.S. Manjunath, V. Mallareddy, P. Parameshwar, & K. Hariprasath. 2010. Nephroprotective evaluation of ethanolic extract of the seeds of papaya and pumpkin fruit in cisplatin-induced nephrotoxicity. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology* 2(6): 241--246.
- Dellmann, H.D. & E.M. Brown. 1992. *Buku teks histologi veteriner. Ed.ke-3*. Terj. dari *Textbook of veterinary histology. 3rd ed.*, oleh Hartono, R. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta: x + 718 hlm.
- Denisov, E.T. & I.B. Afanas'ev. 2005. *Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology*. CRC Press Taylor and Francis Group, USA: 975 hlm.
- Fishbein, L. 1979. *Potential industrial carcinogens and mutagens*. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam: x + 534 hlm.
- Gang, D.R., J. Wang, N. Dudareva, K.H. Nam, J.E. Simon, E. Lewinsohn, & E. Pichersky. 2001. An investigation of the storage and biosynthesis of phenylpropenes in sweet basil. *Plant Physiology* 125: 539--555.
- Ganie, S.A., E. Haq, A. Masood, & M.A. Zargar. 2010. Amelioration of carbon tetrachloride induced oxidative stress in kidney and lung tissues by ethanolic rhizome extract of *Podophyllum hexandrum* in Wistar rats. *Journal of Medicinal Plants Research* 4(16): 1673--1677.
- Guenther, E. 1990. *Minyak atsiri*. Terj. dari *The essential oils*, oleh Ketaren, S. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press), Jakarta: xvii + 851 hlm.
- Guyton, A.C. & J.E. Hall. 2006. *Textbook of medical physiology. 11th ed.* Elsevier Inc., New Delhi: xxxv + 1116 hlm.
- Harmita & M. Radji. 2004. *Analisis hayati*. Departemen Farmasi FMIPA UI, Depok: vi + 185 hlm.
- HERA (Human and Environmental Risk Assessment). 2005. *Isoeugenol*. 118 hlm. [http://www.heraproject.com/files/19-F-05-HERAIsoeugenol\(correctionsMay2005\).pdf](http://www.heraproject.com/files/19-F-05-HERAIsoeugenol(correctionsMay2005).pdf). 20 Juni 2011, pk. 21.25 WIB.
- Hidajati, W. 2010. Bertanam sawi (*Brassica juncea*). 2 hlm. <http://cybex.deptan.go.id/penyuluhan/bertanam-sawi-brassica-juncea>. 8

- April 2012, pk. 01.02 WIB.
- Hopkins, W.G. & N.P.A. Huner. 2009. *Introduction to plant physiology*. 4th ed. John Wiley & Sons, Inc. USA: xvii + 503 hlm.
- Jeyaratnam, J. & D. Koh. 2009. *Buku ajar praktik kedokteran kerja*. Terj. dari *Textbook of occupational medicine practice*, oleh Suryadi. Penerbit Buku Kedokteran (EGC), Jakarta: xiv + 375 hlm.
- Juniarti, D. Osmeli, & Yuhernita. 2009. Kandungan senyawa kimia, uji toksisitas (*brine shrimp lethality test*) dan antioksidan (1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazil) dari ekstrak daun saga (*Abrus precatorius* L.). *Makara Sains* **13**(1): 50--54.
- Kadoma, Y., W. Kumada, Y. Asai, Y. Sugita, I. Yokoe, & S. Fujisawa. 2007. Radical-scavenging activity of the reaction products of isoeugenol with thiol, thiophenol, mercaptothiazoline or mercaptomethylimidazole using the induction period method. *Molecules* **12**: 1836--1844.
- Koeduka, T., E. Fridman, D.R. Gangts, D.G. Vassao, B.L. Jacksons, C.M. Kishll, I. Orlovall, S.M. Spassova, N.G. Lewis, J.P. Noel, T.J. Baiga, N. Dudarevall, & E. Pichersky. 2006. Eugenol and isoeugenol, characteristic aromatic constituents of spices, are biosynthesized via reduction of a coniferyl alcohol ester. *Proceedings of The National Academy of Sciences* **103** (26): 10128--10133.
- Linzey, D. & C. Brecht. *Mus musculus* Linnaeus-house mouse. 5 hlm. <http://www.discoverlife.org/nh/tx/vertebrata/mammalia/muridae/Mus/musculus>. 11 Oktober 2011, pk. 16.45 WIB.
- Lu, F.C. 1995. *Toksikologi dasar: Asas, organ, sasaran, dan penilaian resiko*. Ed.ke-2. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press), Jakarta: xv + 428 hlm.
- Magliano, T.M.A. & J.J. Casal. 1998. In vitro cross-linking of extensin precursors by mustard extracellular isoforms of peroxidase that respond either to phytochrome or to wounding. *Journal of Experimental Botany* **49**(326): 1491--1499.
- Makwana, M.V., N.M. Pandya, D.N. Darji, S.A. Desai, & Bhaskar. 2012. Assessment of nephroprotective potential of *Sida cordifolia* Linn. in experimental animals. *Der Pharmacia Lettre* **4**(1): 175--180.

- Manitto, P. 1981. *Biosintesis produk alami*. Terj. dari *Biosynthesis of natural products*, oleh Koensoemardiyah. IKIP Semarang Press, Semarang: vi + 597 hlm.
- McDonald, J.H. 2009. Kruskal–Wallis test and Mann–Whitney U test. 6 hlm. <http://udel.edu/~mcdonald/statkruskalwallis.html>. 5 April 2012, pk. 15.18 WIB.
- Murakami, Y., M. Shojia, A. Hirata, S. Tanakaa, I. Yokoe, & S. Fujisawa. 2005. Dehydrodiisoeugenol, an isoeugenol dimer, inhibits lipopolysaccharide-stimulated nuclear factor kappa B activation and cyclooxygenase-2 expression in macrophages. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 434: 326--332.
- Mursyidi, A. 1985. *Statistika farmasi dan biologi*. Ghalia Indonesia, Jakarta: 158 hlm.
- NCBI (National Center for Biotechnology Information). 2012. Dehydrodiisoeugenol. 3 hlm. http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=5379033&lo c=ec_rcs. 29 Maret 2012, pk 01.51 WIB.
- Ngatidjan. 1991. *Petunjuk laboratorium: Metode laboratorium dalam toksikologi*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Yogyakarta: x + 283 hlm.
- NTP (National Toxicology Program). 2008. Toxicology and carcinogenesis studies of isoeugenol. 96 hlm. <http://ntp.niehs.nih.gov>. 6 Mei 2012, pk. 23.44 WIB.
- Olagunju, J.A., A.A. Adeneye, B.S. Fagbohunka, N.A. Bisuga, A.O. Ketiku, A.S. Benebo, O.M. Olufowobi, A.G. Adeoye, M.A. Alimi, & A.G. Adeleke. 2009. Nephroprotective activities of the aqueous seed extract of *Carica papaya* Linn. in carbon tetrachloride induced renal injured wistar rats: a dose- and time-dependent study. *Biology and Medicine*. **1**(1): 11--19.
- Pallor, M.S., J.R. Holdal, & T.F. Ferris. 1984. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *Journal of Clinical Investigation* 74: 1156--1164.
- Patera, J., J. Chorostowska, J. Slodkowska, A. Borowska, P. Skopinski, E. Sommer, A. Wasiutynski, & E. Skopinska. 2006. Morphometric and

- functional abnormalities of kidney in the progeny of mice fed chocolate during pregnancy and lactation. *Folia Histochemica et Cytobiologica* **44**(3): 207--211.
- Prodjosudjadi, W. & A. Suhardjono. 2009. End-stage renal disease in Indonesia: Treatment development. *Ethnicity & Disease*, **19**: 33--36.
- Rhoades, R.A. & G.A. Tanner. 1995. *Medical physiology. 1st ed.* Ruttle, Shaw, and Wetherill, Inc. New York: x + 839 hlm.
- Robbins, S.L., R.S. Cotran, & V. Kumar. 1999. *Buku saku dasar patologi penyakit. Ed.ke-5.* Terj. dari *Pocket companion to pathologic basis of disease. 5th ed.*, oleh Tjarta, A., S. Himawan, & N. Kurniawan. Penerbit Buku Kedokteran (EGC), Jakarta: x + 908 hlm.
- Scholbach, T. 1999. Color doppler sonographic determination of renal blood flow in healthy children. *Journal Ultrasound Medicine* **18**: 559--564.
- Seeley, R.R., T.D. Stephens, & P. Tate. 2002. *Essentials of anatomy and physiology. 4th ed.* McGraw-Hill Companies, Inc. New York: xx + 644 hlm.
- Setiadi. 2007. *Anatomi dan fisiologi manusia. Ed.ke-1.* Graha Ilmu, Yogyakarta: xviii + 310 hlm.
- Sihombing, M. & Raflizar. 2010. Status gizi dan fungsi hati mencit (galur CBC-Swiss) dan tikus putih (galur Wistar) di laboratorium hewan percobaan puslitbang biomedis dan farmasi. *Media Litbang Kesehatan* **20**(1): 33--40.
- Silalahi, J. 2006. *Makanan fungsional.* Penerbit Kanisius, Yogyakarta: 177 hlm.
- Singh, S., J.S. Melo, S. Eapen, & S.F. D'Souza. 2006. Phenol removal using *Brassica juncea* hairy roots: Role of inherent peroxidase and H₂O₂. *Journal of Biotechnology* **123**: 43--49.
- Singh, Y., D.V. Rao, & A. Batra. 2011. Enzyme activity changes in *Brassica juncea* (L.) Czern.& Coss. In response to *Albugo candida* Kuntz.(Pers.). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* **3**(3): 18--24.
- Sukandar, D., N. Radiastuti, A. Muawanah, & A. Hudaya. 2011. Antioxidant activity from water extract of kecombrang flower (*Etlingera elatior*) leading to jelly candy formulation. *Valensi* **2**(2): 393--398).
- Sunityoso, H.M.S. 1996. Pengaruh pencekokan ekstrak daun lamtoro *Leucaena*

- leucocephala* (Lam.) de Wit terhadap organ hati dan ginjal mencit (*Mus musculus* L.) galur Swiss Derived. Laporan Penelitian Departemen Biologi FMIPA UI, Depok: 9 hlm.
- Suntoro, H.S. 1983. *Metode pewarnaan*. Bhrata Karya Aksara, Jakarta: viii + 395.
- UACC (University Animal Care Committee). 2009. The laboratory mouse. 21 hlm. http://www.medicine.mcgill.ca/arc/forms/ed_train/HandoutMouseModule1Sept2009.pdf: 11 Oktober 2011, pk. 15.45 WIB.
- Underwood, J.C.E. 1999. *Patologi umum & sistemik. Ed.ke-2*. Terj. dari *General and systemic pathology, 2nd ed.*, oleh Sarjadi. Penerbit Buku Kedokteran (EGC), Jakarta: xii + 351 hlm.
- Wang, J., N. Dudareva, S. Bhakta, R.A. Raguso, & E. Pichersky. 1997. Floral scent production in *Clarkia breweri* (Onagraceae). *Plant Physiology* 114: 213--221.
- Westwood Security Shutters. 2012. RAL roller shutter colour chart. 6 hlm. <http://www.rollershutter.co.uk/152/ral-roller-shutter-colour-chart>. 26 April 2012, pk. 00.19.
- Wibowo, W., W. P. Suwarso, T. Utari, & H. Purwaningsih. 2002. Aplikasi reaksi katalisis heterogen untuk pembuatan vanili sintetik (3-hidroksi-2-metoksibenzaldehida) dari eugenol (4-allil-2-metoksifenol) minyak cengkeh. *Makara Sains* 6(3): 142--148.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan alami dan radikal bebas: Potensi dan aplikasinya dalam kesehatan*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta: 281 hlm.
- Wright, J. 2010. Horseradish. 44 hlm. http://herbsociety.org/herbs/documents/01-24-11Horseradish_Guide_single_without_buttons.pdf. 5 Maret 2012, pk. 22.07 WIB.
- Xu, Jing-Ying, Yuan-Yuan. Su, Jin-Sheng. Cheng, Shu-Xia. Li, R. Liu, Wen-Xin. Li, Guo-Tong, Xu, & Qing-Nuan, Li. 2010. Protective effects of fullerene on carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. *Carbon* 48: 1388--1396.
- Yuda, A. 2007. Bioaktivitas senyawa dimer dari isoeugenol dengan enzim peroksidase dari tanaman sawi hijau (*Brassica juncea*). Skripsi Sarjana S1

Departemen Kimia FMIPA UI, Depok: 82 hlm.

Zieve, D. & H.Y. Lin. 2011. End-stage kidney disease. 5 hlm.

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/000500.htm>. 4 April
2012, pk 02.15 WIB.

Lampiran 1
Penentuan dosis dimer isoeugenol

Diketahui:

LC₅₀ dimer isoeugenol = 8,175 ppm

(Yuda 2007: 61)

Volume maksimum pencekokan untuk mencit = 1 ml per 100 gr bb

= 10 ml/kg bb

(Aimedawaty 2010: 52)

Ditanya:

Dosis dimer isoeugenol yang diuji terhadap mencit?

Perhitungan:

Konsentrasi dimer isoeugenol tertinggi = 8,175 ppm

1 ppm = 1kg/L = 1.000.000 mg/L

= 1 mg/kg

8,175 ppm

~ 8,175 mg/kg bb

Dosis berdasarkan deret hitung (kelipatan 2)

< 8,175 mg/kg bb:

- Prapenelitian = 1 mg/kg bb, 2 mg/kg bb, 4 mg/kg bb, dan 8 mg/kg bb
- Penelitian = 2 mg/kg bb, 4 mg/kg bb, 6 mg/kg bb, dan 8 mg/kg bb

Penyesuaian terhadap volume pencekokan untuk mencit:

10 ml/kg bb ~ 8 mg/kg bb

1ml ~ 0,8 mg ~ 80 mg dalam 100 ml pelarut (minyak zaitun)

Lampiran 2

Pembuatan larutan karbon tetraklorida (CCl₄) dosis 400 mg/kg bb**Diketahui:**

Berat jenis CCl ₄	= 1,59 g/ml
Dosis yang digunakan	= 400 mg/kg bb
Standar berat badan mencit yang disuntik CCl ₄ (per ml)	= 100 g
Volume akhir yang dikehendaki	= 10 ml
Volume maksimal injeksi ke mencit (per 100 g bb)	= 1 ml

Ditanya:

Volume CCl₄ yang dibutuhkan

Perhitungan:

Dosis 400 mg/kg bb = 0,4 mg/g bb

0,4 mg/g bb x 100 g = 40 mg = 40 mg/ml = 0,04 g/ml

Volume CCl₄ yang dibutuhkan = $\frac{0,04 \text{ g/ml} \times 10 \text{ ml}}{1,59 \text{ g/ml}}$ = 0,251 ml

(lihat Aimedawaty 2010: 53)

Lampiran 3

Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap data rata-rata berat basah ginjal mencit
(*Mus musculus*)

Tujuan:

Untuk mengetahui distribusi data rata-rata berat basah ginjal mencit

Hipotesis:

H_0 : data rata-rata berat basah ginjal mencit berdistribusi normal

H_1 : data rata-rata berat basah ginjal mencit tidak berdistribusi normal

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Hasil perhitungan:

Perlakuan	Shapiro-Wilk		
	Statistik	db	P
KK1	0,552	5	0,000
KK2	0,684	5	0,006
KP1	0,833	5	0,146
KP2	0,961	5	0,814
KP3	0,894	5	0,377
KP4	0,552	5	0,000

Nilai P (signifikansi) KK1, KK2, dan KP4 $< 0,05$; maka H_0 ditolak

Kesimpulan:

Data rata-rata berat basah ginjal mencit tidak berdistribusi normal

Lampiran 4

Uji homogenitas Levene terhadap data rata-rata berat basah ginjal mencit (*Mus musculus*)

Tujuan:

Untuk mengetahui variansi data rata-rata berat basah ginjal mencit

Hipotesis:

H_0 : data rata-rata berat basah ginjal mencit bervariasi homogen

H_1 : data rata-rata berat basah ginjal mencit tidak bervariasi homogen

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Hasil perhitungan:

F hitung	db1	db2	P
2,281	5	24	0,079

Nilai P (signifikansi) data rata-rata berat basah ginjal ($0,079$) $> 0,05$; maka H_0 diterima

Kesimpulan:

Data rata-rata berat basah ginjal mencit bervariasi homogen

Lampiran 5

Uji nonparametrik Kruskal-Wallis terhadap data rata-rata berat basah ginjal
mencit (*Mus musculus*)

Tujuan:

Untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang nyata pada data rata-rata berat basah ginjal mencit

Hipotesis:

H_0 : data rata-rata berat basah ginjal mencit tidak berbeda nyata

H_1 : data rata-rata berat basah ginjal mencit berbeda nyata

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Hasil perhitungan:

	y
Chi-Square	1,208
Db	5
P	0,944

Nilai (P) signifikansi data rata-rata berat basah ginjal ($0,944 > 0,05$); maka H_0 diterima

Kesimpulan:

Data rata-rata berat basah ginjal mencit tidak berbeda nyata

Lampiran 6

Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap data rata-rata diameter kapsula Bowman ginjal mencit (*Mus musculus*)

Tujuan:

Untuk mengetahui distribusi data rata-rata diameter kapsula Bowman ginjal mencit

Hipotesis:

H_0 : data rata-rata diameter kapsula Bowman ginjal mencit berdistribusi normal

H_1 : data rata-rata diameter kapsula Bowman ginjal mencit tidak berdistribusi normal

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Hasil perhitungan:

Perlakuan	Shapiro-Wilk		
	Statistik	db	P
KK1	0,805	5	0,089
KK2	0,886	5	0,337
KP1	0,896	5	0,390
KP2	0,870	5	0,267
KP3	0,964	5	0,834
KP4	0,919	5	0,524

Nilai P (signifikansi) seluruh kelompok $> 0,05$; maka H_0 diterima

Kesimpulan:

Data rata-rata diameter kapsula Bowman ginjal mencit berdistribusi normal

Lampiran 7

Uji homogenitas Levene terhadap data rata-rata diameter kapsula Bowman ginjal mencit (*Mus musculus*)

Tujuan:

Untuk mengetahui variansi data rata-rata diameter kapsula Bowman ginjal mencit

Hipotesis:

H_0 : data rata-rata diameter kapsula Bowman ginjal mencit bervariasi homogen

H_1 : data rata-rata diameter kapsula Bowman ginjal mencit tidak bervariasi homogen

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Hasil perhitungan:

F hitung	db1	db2	P
0,815	5	24	0,551

Nilai P (signifikansi) data rata-rata diameter kapsula Bowman (0,551) > 0,05, maka H_0 diterima

Kesimpulan:

Data rata-rata diameter kapsula Bowman ginjal mencit bervariasi homogen

Lampiran 8

Uji Anava satu faktor terhadap data rata-rata diameter kapsula Bowman ginjal mencit (*Mus musculus*)

Tujuan:

Untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang nyata pada data rata-rata diameter kapsula Bowman ginjal mencit

Hipotesis:

H_0 : data rata-rata diameter kapsula Bowman ginjal mencit tidak berbeda nyata

H_1 : data rata-rata diameter kapsula Bowman ginjal mencit berbeda nyata

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Hasil perhitungan:

Keragaman	Jumlah kuadrat	Db	Kuadrat tengah	F hitung	P
Antara kelompok perlakuan	121,175	5	24,235	3,345	0,020

Nilai P (signifikansi) rata-rata diameter kapsula Bowman ($0,020 < 0,05$); maka H_0 ditolak

Kesimpulan:

Data rata-rata diameter kapsula Bowman ginjal mencit berbeda nyata

Lampiran 9

Uji perbandingan berganda LSD terhadap data rata-rata diameter kapsula

Bowman ginjal mencit (*Mus musculus*)

Tujuan:

Untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan rata-rata diameter kapsula Bowman ginjal mencit antarpasangan kelompok perlakuan

Hipotesis:

H_0 : tidak terdapat perbedaan rata-rata diameter kapsula Bowman ginjal mencit antarpasangan kelompok perlakuan

H_1 : terdapat perbedaan rata-rata diameter kapsula Bowman ginjal mencit antarpasangan kelompok perlakuan

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Hasil perhitungan:

Perlakuan (I)	Perlakuan (J)	Selisih rata-rata (I-J)	Standard Error	(P)	Interval kepercayaan 95%	
					Batas bawah	Batas atas
KK1	KK2	3,707600(*)	1,702477	0,039	0,19386	7,22134
	KP1	-0,552400	1,702477	0,748	-4,06614	2,96134
	KP2	-2,065800	1,702477	0,237	-5,57954	1,44794
	KP3	-1,535000	1,702477	0,376	-5,04874	1,97874
	KP4	1,989200	1,702477	0,254	-1,52454	5,50294

KK2	KK1	- 3,707600(*)	1,702477	0,039	-7,22134	- 0,19386
	KP1	- 4,260000(*)	1,702477	0,020	-7,77374	- 0,74626
	KP2	- 5,773400(*)	1,702477	0,002	-9,28714	- 2,25966
	KP3	- 5,242600(*)	1,702477	0,005	-8,75634	- 1,72886
	KP4	-1,718400	1,702477	0,323	-5,23214	1,79534
KP1	KK1	0,552400	1,702477	0,748	-2,96134	4,06614
	KK2	4,260000(*)	1,702477	0,020	0,74626	7,77374
	KP2	-1,513400	1,702477	0,383	-5,02714	2,00034
	KP3	-0,982600	1,702477	0,569	-4,49634	2,53114
	KP4	2,541600	1,702477	0,148	-0,97214	6,05534
KP2	KK1	2,065800	1,702477	0,237	-1,44794	5,57954
	KK2	5,773400(*)	1,702477	0,002	2,25966	9,28714
	KP1	1,513400	1,702477	0,383	-2,00034	5,02714
	KP3	0,530800	1,702477	0,758	-2,98294	4,04454
	KP4	4,055000(*)	1,702477	0,026	0,54126	7,56874
KP3	KK1	1,535000	1,702477	0,376	-1,97874	5,04874
	KK2	5,242600(*)	1,702477	0,005	1,72886	8,75634

	KP1	0,982600	1,702477	0,569	-2,53114	4,49634
	KP2	-0,530800	1,702477	0,758	-4,04454	2,98294
	KP4	3,524200(*)	1,702477	0,049	0,01046	7,03794
KP4	KK1	-1,989200	1,702477	0,254	-5,50294	1,52454
	KK2	1,718400	1,702477	0,323	-1,79534	5,23214
	KP1	-2,541600	1,702477	0,148	-6,05534	0,97214
	KP2	- 4,055000(*)	1,702477	0,026	-7,56874	- 0,54126
	KP3	- 3,524200(*)	1,702477	0,049	-7,03794	- 0,01046

(*) $P < 0,05$: terdapat perbedaan yang nyata antara kelompok perlakuan

Kesimpulan:

Terdapat perbedaan rata-rata diameter kapsula Bowman ginjal antara mencit KK2 dengan KK1, KP1, KP2, KP3; dan KP4 dengan KP2 dan KP3

Lampiran 10

Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap data rata-rata diameter glomerulus ginjal
mencit (*Mus musculus*)

Tujuan:

Untuk mengetahui distribusi data rata-rata diameter glomerulus ginjal
mencit

Hipotesis:

H_0 : data rata-rata diameter glomerulus ginjal mencit
berdistribusi normal

H_1 : data rata-rata diameter glomerulus ginjal mencit tidak
berdistribusi normal

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Hasil perhitungan:

Perlakuan	Statistik	Shapiro-Wilk (db)	P
KK1	0,839	5	0,163
KK2	0,921	5	0,535
KP1	0,687	5	0,007
KP2	0,942	5	0,678
KP3	0,928	5	0,586
KP4	0,799	5	0,080

Nilai P (signifikansi) KP1 (0,007) $< 0,05$; maka H_0 ditolak

Kesimpulan:

Data rata-rata diameter glomerulus ginjal mencit tidak berdistribusi normal

Lampiran 11

Uji homogenitas Levene terhadap data rata-rata diameter glomerulus ginjal mencit
(*Mus musculus*)

Tujuan:

Untuk mengetahui variansi data rata-rata diameter glomerulus ginjal mencit

Hipotesis:

H_0 : data rata-rata diameter glomerulus ginjal mencit bervariasi homogen

H_1 : data rata-rata diameter glomerulus ginjal mencit tidak bervariasi homogen

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Hasil perhitungan:

F hitung	db1	db2	P
2,921	5	24	0,034

Nilai P (signifikansi) data rata-rata diameter glomerulus (0,034) < 0,05; maka H_0 ditolak

Kesimpulan:

Data rata-rata diameter glomerulus ginjal mencit tidak bervariasi homogen

Lampiran 12

Uji nonparametrik Kruskal-Wallis terhadap data rata-rata diameter glomerulus ginjal mencit (*Mus musculus*)

Tujuan:

Untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang nyata pada data rata-rata diameter glomerulus ginjal mencit

Hipotesis:

H_0 : data rata-rata diameter glomerulus ginjal mencit tidak berbeda nyata

H_1 : data rata-rata diameter glomerulus ginjal mencit berbeda nyata

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Hasil perhitungan:

	y
Chi-Square	14,994
Db	5
P	0,010

Nilai signifikansi (P) (0,010) < 0,05; maka H_0 ditolak

Kesimpulan:

Data rata-rata diameter glomerulus ginjal mencit berbeda nyata

Lampiran 13

Uji nonparametrik Mann-Whitney terhadap data rata-rata diameter glomerulus ginjal mencit (*Mus musculus*)

Tujuan:

Untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan rata-rata diameter glomerulus ginjal mencit antarpasangan kelompok perlakuan

Hipotesis:

H_0 : tidak terdapat perbedaan rata-rata diameter glomerulus ginjal mencit antarpasangan kelompok perlakuan

H_1 : terdapat perbedaan rata-rata diameter glomerulus ginjal mencit antarpasangan kelompok perlakuan

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Hasil perhitungan:

Perlakuan	Perlakuan	P
KK1	KK2	0,009(*)
	KP1	0,465
	KP2	0,076
	KP3	0,295
	KP4	0,602
KK2	KP1	0,009(*)
	KP2	0,009(*)
	KP3	0,009(*)
	KP4	0,076
KP1	KP2	0,347
	KP3	0,347
	KP4	0,347

KP2	KP3	0,754
	KP4	0,076
KP3	KP4	0,076

(*) $P < 0,05$: terdapat perbedaan yang nyata antara kelompok perlakuan

Kesimpulan:

Terdapat perbedaan rata-rata diameter glomerulus ginjal antara mencit KK2 dengan KK1, KP1, KP2, dan KP3

Lampiran 14

Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap data rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus ginjal mencit (*Mus musculus*)

Tujuan:

Untuk mengetahui distribusi data rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus ginjal mencit

Hipotesis:

H_0 : data rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus ginjal mencit berdistribusi normal

H_1 : data rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus ginjal mencit tidak berdistribusi normal

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Hasil perhitungan:

Perlakuan	Statistik	Shapiro-Wilk (db)	P
KK1	0,987	5	0,966
KK2	0,974	5	0,900
KP1	0,881	5	0,313
KP2	0,808	5	0,095
KP3	0,948	5	0,722
KP4	0,934	5	0,627

Nilai P (signifikansi) seluruh kelompok $> 0,05$; maka H_0 diterima

Kesimpulan:

Data rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus ginjal mencit berdistribusi normal

Lampiran 15

Uji homogenitas Levene terhadap data rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus ginjal mencit (*Mus musculus*)

Tujuan:

Untuk mengetahui variansi data rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus ginjal mencit

Hipotesis:

H_0 : data rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus ginjal mencit bervariasi homogen

H_1 : data rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus ginjal mencit tidak bervariasi homogen

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Hasil perhitungan:

F hitung	db1	db2	P
2,180	5	24	0,090

Nilai P (signifikansi) data rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus ginjal ($0,090$) $> 0,05$; maka H_0 diterima

Kesimpulan:

Data rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus ginjal mencit bervariasi homogen

Lampiran 16

Uji Anava satu faktor terhadap data rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus ginjal mencit (*Mus musculus*)

Tujuan:

Untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang nyata pada data rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus ginjal mencit

Hipotesis:

H_0 : data rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus ginjal mencit tidak berbeda nyata

H_1 : data rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus ginjal mencit berbeda nyata

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Hasil perhitungan:

Keragaman	Jumlah kuadrat	Db	Kuadrat tengah	F hitung	P
Antara kelompok perlakuan	0,627	5	0,125	1,735	0,165

Nilai P (signifikansi) rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus ginjal ($0,165$) $> 0,05$; maka H_0 diterima

Kesimpulan:

Data rata-rata jarak kapsula Bowman dengan glomerulus ginjal mencit tidak berbeda nyata

Lampiran 17

Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap data rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal mencit (*Mus musculus*)

Tujuan:

Untuk mengetahui distribusi data rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal mencit

Hipotesis:

H₀: data rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal mencit berdistribusi normal

H₁: data rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal mencit tidak berdistribusi normal

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H₀ ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H₀ diterima

Hasil perhitungan:

Perlakuan	Statistik	Shapiro-Wilk (db)	P
KK1	0,822	5	0,121
KK2	0,841	5	0,168
KP1	0,852	5	0,199
KP2	0,888	5	0,347
KP3	0,942	5	0,681
KP4	0,972	5	0,888

Nilai P (signifikansi) seluruh kelompok $> 0,05$; maka H₀ diterima

Kesimpulan:

Data rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal mencit berdistribusi normal

Lampiran 18

Uji homogenitas Levene terhadap data rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal mencit (*Mus musculus*)

Tujuan:

Untuk mengetahui variansi data rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal mencit

Hipotesis:

H_0 : data rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal mencit bervariasi homogen

H_1 : data rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal mencit tidak bervariasi homogen

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Hasil perhitungan:

F hitung	db1	db2	P
1,618	5	24	0,193

Nilai P (signifikansi) data rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup (0,193) $> 0,05$; maka H_0 diterima

Kesimpulan:

Data rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal mencit bervariasi homogen

Lampiran 19

Uji Anava satu faktor terhadap data rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal mencit (*Mus musculus*)

Tujuan:

Untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang nyata data rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal mencit

Hipotesis:

H₀: data rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal mencit tidak berbeda nyata

H₁: data rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal mencit berbeda nyata

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H₀ ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H₀ diterima

Hasil perhitungan:

Keragaman	Jumlah kuadrat	Db	Kuadrat tengah	F hitung	P
Antara kelompok perlakuan	328,919	5	65,784	12,418	0,000

Nilai P (signifikansi) rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal ($0,000 < 0,05$); maka H₀ ditolak

Kesimpulan:

Data rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal mencit berbeda nyata

Lampiran 20

Uji perbandingan berganda LSD terhadap data rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal mencit (*Mus musculus*)

Tujuan:

Untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal mencit antarpasangan kelompok perlakuan

Hipotesis:

H₀: tidak terdapat perbedaan rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal mencit antarpasangan kelompok perlakuan

H₁: terdapat perbedaan rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal mencit antarpasangan kelompok perlakuan

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H₀ ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H₀ diterima

Hasil perhitungan:

Perlakuan (I)	Perlakuan (J)	Selisih mean (I-J)	Standard Error	P	Interval kepercayaan 95%	
					Batas bawah	Batas atas
KK1	KK2	-10,6800(*)	1,4557	0,000	-13,684	-7,676
	KP1	-3,5200(*)	1,4557	0,024	-6,524	-0,516
	KP2	-2,1200	1,4557	0,158	-5,124	0,884
	KP3	-4,1600(*)	1,4557	0,009	-7,164	-1,156
	KP4	-5,4000(*)	1,4557	0,001	-8,404	-2,396
KK2	KK1	10,6800(*)	1,4557	0,000	7,676	13,684
	KP1	7,1600(*)	1,4557	0,000	4,156	10,164
	KP2	8,5600(*)	1,4557	0,000	5,556	11,564

	KP3	6,5200(*)	1,4557	0,000	3,516	9,524
	KP4	5,2800(*)	1,4557	0,001	2,276	8,284
KP1	KK1	3,5200(*)	1,4557	0,024	0,516	6,524
	KK2	-7,1600(*)	1,4557	0,000	-10,164	-4,156
	KP2	1,4000	1,4557	0,346	-1,604	4,404
	KP3	-0,6400	1,4557	0,664	-3,644	2,364
	KP4	-1,8800	1,4557	0,209	-4,884	1,124
KP2	KK1	2,1200	1,4557	0,158	-0,884	5,124
	KK2	-8,5600(*)	1,4557	0,000	-11,564	-5,556
	KP1	-1,4000	1,4557	0,346	-4,404	1,604
	KP3	-2,0400	1,4557	0,174	-5,044	0,964
	KP4	-3,2800(*)	1,4557	0,034	-6,284	-0,276
KP3	KK1	4,1600(*)	1,4557	0,009	1,156	7,164
	KK2	-6,5200(*)	1,4557	0,000	-9,524	-3,516
	KP1	0,6400	1,4557	0,664	-2,364	3,644
	KP2	2,0400	1,4557	0,174	-0,964	5,044
	KP4	-1,2400	1,4557	0,403	-4,244	1,764
KP4	KK1	5,4000(*)	1,4557	0,001	2,396	8,404
	KK2	-5,2800(*)	1,4557	0,001	-8,284	-2,276
	KP1	1,8800	1,4557	0,209	-1,124	4,884
	KP2	3,2800(*)	1,4557	0,034	0,276	6,284
	KP3	1,2400	1,4557	0,403	-1,764	4,244

(*) $P < 0,05$: terdapat perbedaan yang nyata antara kelompok perlakuan

Kesimpulan:

Terdapat perbedaan rata-rata jumlah tubulus proksimal yang menutup pada ginjal antara mencit KK2 dengan KK1, KP1, KP2, KP3 dan KP4; KK1 dengan KK2, KP1, KP3 dan KP4; dan KP2 dengan KK2 dan KP4.

Lampiran 21

Standar warna

1000 Green Beige	1001 Pale Beige	1002 Sand Yellow	1003 Signal Yellow	1004 Dark Golden Yellow	1005 Honey Yellow	1006 Maize Yellow	1007 Chrome Yellow	1011 Brown Beige
1012 Lemon Yellow	1013 Pearl White	1014 Dark Ivory	1015 Light Ivory	1016 Sulphur Yellow	1017 Saffron Yellow	1018 Zinc Yellow	1019 Grey Beige	1020 Olive Yellow
1021 Cadmium Yellow	1023 Traffic Yellow	1024 Ochre Yellow	1027 Curry Yellow	1028 Mellon Yellow	1032 Broom Yellow	1033 Dahlia Yellow	1034 Pastel Yellow	2000 Yellow Orange
2001 Red Orange	2002 Vermillion	2003 Pastel Orange	2004 Pure Orange	2008 Lt Red Orange	2009 Traffic Orange	2010 Signal Orange	2011 Deep Orange	2012 Salmon Orange
3000 Flame Red	3001 Signal Red	3002 Carmine Red	3003 Ruby Red	3004 Purple Red	3005 Wine Red	3007 Black Red	3009 Oxide Red	3011 Brown Red
3012 Beige Red	3013 Tomato Red	3014 Antique Pink	3015 Light Pink	3016 Coral Red	3017 Rose	3018 Strawberry Red	3020 Traffic Red	3022 Salmon Red
3027 Raspberry Red	3031 Orient Red	4001 Red Lilac	4002 Red Violet	4003 Heather Violet	4004 Claret Violet	4005 Blue Lilac	4006 Traffic Purple	4007 Purple Violet
4008 Signal Violet	4009 Pastel Violet	5000 Violet Blue	5001 Green Blue	5002 Ultramarine Blue	5003 Sapphire Blue	5004 Black Blue	5005 Signal Blue	5007 Brilliant Blue
5008 Grey Blue	5009 Azure Blue	5010 Gentian Blue	5011 Steel Blue	5012 Light Blue	5013 Cobalt Blue	5014 Pigeon Blue	5015 Middle Sky Blue	5017 Traffic Blue
5018 Turkish Blue	5019 Capri Blue	5020 Ocean Blue	5021 Water Blue	5022 Night Blue	5023 Fern Blue	5024 Pastel Blue	6000 Patina Green	6001 Emerald Green
6002 Leaf Green	6003 Olive Green	6004 Blue Green	6009 Fir Green	6010 Grass Green	6011 Reseda Green	6012 Black Green	6013 Reed Green	6014 Yellow Olive
6015 Black Olive	6016 Turquoise Green	6017 May Green	6018 Yellow Green	6019 Pastel Green	6020 Chrome Green	6021 Pale Green	6022 Brown Olive	6024 Traffic Green
6025 Bracken Green	6026 Opal Green	6027 Turkish Green	6028 Pinetree green	6029 Mint Green	6032 Signal Green	6033 Turquoise Blue	6034 Pale Turquoise	7000 Squirrel Grey
7001 Silver Grey	7002 Olive Grey	7003 Moss Grey	7004 Signal Grey	7005 Mouse Grey	7006 Beige Grey	7008 Khaki Grey	7009 Green Grey	7010 Tarpaulin Grey
7011 Iron Grey	7012 Basalt Grey	7013 Brown Grey	7015 Slate Grey	7016 Anthracite Grey	7021 Black Grey	7022 Umber Grey	7023 Concrete Grey	7024 Graphite Grey

[Sumber: Westwood Security 2012: 2]