

**PENGARUH EKSTRAK PROPOLIS (metode CMCE)
TERHADAP KADAR MDA DAN DEGENERASI
TUBULUS RENALIS**

**(Studi Eksperimental Pada Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus
Norvegicus*) Diinduksi oleh Gentamicin)**

Tesis



Magister Ilmu Biomedik

Alamsyah
MBK 17.9.01.0112

**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG 2021**

TESIS

**PENGARUH EKSTRAK PROPOLIS (metode CMCE) TERHADAP
KADAR MDA DAN DEGENERASI TUBULUS RENALIS**

**Studi Eksperimental Pada Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus Norvegicus*)
Diinduksi oleh Gentamicin**

Disusun oleh

**Alamsyah
MBK 17.9.01.0112**

telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 11 Februari 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,
Pembimbing

Pemimbing I

Pembimbing II

Dr. dr. Shofa Chaasani, Sp. PD-KGH, Finacim
NIDN. 5025104

Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes
NIDN. 0616116601

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Islam Sultan Agung Semarang

Prof. Dr. dr.H.Taufiqurrahman Nasihun, M.Kes, Sp.And
NIK. 220186022

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum / tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 11 Februari 2021



Alamsyah



KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan seluasnya kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayahnya sehingga dapat menyelesaikan penyusunan tesis ini dengan judul **Pengaruh Ekstrak Propolis (metode CMCE) terhadap kadar MDA dan Degenerasi Tubulus Renalis.**

Kami mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak dalam pengarahan proses penyusunan tesis ini, Terkhusus tentunya kepada yang terhormat:

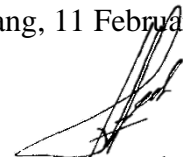
1. **Drs. Bedjo Santoso, MT, Ph.D** selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA). Yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti pendidikan di program Magister Biomedik.
2. **Dr. dr. Setyo Trisnadi, S.H, Sp.F** selaku dekan Fakultas Kedokteran UNISSULA. Yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti pendidikan di program Magister Biomedik.
3. **Prof. Dr. dr. H. Taufiqurrachman Nasihun, M.Kes, Sp.And** selaku Program Studi Magister Biomedik UNISSULA dan penguji 1 yang telah memberikan banyak ilmu dan pengetahuan selama mengikuti program magister khususnya pada penyusunan tesis ini.
4. **Dr. dr. Shofa Chaasani, Sp.PD-KGH, Finacim** selaku pembimbing I yang telah memberikan dorongan, semangat, bimbingan dan masukan penyusun selama mengikuti program magister khususnya pada penyusunan tesis ini.

5. **Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes** selaku pembimbing II yang telah memberikan dorongan, semangat bimbingan masukan penyusun selama penyusunan tesis ini.
6. **Dr. Ir. Hj. Titiék Sumarawati, M.Kes** selaku penguji 2 yang telah memberikan banyak ilmu dan pengetahuan selama mengikuti program magister khususnya pada penyusunan tesis ini.
7. **Dr. dr. Hj. Chodidjah, M.Kes** selaku penguji 3 yang telah memberikan banyak ilmu dan pengetahuan selama mengikuti program magister khususnya pada penyusunan tesis ini.
8. Pada dosen pengajar dan rekan – rekan staf Magister Biomedik yang tidak dapat disebutkan satu – satu yang telah memberikan doa dan dorongan kepada penyusun.
9. Orang tua kami yang tercinta yang telah memberikan semua doa yang terbaik untuk anaknya sehingga tesis ini dapat terselesaikan.
10. Seluruh pihak yang telah membantu dalam penyusunan tesis yang tidak bisa dibetkan satu persatu.

Sebagai manusia yang tidak luput dari kesalahan, kami berharap dengan semua kekurangan dalam penulisan tugas akhir ini, tetap dapat memberikan manfaat bagi kami pribadi, bagi Program Pendidikan Magister Program Studi Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Islam Sultan Agung, serta bagi pihak – pihak lain yang berkepentingan.

Akhir kata semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan berkah dan rahmatnya kepada kita semua, amin

Semarang, 11 Februari 2021



Alamsyah



DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	ii
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
DAFTAR SINGKATAN.....
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Umum.....	5
1.4 Tujuan Khusus.....	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
1.6 Originalitas Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Degenerasi Tubulus Renalis	9
2.2 Malodialdehid (MDA).....	18
2.3 Propolis.....	19
2.4 Gentamisin.....	35
2.5 Mekanisme Degenerasi Tubulus Renalis dan Peningkatkan Kadar MDA Akibat Gentamisin	36
2.6 Mekanisme Ekstrak Propolis dalam Penurunan Kadar MDA dan Perbaikan Tubulus Renalis.....	41
2.7 Faktor yang mempengaruhi kadar MDA dan Degenerasi Tubulus Renalis	46
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	44
3.1 Kerangka Teori.....	44
3.2 Kerangka Konsep	47
3.3 Hipotesis.....	47
BAB IV METODE PENELITIAN	48

4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian	48
4.2	Tempat dan Waktu Penelitian	49
4.3	Populasi dan Sampel Penelitian	50
4.4	Variabel	51
4.5	Definisi Operational	52
4.6	Alat dan Bahan	53
4.7	Cara Penelitian	53
4.8	Alur penelitian	54
4.9	Analisis Statistik.....	55
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN		56
5.1	Hasil Penelitian.....	56
5.2	Pembahasan	60
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....		66
6.1	Kesimpulan.....	66
6.2	Saran	66
DAFTAR PUSTAKA		67
LAMPIRAN.....		70



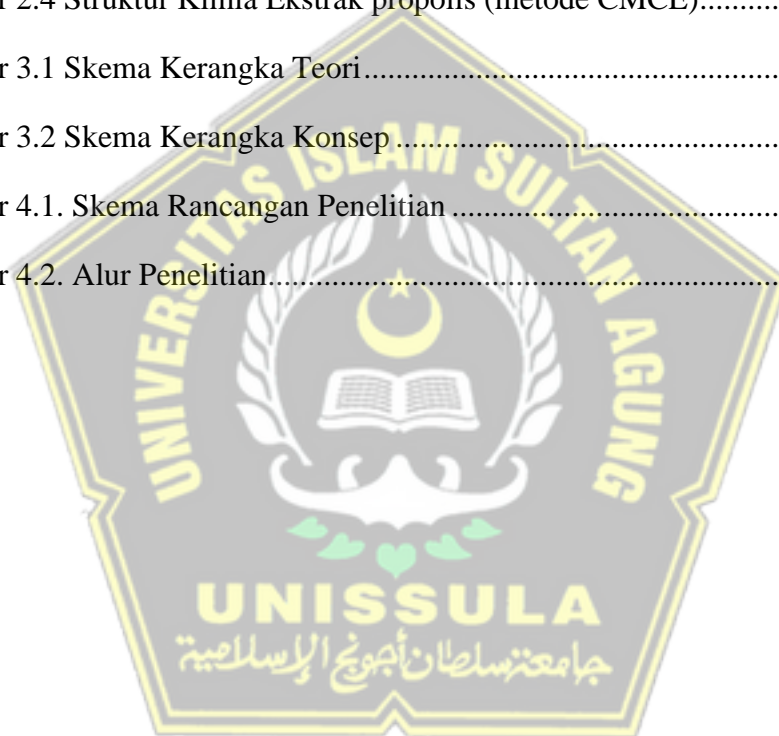
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1.1 Originalitas Penelitian.....	6
Tabel 2.1 Komposisi ekstrak propolis (metode CMCE).....	30
Tabel 2.2 Data Biologis Tikus Wistar.....	49



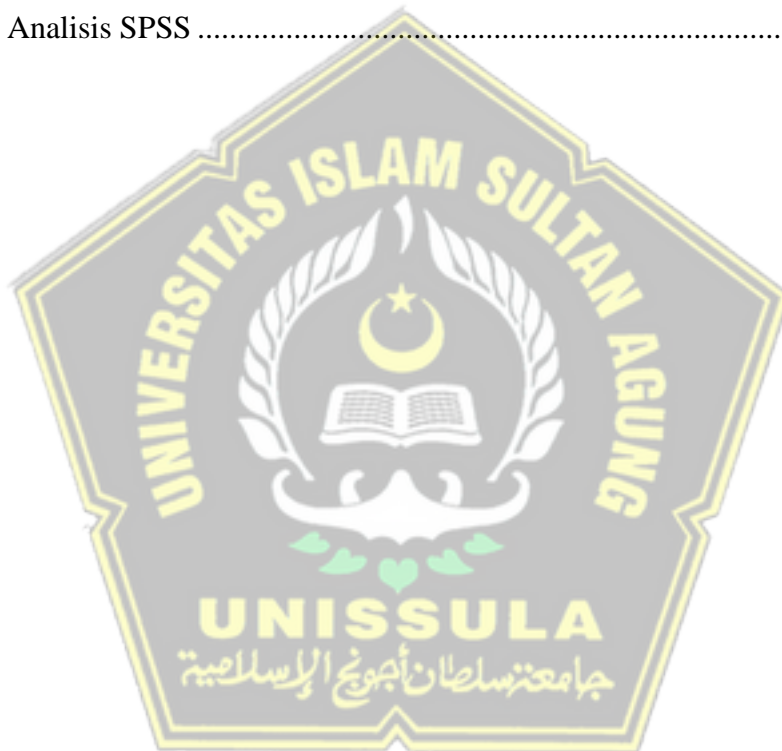
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Histologi Ginjal Normal	15
Gambar 2.2 Anatomi Ginjal	18
Gambar 2.3 Representasi komponen kimia	24
Gambar 2.4 Struktur Kimia Ekstrak propolis (metode CMCE).....	31
Gambar 3.1 Skema Kerangka Teori.....	52
Gambar 3.2 Skema Kerangka Konsep	53
Gambar 4.1. Skema Rancangan Penelitian	54
Gambar 4.2. Alur Penelitian.....	64




DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Cara Pembuatan Ekstrak Propolis (Metode CMCE).....	71
2. Cara Pengukuran Kadar MDA dengan Uji TBA	71
3. Pembuatan Preparat Histopatologi Ginjal.....	72
4. Hasil Analisis SPSS	73



DAFTAR SINGKATAN



LDH	: <i>Laktat Dehidrogenase</i>
MDA	: <i>Malondialdehid</i>
CAPE	: <i>Caffeic acid phenethyl ester</i>
SOD	: <i>Super Oxyde Dismutase</i>
HDL	: <i>High-Density Lipoprotein</i>
IFN	: <i>Interferon</i>
IL-1	: <i>Interlukin 1</i>
IL-2	: <i>Interlukin 2</i>
IL-4	: <i>Interlukin 4</i>
IL-6	: <i>Interleukin 6</i>
IL-10	: <i>Interleukin 10</i>
IL-12	: <i>Interleukin 12</i>
IL-13	: <i>Interleukin 13</i>
ATP	: <i>Adenosin Triphosphat</i>
HIV	: <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
NF-κB	: <i>Nuclear Factor Kappa B</i>
NO	: <i>Nitric Oxida</i>
CMCE	: <i>Continuous Multi-Stage Countercurrent Extraction</i>
DAMPs	: <i>Danger-Associated-Molecular-Pattern molecules</i>
PAMPs	: <i>Pathogen- Associated-Molecular-Pattern molecules</i>
ORAC	: <i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
TLR	: <i>Toll Like Receptor</i>
GnGA	: <i>Gangguan Ginjal Akut</i>
BUN	: <i>Blood Urea Nitrogen</i>
NTA	: <i>Nekrosis Tubuler Akut</i>
WHO	: <i>World Health Organizations</i>
ATP	: <i>Adenosina trifosfat</i>

BHA : *Butylated hydroxyanisole*
BHT : *Butylated hydroxytoluene*
HE : *Hematoksin-Eosin*
COX : *Cyclooxygenase*
LOX : *Lipoxygenase*



ABSTRAK

Gangguan ginjal akut (GnGA) merupakan suatu keadaan dimana proses laju filtrasi glomerulus ginjal menurun secara cepat yang menyebabkan retensi nitrogen terutama kreatinin dan *blood urea nitrogen* (BUN). Kondisi ini dapat dinetralkan dengan mengkonsumsi antioksidan dari luar tubuh seperti Propolis (metode CMCE). Untuk mengetahui pengaruh ekstrak propolis (metode CMCE) terhadap kadar MDA dan degenerasi tubulus renalis. Penelitian ekperimental dengan pendekatan *post test only control group design*. Subyek penelitian berjumlah 25 ekor tikus jantan galur *wistar* yang dibagi secara acak menjadi 5 kelompok. Kelompok K1 tanpa diinduksi gentamisin. Kelompok K2 diinduksi gentamisin dan tanpa diberi ekstrak propolis metode CMCE. Kelompok P1, P2 dan P3 diinduksi gentamisin dan ekstrak propolis metode CMCE masing-masing dengan dosis 200, 400, 800 mg/kg BB per hari per oral selama 7 hari. pemeriksaan kadar Malondialdehid (MDA) di IBL FK UNISSULA dan pemeriksaan degenerasi tubulus renalis di RSI Sultan Agung Semarang pada Maret - Juli 2020. Uji *One Way Anova* menunjukkan perbedaan bermakna pada kadar MDA dan degenerasi tubulus renalis menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$). Pemberian ekstrak propolis metode CMCE menunjukkan berpengaruh secara signifikan terhadap kadar MDA dan skor total degenerasi tubulus renalis yang diinduksi gentamisin.

Kata Kunci : *Ekstrak propolis metode CMCE, Malondialdehid, Degenerasi tubulus renalis*

ABSTRACT

Acute renal impairment (GnGA) is a condition in which the process of renal glomerular filtration rate decreases rapidly which causes nitrogen retention, especially creatinine and blood urea nitrogen (BUN). This condition can be neutralized by consuming antioxidants from outside the body such as Propolis (CMCE method). To determine the effect of propolis extract (CMCE method) on MDA levels and renal tubular degeneration. Experimental research with a post test only control group design approach. The research subjects were 25 male Wistar rats which were divided randomly into 5 groups. Group K1 without being induced by gentamicin. The K2 group was induced by gentamicin and without being given propolis extract with the CMCE method. Groups P1, P2 and P3 induced gentamicin and propolis extract with CMCE method, each with a dose of 200, 400, 800 mg / k, BW per day orally for 7 days. examination of Malondialdehyde levels (MDA) at IBL FK UNISSULA and examination of renal tubular degeneration at RSI Sultan Agung Semarang in March - July 2020. One Way Anova test showed significant differences in MDA levels and renal tubular degeneration showed significant differences ($p < 0.05$). The administration of propolis extract with the CMCE method showed a significant effect on MDA levels and the total score of gentamicin-induced renal tubular degeneration.

Keywords : *Propolis extract method CMCE, Malondialdehyde, Degeneration tubule renalis*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Gangguan ginjal akut (GnGA) merupakan suatu keadaan dimana proses laju filtrasi glomerulus ginjal menurun secara cepat yang menyebabkan retensi nitrogen terutama kreatinin dan *blood urea nitrogen* (BUN). Penyebab GnGA dibagi menjadi 3 kategori yaitu *prerenal*, *renal*, dan *postrenal* dimana persentase terbesar adalah kategori renal yaitu 35%.¹ Degenerasi sel epitel tubulus renalis masuk dalam kategori renal yang dapat dipicu oleh obat-obatan nefrotoksik seperti gentamisin.² Penggunaan obat vasodilator seperti dopamine dosis rendah sebagai terapi GnGA dapat menyebabkan iskemik miokardial, *hipopituitarisme*, dan penurunan fungsi sel T. Obat diuretik tidak dianjurkan kecuali untuk pengelolaan volume cairan yang berlebihan. Sejumlah 4683 pasien yang telah dievaluasi di seluruh dunia, sebanyak 1261 merupakan pasien GnGA dan sebanyak 543 pasien dengan GnGA yang parah.³ Angka kejadian GnGA akibat amino glikosida bervariasi, yaitu antara 5% sampai 25%.⁴ Selain itu, ekstrak propolis (metode CMCE) telah banyak dipakai oleh masyarakat luas terutama di Indonesia. Oleh sebab itu ekstrak propolis (metode CMCE) diperlukan sebagai alternatif baru untuk *adjuvant therapy* GnGA, namun masih perlu penelitian lebih lanjut.

Penelitian terdahulu telah banyak dilakukan untuk menilai manfaat dari pemberian propolis. Penelitian menunjukkan bahwa peran propolis sebagai anti inflamasi.⁵ Inflamasi merupakan respon biologis kompleks jaringan vaskular yang berbahaya patogen, sel yang rusak, iritasi dan radikal bebas. Beberapa Inflamasi terjadi akibat dari reaksi tubuh terhadap invasi mikroorganisme patogen atau terhadap trauma karena luka, terbakar, atau bahan kimia. Pada bagian yang mengalami peradangan akan muncul tanda-tanda seperti: (1) Rubor atau kemerahan, (2) Tumor atau pembengkakan, (3) Dolor atau nyeri, (4) Kalor atau panas dan (5) *Functio laesa* atau hilangnya fungsi.⁶ Propolis memiliki efek anti inflamasi dimana beberapa penelitian menunjukkan propolis menekan enzim COX dan LOX selama proses inflamasi. COX di inhibisi oleh flavonoid yang menekan *prostaglandin endoperoxide synthase* dalam konsentrasi tinggi yang bergantung pada sifat hidrofilik dan struktur. Sedangkan LOX diinhibisi oleh komponen *quercetin* propolis, flavonoid yang juga dapat menginhibisi akumulasi sel *mast*.⁷ Propolis memiliki komponen *caffeic acid* yang mudah masuk ke dalam sel. *Caffeic Acid Phenetyl Ester* (CAPE) menginhibisi pelepasan sitokin inflamasi dan meningkatkan produksi sitokin anti inflamasi secara stimulan seperti IL-10 dan IL-4. Stimulan IL-10 memiliki fungsi sebagai anti inflamasi yang dapat menurunkan regulasi produksi IL-5 oleh sel T sedangkan IL-5 berperan dalam diferensiasi dan aktivasi fungsi eosinofil dengan mengontrol akumulasi eosinofil dalam jaringan yang meradang. IL-10 mempunyai dua aktivitas utama yaitu menghambat TNF-a, IL-1, kemokin, dan IL-12 yang diproduksi oleh makrofag

dan merupakan fungsi yang paling banyak menghambat berbagai fungsi makrofag teraktivasi melalui aktivasi sel T dan merupakan umpan balik negatif.⁵ Penghambatan fungsi tambahan tersebut terjadi melalui pengurangan ekspresi molekul *major histocompatibility complex* (MHC) tipe II dan mengalami pengurangan ekspresi kostimulator tertentu. Stimulan IL-4 adalah *sitokin pleiotropik* tinggi yang mampu mempengaruhi diferensiasi sel Th. Sekresi awal dari IL-4 mengakibatkan polarisasi dari diferensiasi sel Th ke arah sel yang menyerupai Th2.

Gentamisin merupakan salah satu antibiotik golongan *aminoglikosida* yang digunakan untuk melakukan perlawanan terhadap bakteri batang gram negatif.⁸ Penggunaan gentamisin yang tidak rasional dapat menyebabkan GnGA. Menurut penelitian Lintong (2012)⁹, gambaran ginjal tikus Wistar yang diinjeksi gentamisin sebanyak 60 mg/kg BB/hari selama 7 hari mengalami pembengkakan, nekrosis, dan apoptosis. Kerusakan ginjal terjadi karena penimbunan gentamisin pada sel epitel tubulus proksimal dan mengganggu integritas membran lisosom sehingga enzim protease dan gentamisin keluar ke sitoplasma. Hal ini dapat memicu inflamasi yang dimediasi oleh *nuclear factor kB* (NF-kB) kemudian merangsang terbentuknya *reactive oxygen species* (ROS). ROS merusak sel tubulus proksimal, sel endotel kemudian sel-sel pertahanan diri seperti sel natural killer (NK), netrofil, makrofag, dan sel dendritik pada jaringan yang rusak memicu pelepasan sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-1, dan IL-6. IL-6 merangsang pelepasan MDA yang diproduksi oleh peroksidasi lipid di dalam

tubuh, radikal bebas dapat menyebabkan proses peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid adalah perusakan oksidatif terhadap asam lemak tak jenuh berantai panjang (*Polyunsaturated Fatty Acid*) yang menghasilkan senyawa *malondialdehid* (MDA).¹⁰ Dengan demikian, MDA dapat digunakan sebagai indeks pengukuran aktivitas radikal bebas sesuai efek daripada inflamasi dalam tubuh.

Ekstrak propolis (metode CMCE) mengandung *galangin*, *chrysin*, *pinocembrin*, *naringenin*, *CAPE*, *cinnamic acid*, *apigenin* yang diharapkan mampu menjadi *scavengers* (peredam) terhadap adanya ROS sehingga kerusakan sel dan inflamasi pada ginjal berkurang yang berefek pada menurunnya kadar MDA dan degenerasi tubulus ginjal.¹¹ Pemanfaatan ekstrak propolis (metode CMCE) untuk penurunan kadar MDA dan degenerasi tubulus ginjal belum pernah dilaporkan, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang efek ekstrak propolis (metode CMCE) terhadap kadar MDA dan degenerasi tubulus renalis pada tikus yang diinduksi gentamisin.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh ekstrak propolis (metode CMCE) terhadap kadar MDA dan degenerasi tubulus renalis pada tikus Wistar jantan yang diinduksi gentamisin?

1.3 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak propolis (metode CMCE) terhadap kadar MDA dan degenerasi tubulus renalis pada tikus Wistar jantan yang diinduksi gentamisin.

1.4 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini antara lain:

1. Untuk mengetahui pengaruh gentamisin terhadap kadar MDA pada tikus Wistar jantan.
2. Untuk mengetahui pengaruh ekstrak propolis (metode CMCE) terhadap kadar MDA pada tikus Wistar jantan yang diinduksi gentamisin.
3. Untuk mengetahui pengaruh ekstrak propolis (metode CMCE) terhadap degenerasi tubulus renalis pada tikus Wistar jantan yang diinduksi gentamisin.
4. Untuk membedakan pengaruh ekstrak propolis (metode CMCE) terhadap MDA dan degenerasi tubulus renalis pada tikus Wistar jantan yang diinduksi gentamisin dengan kelompok kontrol.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada civitas akademik mengenai pengaruh ekstrak Propolis (metode CMCE) terhadap

kadar MDA dan degenerasi tubulus renalis pada tikus Wistar jantan yang diinduksi gentamisin sehingga dapat menjadi bahan acuan untuk penelitian lebih lanjut, misalnya penelitian subyek manusia.

1.5.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini dapat dijadikan sebagai bahan pertimbangan bagi masyarakat untuk menggunakan ekstrak propolis (metode CMCE) sebagai adjuvant untuk gangguan ginjal akut meskipun perlu penelitian klinis lebih lanjut.

1.6 Originalitas Penelitian

Penelitian ini berjudul “Pengaruh Ekstrak Propolis (Metode CMCE) Terhadap Kadar MDA dan Degenerasi Tubulus Renalis Pada Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus Norvegicus*) yang Diinduksi oleh Gentamicin”. Metode yang digunakan adalah *true experimental* dengan rancangan *post test only control group design*, yang dilakukan selama 14 hari, Adapun penelitian penunjang yang telah ditemukan peneliti sebagai berikut:

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

Nama Tahun Penelitian	Judul	Metode	Hasil
Zularsil F.W Rajak, Lily Loho, Poppy Lintong. 2016	Gambaran Histopatologik Ginjal Wistar yang Diberi Ekstrak Binahong Pasca Pemberian Gentamisin	Penelitian yang dilakukan ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan rancangan eksperimen acak lengkap pola	Pemberian gentamisin injeksi dosis toksik yaitu 0,3 ml setiap hari selama 6 hari menunjukkan nekrosis tubular akut (NTA). Regenerasi sel epitel tubulus ginjal lebih baik pada kelompok

		searah	yang diberi ekstrak binahong dibandingkan kelompok yang hanya diberi pelet. Gambaran histopatologik ginjal lebih baik pada pemberian binahong dengan dosis 100 mg dibandingkan dosis 50 mg.
Saptaningtyas, Ragil. 2019	Pengaruh Ekstrak Etanol Krokot Terhadap Kadar High Sensitivity Crp Dan Skor Total Degenerasi Tubulus Renalis (Pada Tikus Wistar yang Diinduksi Gentamisin)	Eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian post test only control group design	Hasil peneitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol krokot berpengaruh terhadap kadar hs-CRP dan skor total degenerasi tubulus renalis pada tikus Wistar jantan yang diinduksi gentamisin. Pengaruh induksi gentamisin dosis 60 mg/kg BB tikus intra peritoneal selama 7 hari
Rochisismandoko, Eppy, Diana P., Syafiq A. 2013	Uji Klinis Ekstrak propolis (metode CMCE) (Propolis Ekstrak) pada Pasien Demam Berdarah Dengue	Penelitian ini merupakan uji klinis dengan desain <i>randomized controlled trial</i>	Ekstrak propolis (metode CMCE) yang merupakan ekstrak dari propolis efektif sebagai terapi tambahan pada pasien Demam Berdarah Dengue, karena dapat memperbaiki kondisi klinis (menurunkan suhu lebih cepat), memperbaiki parameter laboratorium (mempercepat kenaikan trombosit, menurunkan hematokrit), dan mempersingkat lama perawatan di rumah sakit.
Yustika, Agnes Ratna, <i>et all.</i> 2013	Kadar Malondialdehid (MDA) dan Gambaran Histologi Ginjal Tikus	Penelitian ini dilakukan dengan tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) diinduksi	Induksi CsA pada bagian subkutan dengan dosis 3 mg/kg berat badan tikus selama 3 minggu mampu meningkatkan kadar

	Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Pasca Induksi <i>Cylosporine-A</i>	<i>Cylosporine-A</i> selama 3 minggu sebanyak 5 ekor	MDA dengan perbandingan kadar MDA pada organ ginjal tikus sehat (1,599±0,328) dan pada organ ginjal tikus sakit (5,693±0,243). Pada gambaran histologi pasca induksi CsA mampu merusak jaringan sel pada ginjal sehingga ginjal mengalami fibrosis.
Bakti, Akhmat Setya. 2017	Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit (<i>Mus Musculus</i>) setelah di induksi racun lebah (<i>Apis mellifera</i>)	Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL)	Gambaran histopatologi organ ginjal mencit yang diberi racun lebah menunjukkan adanya endapan protein pada glomerulus dan tubulus.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Degenerasi Tubulus Renalis

2.1.1 Gambaran histologi degenerasi tubulus renalis

Degenerasi sel merupakan suatu keadaan menurunnya fungsi sel karena cedera. Cedera pada ginjal yang disebabkan zat nefrotoksik seperti gentamisin salah satunya berupa gambaran histologi yang menunjukkan degenerasi tubulus ginjal. Terdapat beberapa macam degenerasi tubulus ginjal antara lain degenerasi parenkimatosa, degenerasi hidropik, dan degenerasi lemak.¹²

Degenerasi parenkimatosa merupakan degenerasi dengan tingkat paling rendah. Degenerasi parenkimatosa terjadi karena mitokondria dan retikulum endoplasma terganggu akibat oksidasi. Hal ini menyebabkan sel membengkak dan terjadi kekeruhan dan tampak granula pada sitoplasma akibat pengendapan protein. Pembengkakan sel terjadi karena jejas tidak mampu mengeliminasi air sehingga air tertahan di dalam sel.¹³

Degenerasi hidropik adalah degenerasi yang lebih berat dari degenerasi parenkimatosa. Penampakan secara histologi menunjukkan adanya pembengkakan sel dan vakuolisasi yang berisi air dalam sitoplasma. Degenerasi hidropik bersifat *reversible* atau apabila cedera menetap bersifat *irreversible*. Sel tubulus ginjal yang mengalami degenerasi hidropik dapat membengkak 2 kali lipat dari ukuran normal.¹²

Degenerasi lemak terjadi karena adanya penumpukan trigliserid yang abnormal dalam sitoplasma yang ukurannya bervariasi kemudian mendesak inti ke tepi. Nekrosis merupakan tahap lanjut dari degenerasi yang apabila terus berlanjut dapat menyebabkan kematian sel.¹³

2.1.2 Anatomi dan fisiologi ginjal

Ginjal manusia berjumlah 2 buah, terletak di daerah lumbal, di sebelah tulang belakang antara *peritoneum parietale* dan fascia serta otot dinding perut bagian belakang (*retroperitoneal*). Ukuran panjang ginjal sekita 7 cm, tebal 3 cm, dan berat kurang lebih 150 g terbungkus dalam kapsul yang terbuka ke bawah. Jaringan lemak terletak diantara ginjal dan kapsul yang berfungsi untuk melindungi ginjal terhadap guncangan. Ginjal kanan lebih rendah dari ginjal kiri. Setiap ginjal terdiri dari bagian luar (*cortex*) dan bagian dalam (*medulla*).¹⁴

Tebal *cortex* 1,2 – 1,5 cm, berwarna coklat kemerah-merahan, berbatas jelas dengan *medulla*. Bagian *medulla* tampak bangunan berwarna pucat kelabu, menyerupai piramida yang disebut sebagai *pyramis renalis*, bagian puncak disebut *papilla renalis*, menonjol ke dalam *calyx minor* yang berbentuk corong. Pada ujung *papilla* tampak 10-25 lubang, yaitu muara *ductus papillaris*, daerah ini disebut *area cribosa*. Piramida dibatasi oleh oleh substansi *cortex*, yaitu *columna renalis*. Secara makroskopis, *pyramis renalis* tampak bergaris-garis, dasar piramida tampak garis menuju ke dalam *cortex*, yaitu *processus lobuli corticalis renis*.¹⁵

Arteria renalis yang merupakan cabang aorta memasuki ginjal pada daerah hilus, agak di bagian depan pelvis, kemudian bercabang-cabang menjadi

arteri-arteri antar lobus (*arteria interlobaris*). *Arteria interlobaris* membelok pada dasar piramida yang disebut *arteria arciformis*. Antara dua *processus ferrein* terdapat cabang-cabang yang masuk ke dalam *cortex* yang disebut sebagai arteri antar lobulus (*arteria interlobularis*). *Arteria interlobularis* bercabang-cabang menjadi pembuluh kecil yang disebut *vas afferens*, kemudian bercabang-cabang menjadi kapiler-kapiler berkelompok membentuk glomerulus dimana kapiler-kapiler ini keluar menjadi *vas efferens*. *Vas afferens* bercabang-cabang lagi menjadi anyaman kapiler antar tubulus menjadi *cortex*. Setiap ginjal terdiri dari 1-



1,25 juta nefron yang memiliki glomerulus dan *tubulus renalis*. *Tubulus renalis* terdiri dari *tubulus contortus proximalis*, *ansa Henle* (bagian *descendens* dan *ascendens*), dan *tubulus contortus distalis*.¹⁶

Gambar 2.1. Gambar Nefron Ginjal

Glomerulus merupakan suatu bangunan bulat yang terdiri dari kapiler-kapiler yang timbul sebagai cabang *arteriola afferens*. Kapiler gomerulus

berkembang menekan ke dalam *terminus tubulus contortus proximal* yang melebar sehingga berbentuk seperti cangkir. Bagian dalam yang berbatasan dengan kapiler disebut lapisan viseral simpai Bowman, bagian luar disebut lapisan parietal simpai Bowman, dan terpisah dari kapiler oleh ruang glomerulus (ruang Bowman). Antara sel endotel dan sel epitel terdapat membrana basalis. Membran basalis terdiri dari 3 bagian, yaitu lapisan dalam (*lamina rara interna*), lapisan padat (*lamina densa*), dan lapisan luar (*lamina rara externa*). Sel-sel lapisan viseral simpai Bowman berhubungan dengan lapisan luar membrana basalis, berupa tonjolan-tonjolan yang disebut *pedunculae*.¹⁷



Gambar 2.2 Histologi Ginjal Normal
(Sumber: <http://www.indianjephrol.org>)¹⁸

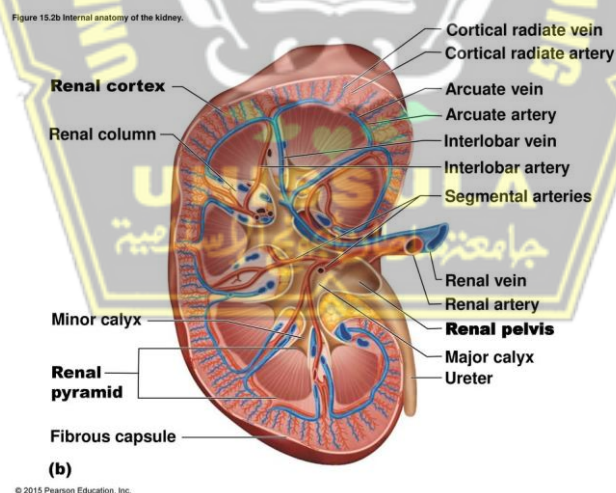
Glomerulus berfungsi sebagai penyaring dan ultrafiltrat bebas protein berkumpul dalam ruang glomerulus dan mengalir ke dalam tubulus. Tekanan hidrostatis kapiler-kapiler glomerulus cocok sebagai penyaring, yaitu sebesar 65 mmHg. Aliran plasma melalui ginjal (*renal plasma flow*) normal kira-kira 650 mL

per menit dan filtrat kurang lebih 120 mL per menit dengan volume urin normal 600 – 800 mL per hari.¹⁷

Tubulus contortus proximalis terletak pada kutub yang berhadapan dengan kutub vaskuler (tempat masuk dan keluar *vas afferens* dan *vas efferens*) yang berada di dalam *cortex*, dilapisi oleh sel kuboid yang mempunyai *brush border*. *Brush border* terdiri dari mikrovillus yang dapat meningkatkan luas permukaan absorpsi. Epitel tubulus memindahkan bahan yang diserap kembali melalui cairan *interstitial* ginjal ke dalam kapiler peritubulus. Sekresi kreatinin ke dalam urin juga terjadi pada bagian ini. *Tubulus contortus proximalis* memasuki *columna Bertini* dan menjadi cabang *ansa Henle descendens* yang tipis, dilapisi oleh sel gepeng yang menyerupai sel endotel. Cabang *ansa Henle ascendens* berada di dalam *columna Bertini* dilapisi oleh sel epitel kuboid, berakhir pada perbatasan *cortex* dan menjadi *tubulus contortus distalis*. Sel epitel gepeng pada *ansa Henle descendens* bertindak sebagai selaput dialisis selektif dan meresorpsi air dan pada *ansa Henle ascendens* berat jenis cairan kurang lebih 1,010.¹⁰

Mulai tempat masuknya *ansa Henle* ke dalam *cortex*, sel epitel menjadi lebih tinggi, tetapi sitoplasma tetap jernih dan tidak memiliki *brush border* dengan mikrovillus yang pendek. *Tubulus contortus distalis* berhubungan dengan *vas afferens* dan *vas efferens*. Sel-sel *arteriola afferens* tampak hipertropi, bergranula, dan epiteloid. Sel yang bermodifikasi ini dianggap mempunyai pengaruh neurohumoral yang mengatur aliran darah melalui glomerulus. Sel-sel epitel *tubulus contortus distalis* yang letaknya berdampingan dengan arteriola *vas afferens* tertekan, berbentuk torak, bergranula banyak, disebut *macula densa*. Sel

arteriola afferens yang mengalami modifikasi dan *macula densa* membentuk *apparatus juxtaglomerulus* yang penting untuk mengatur retensi natrium klorida melalui pelepasan renin. Pembuatan urin dalam *tubulus contortus distalis* meliputi reabsorpsi fakultatif air, ion-ion natrium, klorida, fosfat, dan sulfat, serta sekresi ion amonium dan hidrogen. Resorpsi tubuler dipengaruhi oleh hormon antidiuretik (ADH) yang diatur oleh kenaikan atau penurunan ringan dalam tekanan osmotik plasma. ADH menyebabkan sel epitel tubulus distalis mereabsorpsi larutan hipotonik sehingga urin menjadi hipertonik dan volumenya kecil. Apabila ADH tidak ada, sel-sel ini mereabsorpsi cairan hipertonik sehingga urin menjadi encer dan volumenya besar. Selain itu, hormon *cortex adrenal* yaitu aldosteron dan *desoxycorticosteron* dalam jumlah kecil merangsang resorpsi



natrium dan mencegah resorpsi kalium yang berlebihan.¹⁶

Gambar 2.3 Anatomi Ginjal

(Sumber : <https://slideplayer.com/slide/12055343/> | Diakses tanggal : 20 November 2018)

2.1.3 Gangguan Ginjal Akut (GnGA)

Gangguan ginjal akut adalah sindrom yang ditandai dengan cepat penurunan fungsi filtrasi ginjal. Konsekuensi klinis GnGA meliputi akumulasi produk limbah, elektrolit, dan cairan, termasuk berkurangnya imunitas dan disfungsi organ non-ginjal (*organ cross-talk*). Dampak dan prognosis GnGA sangat bervariasi tergantung pada tingkat keparahan, pengaturan klinis faktor komorbiditas, dan juga lokasi geografis.¹⁹

Terdapat peningkatan bukti bahwa GnGA berhubungan dengan komplikasi serius baik jangka pendek atau jangka panjang. Peningkatan angka kematian dan morbiditas GnGA juga terjadi karena berkembang menjadi gagal ginjal kronis dan biaya kesehatan yang tinggi. Saat ini, GnGA sudah menjadi penyakit serius di masyarakat yang harus segera ditangani. Diagnosis GnGA secara tradisional didasarkan pada kenaikan kreatinin serum dan atau penurunan output urin. Seseorang didiagnosis GnGA jika kreatinin serum meningkat sebesar 0,3 mg/dL (26,5 μ mol/L) atau lebih dalam 48 jam atau naik setidaknya 1,5 kali lipat dari awal dalam waktu 7 hari.²⁰

Etiologi GnGA yang khas dibagi menjadi 3 kategori, yaitu *prerenal*, *renal*, dan *postrenal*. Kategori *prerenal* merupakan hasil dari perfusi glomerulus yang tidak normal sehingga menurunkan kecepatan filtrasi glomerulus. Penyebab dari GnGA *prerenal* antara lain sindrom nefrotik, hipovolemia, kehilangan cairan, perdarahan, dan hipoalbuminemia. GnGA *prerenal* terjadi ketika aliran darah yang efektif ke ginjal mengalami penurunan. Proses GnGA *prerenal* menuju GnGA *renal* tidak berlangsung secara mendadak. Penurunan resistensi

vaskular ginjal terjadi saat perfusi ginjal terganggu setelah relaksasi *eferen arteriolar* pada tonus vaskular sehingga aliran darah ginjal terpelihara. Berlangsungnya hipoperfusi ginjal memicu munculnya prostaglandin vasodilator intrarenal yang memperantarai vasodilatasi mikrovaskular ginjal sebagai upaya pemeliharaan perfusi ginjal. *Stenosis arteri renalis* terjadi ketika tekanan perfusi ginjal rendah, sehingga peningkatan kecepatan filtrasi diperantarai oleh angiotensin II *intrarenal* untuk meningkatkan retensi *eferen arteriolar*.²¹

Kategori GnGA *renal* terjadi karena oklusi arteri ginjal, glomerulonefritis, nekrosis akut karena hipoksia atau iskemik tubuler, obat-obatan, penyakit autoimun, dan obstruksi intrarenal. GnGA hipoksia atau iskemik diawali dengan terjadinya vasokonstriksi yang diikuti *patchy tubular necrosis*. Respon inflamasi dipengaruhi oleh berkurangnya jumlah ATP dan perubahan *heat shock* protein sehingga membentuk *reactive oxygen species* (ROS). Penurunan ATP dikaitkan dengan jumlah dari bahan kimia yang merusak, termasuk *apical brush border* yang menghilang dan penurunan polaritas $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$.²²

Kerusakan tubular ginjal berhubungan dengan kejadian GnGA karena obat toksik seperti antibiotik golongan aminoglikosida. Kejadian nefrostoksisitas akibat aminoglikosida terjadi karena dosis yang tidak rasional dan jangka waktu penggunaan. Fungsi ginjal dapat kembali normal apabila penggunaan antibiitik dihentikan. Namun, setelah penggunaan antibiotik aminoglikosida dihentikan, peningkatan kadar kreatinin dapat meningkat beberapa hari karena adanya penumpukan aminoglikosida dalam jumlah besar pada prenkim ginjal.¹⁹

Gangguan ginjal akut pada kategori *postrenal* terjadi karena obstruksi saluran kemih (*obstructive uropathy*). Meskipun oliguria berat dan bahkan anuria dapat terjadi akibat kerusakan tubulus ginjal, hal ini juga dapat disebabkan oleh obstruksi saluran kemih dan oklusi arteri atau vena total. Kondisi ini akan mengakibatkan kerusakan yang cepat dan tidak dapat dipulihkan pada ginjal dan membutuhkan pengenalan dan manajemen yang cepat.²¹



2.2 Malodialdehid (MDA)

Malondialdehid (MDA) adalah senyawa organik dengan rumus $\text{CH}_2(\text{CHO})_2$. Struktur senyawa ini lebih rumit daripada struktur kimia yang tertulis. MDA merupakan senyawa reaktif yang terbentuk secara alami dan merupakan penanda stress oksidatif.²³



MDA adalah senyawa yang sangat reaktif yang tidak biasa diamati dalam bentuk murni. Pelarut organik, *cis*-isomer lebih disukai, sedangkan di dalam air, *trans*-isomer mendominasi.²⁴ MDA dihasilkan dari peroksidasi lipid asam lemak tak jenuh ganda ini adalah produk utama pada sintesis *Thromboxane A2* dimana *siklooksigenase 1* atau *siklooksigenase 2* metabolisme asam arakidonat untuk prostaglandin H_2 oleh trombosit dan berbagai macam jenis sel dan jaringan. Produk ini selanjutnya dimetabolisme oleh *Thromboxane* sintase untuk *Thromboxane A2*, asam *12-Hydroxyheptadecatrienoic*, dan MDA. Tingkat peroksidasi lipid dapat diperkirakan dengan jumlah MDA dalam jaringan.²⁵ Nilai kadar MDA pada manusia rerata sebesar $12,69 \pm 1,424$. Kadar MDA pada laki-laki $12,61 \pm 1,253$ nmol/ml lebih tinggi daripada perempuan yaitu $12,71 \pm 1,493$ nmol/ml. Kadar MDA pada manusia mempunyai hubungan dengan *body mass index* (BMI), usia, status gizi, asupan nutrisi, dan tekanan darah, sedangkan kadar MDA pada tikus sehat rerata sebesar $1,599 \pm 0,328$ nmol/ml.²³

2.3 Propolis

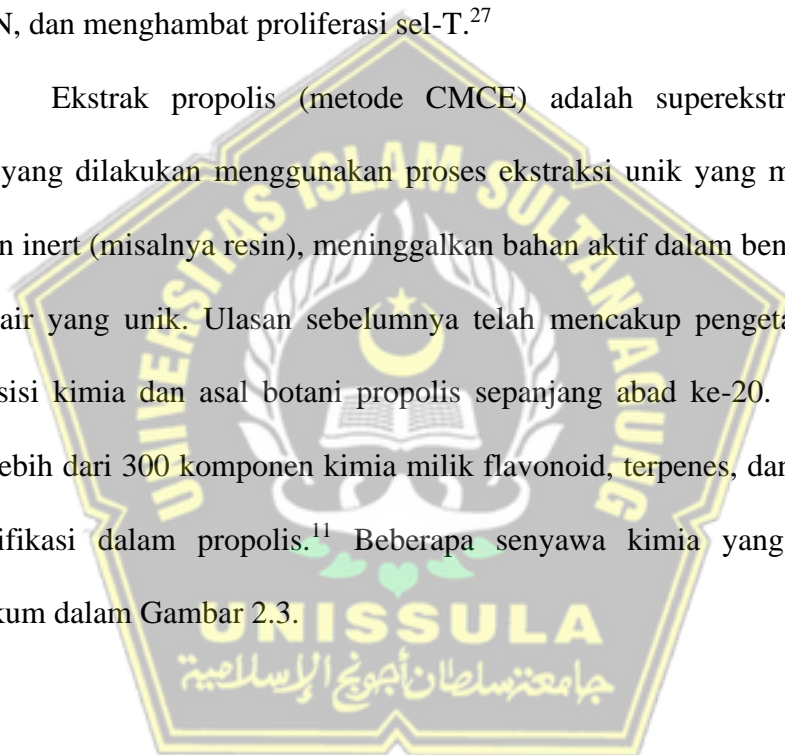
2.3.1 Definisi

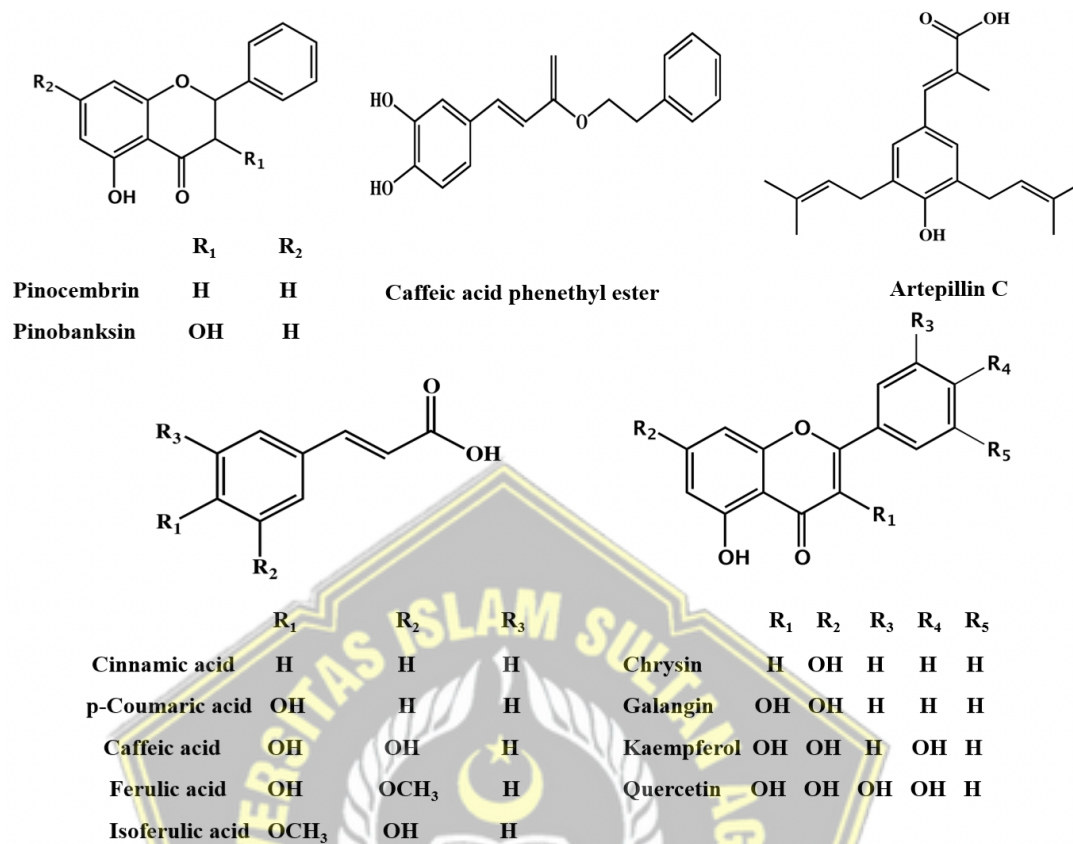
Propolis adalah campuran resin alami yang dihasilkan oleh lebah madu dari zat yang dikumpulkan dari bagian tanaman, tunas, dan eksudat. Nama lain dari propolis adalah lem lebah. Sifat lilin dan sifat mekaniknya, lebah menggunakan propolis dalam konstruksi dan perbaikan sarang mereka untuk menutup celah dan retakan dan menghaluskan dinding internal dan sebagai penghalang pelindung terhadap penyerbu eksternal seperti ular, kadal, dan sebagainya, atau melawan angin dan hujan. Lebah mengumpulkan propolis dari berbagai tanaman di zona iklim beriklim sedang. Komposisi propolis sangat kompleks dan bervariasi, menunjukkan adanya lilin lebah, resin, minyak esensial, dan tepung sari. Lebah mensekresikan lilin, sementara resin dan minyak diperoleh dari tumbuhan, biasanya diambil dari sekresi atau dengan memotong fragmen dari jaringan *vegetative*. Propolis secara luas digunakan untuk mencegah dan mengobati pilek, luka dan bisul, rematik, keseleo, penyakit jantung, diabetes dan karies gigi karena sifat biologisnya yang beragam seperti anti-inflamasi, antimikroba, antioksidan, antitumor, antiulcer dan aktivitas anti-HIV. Aplikasi propolis yang luas dalam kedokteran modern telah menarik perhatian pada komposisi kimianya. Banyak penelitian telah mengungkapkan bahwa efek yang diamati mungkin merupakan hasil tindakan sinergis dari konstituen kompleksnya.²⁶

Poplar propolis memiliki sekitar 50 konstituen, terutama resin dan balsam nabati (50%), lilin (30%), minyak esensial (10%), dan serbuk sari (5%).

Senyawa utama yang aktif secara biologis ditemukan di balamik isi dan termasuk senyawa polifenol (asam kafeat *phenethyl ester* [CAPE]), flavonoid (*chrysin*, *catechin*, *galangin*), turunan stilben (*resveratrol*), dan asam lemak. Senyawa-senyawa ini, khususnya CAPE dan flavonoid, telah terbukti memiliki aktivitas anti-inflamasi dan imunomodulasi yang kuat *in vitro*. CAPE secara signifikan menghambat produksi sitokin dan limfokin, termasuk TNF- α , IL-2, IL-10, IL-12, dan IFN, dan menghambat proliferasi sel-T.²⁷

Ekstrak propolis (metode CMCE) adalah superekstraksi propolis poplar yang dilakukan menggunakan proses ekstraksi unik yang menghilangkan eksipien inert (misalnya resin), meninggalkan bahan aktif dalam bentuk yang larut dalam air yang unik. Ulasan sebelumnya telah mencakup pengetahuan tentang komposisi kimia dan asal botani propolis sepanjang abad ke-20. Sampai tahun 2000, lebih dari 300 komponen kimia milik flavonoid, terpenes, dan fenolik telah diidentifikasi dalam propolis.¹¹ Beberapa senyawa kimia yang representatif dirangkum dalam Gambar 2.3.





Gambar 2.3 Representasi komponen kimia

2.3.2 Sumber dan pengolahan propolis

Penelitian sebelumnya telah mencatat bahwa senyawa dalam resin propolis (mentah, propolis yang tidak diolah) berasal dari tiga sumber: eksudat tanaman yang dikumpulkan oleh lebah, mengeluarkan zat dari metabolisme lebah, dan bahan yang diperkenalkan selama elaborasi propolis.²⁸

Sumber tanaman eksudat secara historis dianggap sebagai berbagai spesies poplar asli, tetapi ini gagal menjelaskan mengapa lebah dapat menghasilkan propolis di daerah khatulistiwa di mana tidak ada pohon poplar. Karena konstituen propolis mencerminkan sumber munculnya, analisis kimia

yang lebih canggih mengidentifikasi spesies tambahan dari pohon yang dapat digunakan sebagai sumber propolis untuk lebah pemakan.²⁸

2.3.3 Ekstrak Propolis dengan Sistem CMCE

Hasil uji kualitatif menunjukkan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol PI sama dengan ekstrak etanol PB, kecuali kandungan saponin-nya dimana ekstrak etanol PI tidak mengandung saponin. Unsur kimia propolis yang telah diidentifikasi oleh beberapa penelitian sebelumnya adalah flavonoid, asam fenolat, terpenoid, aldehyd, alkohol, asam alifatik dan ester, asam amino, steroid, dan gula. Berdasarkan uji kuantitatif, komponen bio-aktif utama dalam PI adalah *α -Amyrin*, *cyclolanost*, turunan fenol (termasuk senyawa resorsinol), senyawa eudesmane, senyawa *ethyl acridine*, senyawa lupeol, senyawa friedooleanan, dan senyawa pirimidin. Sebagai perbandingan, komponen bio-aktif utama dari BP adalah *hydrocinnamic ethyl ester*, *α -Amyrin*, *β -Amyrin*, *cyclolanost*, turunan fenol, dan senyawa pirimidin.²⁹

Metode ekstraksi modern dikembangkan untuk ekstraksi senyawa organik yang cepat dan efisien dari matriks padat, dengan *Continuous Multi-Stage Countercurrent Extraction* (CMCE). Proses ini menghilangkan semua zat lilin dan resin dalam propolis, sehingga menghasilkan bahan-bahan aktif yang bermanfaat seperti flavonoid, flavones, polifenol dan ester asam fenolat. Teknik ini memungkinkan membuang zat yang tidak berguna dan mempertahankan secara optimal zat yang berguna bagi tubuh dan bisa larut dalam air. Hasil proses ekstraksi ini dapat meningkatkan 15% total ekstraksi yang berasal dari sumbernya. Dengan teknik CMCE juga membedakan hasil ORAC (*Oxygen*

Radical Absorbance Capacity) yang lebih tinggi jika dibandingkan teknik biasa, hasil ORAC pada teknik CMCE mencapai kadar 21.921 sementara dengan teknik biasa hanya mencapai kadar 9674. ORAC sendiri kadar antioksidan yang dapat berfungsi mengurangi reaksi oksidasi di dalam tubuh.³⁰

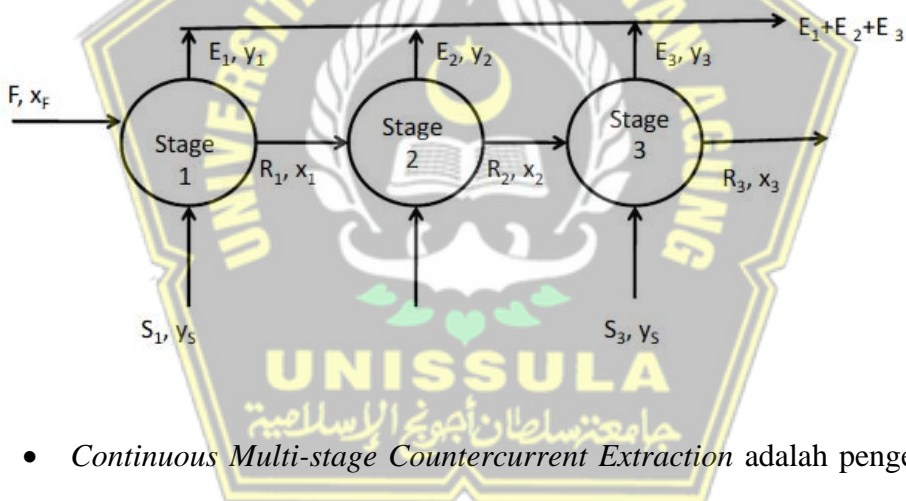
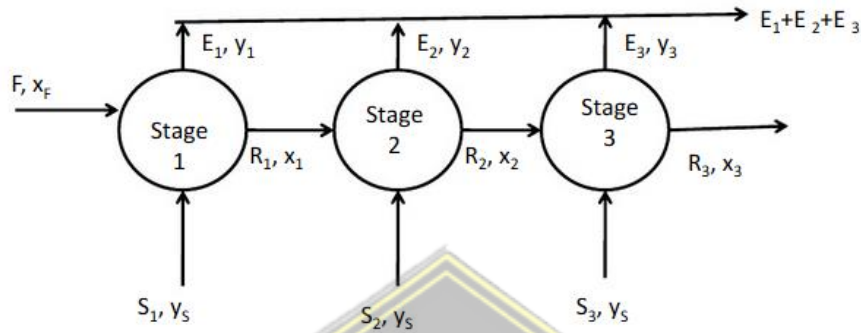
Ekstrak propolis (metode CMCE) memanfaatkan proses *Continuous Multi-stage Countercurrent Extraction* (CMCE) yang telah dipatenkan, proses ini memurnikan dan menghilangkan 99.95% kotoran (seperti logam berat dan pestisida) tanpa perubahan kimia – mempertahankan jumlah awal mikro-nutrisi dari propolis mentah yang biasanya diencerkan dengan destilasi uap tradisional atau proses ekstraksi padat-cair.³¹ Teknologi ini mampu membuang semua substansi yang tidak berguna untuk tubuh dan mempertahankan secara optimal zat yang berguna pada propolis yaitu bioflavonoid, polifenol, asam fenolat ester, dan flavon. Semua zat yang di hasilkan itu larut dalam air.³² Selain itu CMCE juga ramah lingkungan karena tidak membutuhkan konsumsi energi yang tinggi.

Continuous Multi-stage Countercurrent Extraction

- *Continuous Multi-stage Countercurrent Extraction* adalah pengembangan ekstraksi satu stage.
- Tujuannya meningkatkan efisiensi pemisahan
- Pola aliran pelarut dan umpan bisa searah atau berlawanan

Pola Aliran Searah

- Pelarut dan umpan dimasukkan dengan arah yang sama



- *Continuous Multi-stage Countercurrent Extraction* adalah pengembangan ekstraksi satu stage dimana rafinat yang keluar dari stage pertama dicampur dengan *solven segar* pada stage kedua dan rafinat dari stage kedua dicampur dengan solven segar pada stage ketiga. Ekstrak dari stage pertama digabungkan dengan ekstrak dari stage kedua dan stage ke tiga. Hasil akhir adalah ekstrak $(E_1 + E_2 + E_3)$ dan Rafinat R_3 . Komposisi komponen-komponen di dalam aliran E dan R sudah dalam kesetimbangan sehingga

E dan R lokasinya terletak pada kurve kesetimbangan: E1 setimbang dengan R1, E2 setimbang dengan R2 dan E3 setimbang dengan R3.

Sifat disinfektan alami yang terkandung dalam ekstrak propolis (metode CMCE) sangat ampuh dalam membunuh kuman, terbukti dengan ditemukannya seekor tikus dalam sarang lebah yang telah mati selama kurang lebih 5 tahun dalam keadaan tidak membusuk. Propolis adalah resin yang sering disebut sebagai *bee glue* karena teksturnya lengket seperti lem. Propolis diperoleh oleh lebah dengan cara mengumpulkan resin-resin dari berbagai macam tumbuhan. Karena sumbernya bermacam-macam, maka warna, komposisi dan khasiat dari ekstrak propolis (metode CMCE) pun bervariasi. Warna ekstrak propolis (metode CMCE) mulai dari kuning, coklat bahkan transparan. Komposisi ekstrak propolis (metode CMCE) kimia; ekstrak propolis (metode CMCE) terdiri dari flavonoid yang meliputi hampir 50%, selain itu asam kafeat/ (CAPE) *caffeic acid phnyetyl ester*, asam ferulat dan mineral dalam jumlah kecil. Berikut beberapa komposisi dari ekstrak propolis (metode CMCE) :²⁹

Tabel 2.1 Komposisi ekstrak propolis (metode CMCE)²⁹

Kelas Komponen	Grup Komponen	Presentase (%)
Resin	Flavonoid, Asam fenolat ester (CEPA)	45-55
Asam lemak, lilin	Lilin lebah dan zat lain yang berasal dari Tumbuhan	25-35
Minyak esensial	Zat yang mudah menguap	10
Polen	Protein (16 asam amino bebas,>1%) arginin,	5
Bahan organik dan mineral lain	dan prolin sebanyak 46% 14 mineral (besi, seng, keton, lakton, quinon, steroid, asam benzoic, vitamin, gula	5

3 Kandungan Senyawa Aktif Ekstrak propolis (metode CMCE)

Komposisi kimia ekstrak propolis (metode CMCE) masih kurang diketahui. Komposisi ekstrak propolis (metode CMCE) beragam salah satunya dapat dilihat dari warna dan aromanya yang berubah-ubah sesuai dengan sumber



pohon, jenis lebah, musim dan daerah geografis.¹¹

Gambar.2.4 Struktur Kimia Ekstrak propolis (metode CMCE)

Ekstrak propolis (metode CMCE) dari berbagai negara tergantung dari iklim daerahnya. Komponen baru pada daerah beriklim sedang (temperate zone) seperti di Eropa, Amerika Utara dan daerah non tropis di Asia, Amerika Selatan, dan di *New Zealand*, konstituen utamanya adalah flavonoid *aglycones*, asam aromatik dan esternya. Ekstrak propolis (metode CMCE) tipe ini disebut juga “ekstrak propolis (metode CMCE) tipe poplar”, merupakan ekstrak propolis (metode CMCE) yang paling sering diteliti baik dari segi kandungan kimia maupun farmakologis. Komponen baru pada daerah beriklim tropis dan subtropis seperti Amerika Selatan banyak mengandung flavonoid dan komponen terkait seperti flavones, flavonol, chalcone, isoflavonoid, dan neoflavonoid. Jenis spesifik

kandungan aktif dari ekstrak propolis (metode CMCE) yang pada banyak penelitian mempunyai efek biologis adalah *Artepillin-C*, PM3 (3-[2-dimethyl-8-(3-methyl-2 butenyl)benzopyran]-6-propenoic acid), CAPE (*caffeic acid phenethyl ester*), Propolin A, Propolin B, dan Propolin C. *Artepillin C* (3,5-diprenyl-4-hydroxycinnamic acid) diekstrak dari Propolis Brasil mempunyai berat molekul 300.40 dan memiliki efek antimikroba dan antitumor.

Flavonoid adalah kelompok substansi dari alam yang mempunyai variasi struktur fenol dan banyak ditemukan pada buah, sayur, biji-bijian, kulit batang, akar, bunga, teh dan anggur (*wine*). Flavonoid dapat dibagi menjadi beberapa kelas berdasarkan struktur molekul yaitu kelompok *flavones*, *flavonones*, *catechins*, dan *anthocyanins*. Jenis *flavonones* dan *catechins* merupakan kelompok flavonoids yang terkuat dalam melindungi tubuh terhadap radikal bebas. *Quercetin* merupakan contoh dari kelompok *flavones* yang banyak diteliti efeknya.

Kandungan aktif ekstrak propolis (metode CMCE) Indonesia sudah diteliti oleh Syamsudin (2009) yaitu meneliti kandungan kimia ekstrak propolis (metode CMCE) berasal dari tiga tempat yang berbeda di Indonesia (Sukabumi, Batang dan Lawang) dan menemukan beberapa bahan kandungan kimia yang pertama kali ditemukan dalam ekstrak propolis (metode CMCE), diketahui bahwa ekstrak propolis (metode CMCE) banyak mengandung polifenol salah satunya adalah flavonoid yang merupakan zat yang mempunyai aktifitas antioksidan.

4 Efek Kandungan Aktif Ekstrak propolis (metode CMCE)

Komponen utama dari ekstrak propolis (metode CMCE) adalah flavonoid dan asam fenolat, termasuk *caffeic acid phenetyl ester* (CAPE) yang kandungannya hampir 50% dari seluruh komposisi. Flavonoid hampir terdapat di spesies bunga. Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar. Golongan flavonoid mencakup banyak pigmen yang paling umum dan terdapat pada seluruh tumbuhan. Efek flavonoid yang terpenting adalah dapat menangkap radikal bebas turunan oksigen reaktif. Penelitian *in vitro* juga menunjukkan bahwa flavonoid mempunyai efek antiinflamasi, antialergi, antivirus dan antikarsinogenik. Setiap grup flavonoid mempunyai kapasitas sebagai antioksidan.

Kandungan polifenol dan flavonoid dari ekstrak propolis (metode CMCE) yang berasal dari 16 negara. Komponen antioksidan diidentifikasi dengan menggunakan analisis HPLC/KCKT dan aktifitas antioksidan diukur dengan menggunakan metode *β -carotene bleaching* dan *1,1-diphenyl-2 picrylhydrazyl* (DPPH) *free radical scavenging assays system*. Penelitian tersebut menemukan bahwa propolis dari Negara Argentina, Australia, Cina, Hungaria, dan *New Zealand* mempunyai aktifitas antioksidan yang tinggi dan berkorelasi dengan kandungan polifenol dan flavonoid yang dikandungnya. Selain itu diteliti lebih jauh lagi jenis flavonoid yang mempunyai efek antioksidatif yaitu *caffeic acid*, *quercetin*, *kaempferol*, *phenethyl caffeate*, *cinnamyl caffeate*, dan artemillin C.

Penelitian lainnya juga mendukung adanya korelasi antara kandungan flavonoid pada ekstrak propolis (metode CMCE) dengan aktifitas antioksidan. Dilakukan penelitian pada propolis Romania dan menemukan adanya jenis

flavonoid yang mempunyai aktifitas antioksidan yaitu *quercetin*, *rutin*, *caffeic acid*, *chrysin*, *apigenin* dan *kaempferol*.

Geckil (2005) juga membandingkan aktifitas antioksidan pengkelat logam dari Ekstrak propolis (metode CMCE) Turki dengan zat antioksidan sintetik (BHA / *butylated hydroxyanisole* dan BHT / *butylated hydroxytoluene*). Penelitian tersebut menemukan bahwa ekstrak propolis (metode CMCE) baik ethanol based maupun water based mempunyai efek metal chelating lebih baik dibanding BHA dan BHT. Selain itu ditemukan juga bahwa efek antioksidan ekstrak propolis (metode CMCE) berbasis etanol lebih baik dibanding dengan berbasis air. Seperti telah dijelaskan pada sub-bab sebelumnya, efek radikal bebas dapat merusak sel tubuh termasuk protein sitoplasmik di dalam DNA. Kejadian tersebut juga berhubungan dengan pertumbuhan tumor dimana radikal bebas mungkin beraksi sebagai pembawa pesan sekunder (*secondary messengers*) pada alur transduksi yang mengatur proliferasi selular. Antioksidan dapat menghambat atau menyingkirkan jumlah radikal bebas yang berlebihan sehingga mengurangi kerusakan yang terjadi akibat radikal bebas. Jadi dengan mengurangi peroksida di dalam sel oleh antioksidan akan menghambat terjadinya proses karsinogenesis.

Dalam pengertian kimia, senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi electron (elektron donors). Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dihambat, termasuk enzim-enzim dan protein-protein pengikat logam.

Berikut merupakan klasifikasi dari antioksidan,

- a. Antioksidan Enzimatis, misalnya enzim *superoksida dismutase* (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase.
- b. Antioksidan Non Enzimatis

Antioksidan non enzimatis terdiri dari:

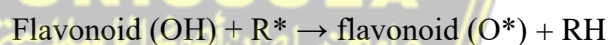
1. Antioksidan larut lemak, seperti -tokoferol, karotenoid, flavonoid, quinon, dan bilirubin.
2. Antioksidan larut air, seperti asam askorbat, asam urat, protein pengikat logam, dan protein pengikat heme

Struktur molekul dari masing-masing kelompok flavonoid sel dan jaringan tubuh selalu terpapar dengan efek perusakan yang disebabkan oleh radikal bebas dan radikal bebas turunan oksigen atau *reactive oxygen species* (ROS) yang normalnya terbentuk selama metabolisme oksigen atau diinduksi oleh kerusakan eksogen. Radikal bebas dapat mengganggu fungsi selular dengan melakukan peroksidasi lipid yang berakibat kerusakan membran sel. Kerusakan ini dapat menyebabkan perubahan muatan listrik di sel, perubahan tekanan osmosis, menyebabkan pembengkakan sel dan berakhir pada kematian sel. Radikal bebas dapat menarik bermacam-macam mediator inflamasi yang berkontribusi ke respon inflamasi dan kerusakan jaringan. Dalam rangka mempertahankan diri terhadap ROS, tubuh mempunyai beberapa mekanisme. Mekanisme pertahanan antioksidan tubuh terdiri dari enzim seperti superoksida dismutase, katalase dan glutathion peroksidase, dan juga non-enzim seperti

glutation, asam askorbat, dan α -tokoferol. Peningkatan produksi ROS selama perlukaan menyebabkan konsumsi dan deplesi komponen antioksidan alami tubuh. Flavonoid mempunyai efek adiktif terhadap komponen antioksidan alami. Flavonoid dapat mengganggu lebih dari 3 sistem penghasil radikal bebas yang berbeda, dan juga dapat meningkatkan fungsi antioksidan endogen. Aktifitas Antioksidatif berikut adalah mekanisme antioksidan dari flavonoid yaitu mengikat radikal secara langsung (*direct radical scavenging*), melalui nitrit oksida, xanthin oksidase, imobilisasi leukosit, interaksi dengan sistem enzim lainnya.

a. Menangkap Langsung Radikal Bebas (*Direct Radical Scavenging*)

Flavonoid dapat mencegah perlukaan yang disebabkan oleh radikal bebas. Flavonoids dapat menstabilkan ROS dengan bereaksi dengan komponen radikal bebas yang reaktif. Oleh karena tingginya reaktifitas kelompok hidroksil dari flavonoids, radikal bebas akan dibuat tidak aktif, sesuai dengan reaksi berikut



R^* adalah radikal bebas dan O^* adalah radikal bebas oksigen.

Flavonoid yang selektif dapat secara langsung mengikat radikal bebas, dimana flavonoid lainnya dapat mengikat ROS yang disebut peroxynitrit (*peroxynitrite*)

b. Mengikat Nitrit Oksida

Beberapa jenis flavonoid, termasuk *quercetin*, dapat mengurangi perlukaan iskemia-reperfusi (*ischemia-reperfusion injury*) dengan

mengganggu aktifitas sintesis nitrit oksida yang dapat diinduksi. Nitrit oksida diproduksi oleh beberapa jenis sel yang berbeda seperti sel endothelial dan makrofag. Produksi nitrit oksida pada awalnya berguna untuk dilatasi pembuluh darah, namun jika produksi nitrit oksida yang berlebihan oleh makrofag dapat menyebabkan kerusakan oksidatif. Pada keadaan ini, makrofag yang teraktivasi dapat menghasilkan nitrit oksida dan superoksida anion yang berlebihan terus menerus.

Nitrit oksida akan bereaksi dengan radikal bebas dan dengan demikian akan memproduksi peroksinitrit dalam jumlah besar serta bersifat merusak. Ketika flavonoid digunakan sebagai antioksidan, radikal bebas akan diikat oleh flavonoid sehingga tidak dapat bereaksi lebih lama lagi dengan nitrit oksida dan mengurangi kerusakan. Menariknya, nitrit oksida dapat dianggap sebagai radikal bebas juga dan telah dilaporkan dapat diikat juga oleh flavonoid. Oleh karena itu telah diperkirakan bahwa pengikatan nitrit oksida mempunyai peranan dalam efek terapeutik dari flavonoid. Silibin adalah salah satu flavonoid yang dapat menghambat nitrit oksida.

c. Menghambat *Xanthin Oksidase*

Alur xanthin oksidase mempunyai implikasi penting sebagai rute perlukaan oksidatif pada jaringan khususnya pada keadaan iskemia-reperfusi. *Xanthin dehidrogenase* dan xanthin oksidase terlibat dalam metabolisme xanthin menjadi asam urat. Xanthin dehidrogenase adalah bentuk enzim yang muncul dalam keadaan normal, namun konfigurasinya

dapat berubah menjadi xanthin oksidase pada keadaan iskemik. Xanthin oksidase adalah sumber dari radikal bebas turunan oksigen reaktif. Pada fase reperfusi (reoksigenasi), xanthin oksidase bereaksi dengan molekul oksigen dengan demikian akan melepaskan radikal bebas superoksida. Sedikitnya 2 jenis flavonoid, quercetin dan silibin, menghambat xanthin oksida sehingga menurunkan perlukaan oksidatif (Nijveldt dan kawan-kawan. 2001).

d. Imobilisasi Leukosit

Imobilisasi dan adhesi yang kuat leukosit ke sel endotel adalah mekanisme lainnya yang bertanggung jawab untuk terbentuknya radikal bebas turunan oksigen reaktif dan juga terlepasnya oksidat sitotoksik, mediator inflamasi dan aktivasi sistem komplemen. Dalam situasi normal, leukosit bergerak dengan bebas sepanjang dinding endotel. Namun, selama kondisi iskemia dan inflamasi, beberapa mediator turunan endothelial utama dan faktor komplemen dapat menyebabkan adhesi leukosit ke dinding endothelial, sehingga mengimobilisasi leukosit selama reperfusi. Penurunan jumlah leukosit yang imobilisasi oleh flavonoid berhubungan dengan total komplemen di serum dan merupakan mekanisme protektif melawan kondisi yang berhubungan dengan inflamasi, seperti perlukaan reperfusi. Beberapa flavonoid dapat mencegah terjadinya degranulasi neutrofil tanpa mempengaruhi produksi superoksida, efek hambat

beberapa flavonoid pada degranulasi sel mast ditunjukkan oleh karena modulasi reseptor kanal kalsium dalam membran plasma.

e. Interaksi dengan Sistem Enzim Lainnya

Ketika ROS bereaksi dengan besi (Fe) maka menghasilkan peroksidasi lipid. Flavonoid spesifik dapat menyingkirkan besi (*chelate iron*) sehingga menghilangkan faktor penyebab terjadinya radikal bebas. Quercetin diketahui mempunyai efek iron-chelating dan iron-stabilizing. Flavonoid juga dapat mengurangi aktivasi komplemen sehingga akan mengurangi adhesi sel inflamasi ke dinding endothelial dan akhirnya menghilangkan respon inflamasi. Gambaran lainnya flavonoid adalah dapat mengurangi terlepasnya peroksidase. Pengurangan ini dapat menghambat produksi ROS oleh netrofil. Efek flavonoid lainnya adalah inhibisi metabolisme asam arakidonat. Efek ini merupakan efek antiinflamasi dan antitrombogenik dari flavonoid. Pelepasan asam arakidonat adalah awal dari respon inflamasi. Neutrofil yang mengandung lipoksigenase menghasilkan komponen kemotaksis dari asam arakidonat dan juga merangsang pelepasan sitokin (Nijveldt dan kawan-kawan, 2001).

Ekstrak propolis (metode CMCE) mempunyai toksisitas oral akut yang rendah atau bahkan tidak toksik. Pada penelitian dengan menggunakan mencit membuktikan bahwa ekstrak propolis (metode CMCE) tidak toksik dan

mempunyai LD (lethal dose) 2.000 sampai 7.300 mg/kg. Sforcin (2007) merekomendasikan konsentrasi yang aman untuk manusia adalah 1.4 mg/kg atau hampir 70 mg/hari. Kadar NOEL (No Effect Level) pada mencit adalah 1400 mg/kg (Hunter, 2006).

Penelitian pada tikus dengan pemberian dosis ekstrak propolis (metode CMCE) yang berbeda (1, 3, dan 6 mg/kg/hari), pelarut yang berbeda (air dan etanol), dan variasi lama pemberian (30, 90, dan 150 hari) didapatkan hasil tidak ada perbedaan yang bermakna dalam hal total lipid, trigliserid, kolesterol, kolesterol-HDL, AST, dan LDH. Ekstrak propolis (metode CMCE) juga tidak mempengaruhi berat badan tikus setelah pemberian.

5 Gentamisin

Gentamisin merupakan salah satu antibiotik golongan aminoglikosida. Aminoglikosida adalah antibiotik yang paling umum digunakan di seluruh dunia dalam pengobatan infeksi bakteri gram negatif dan efektif terhadap gram positif bersama dengan antibiotik lain seperti β -laktam. Aminoglikosida menginduksi nefrotoksisitas pada 10-20% kasus terapi yang diamati. Penggunaan gentamisin terapeutik secara luas terbatas karena efek samping nefrotoksik dan kerusakan oksidatif yang dapat menyebabkan gangguan ginjal akut. Aminoglikosida terdiri dari 2 atau lebih gugus gula amino yang diikat oleh ikatan glikosidik pada inti heksosa. Aminoglikosida bersifat basa lemah dan mudah larut dalam air.

Aminoglikosida dapat dibagi berdasarkan rumus kimianya yaitu streptomisin, kanamisin, dan neomisin.

Aminoglikosida bekerja sebagai bakteriosida yang mampu menembus sel, berikatan dengan ribosom, dan mengganggu proses translasi. Membran luar sel bakteri ditembus oleh aminoglikosida melalui ikatan antara muatan positif dan negatif sehingga dapat merusak dinding sel bakteri. Kerusakan pada dinding sel bakteri menyebabkan materi sel bakteri keluar. Distribusi aminoglikosida dengan kadar paling tinggi adalah setengah sampai dengan 1 jam paska pemberian apabila ginjal dalam keadaan normal. Nefrotoksik adalah gangguan yang sering muncul akibat aminoglikosida dengan angka kejadian beragam. Hal ini terjadi karena kriteria yang digunakan berbeda.

6 Mekanisme Degenerasi Tubulus Renalis dan Peningkatkan Kadar MDA Akibat Gentamisin

Aminoglikosida yang masuk ke dalam tubuh terakumulasi pada sel epitel tubulus proksimal ginjal. Akumulasi yang spesifik ini terjadi karena adanya protein megalin dan cubilin yang merupakan reseptor endositik membran sel. Kompleks endositik ini membawa kation yang berada pada ultrafiltrat, seperti protein dan xenobiotik tertentu seperti aminoglikosida. Akumulasi aminoglikosida di dalam sel epitel tubulus proksimal mengubah fungsi beberapa organel dan proses yang sangat penting untuk kelangsungan hidup sel. Selain itu, gentamisin mengaktifkan *extracellular calcium-sensing receptor* (CaSR), reseptor membran yang sensitif terhadap jumlah kalsium ekstraseluler, juga dikaitkan dengan

kematian sel tubular. Secara kuantitatif, sebagian besar gentamisin memasuki sel-sel tubular melalui endositosis yang dimediasi oleh kompleks megalin / cubilin. Proses tersebut membutuhkan pengikatan elektrostatik gentamisin ke muatan negatif dari membran fosfolipid. Gentamisin kemudian melalui *pinocytosis* menuju ke kompartemen endosomal dan sebagian besar terakumulasi dalam lisosom, melalui jalur sekretori ke golgi dan retikulum endoplasma dan mengubah aliran vesikuler. Gentamisin memproduksi pendestabilisasi membran, agregasi lisosom, merubah metabolisme lipid dan fosfolipid pada lisosom yang berkaitan dengan kematian sel, juga menghasilkan struktur multilamellar yang diketahui sebagai badan myeloid.

Pecahnya lisosom mengakibatkan keluarnya gentamisin dan enzim protease ke sitoplasma. Proses tersebut memicu *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs) yang dapat menyebabkan sepsis jika patogen tidak segera dikendalikan oleh respon inflamasi lokal. Proses inflamasi tersebut merupakan respon terhadap *damage-associated molecular patterns* (DAMPs) yang dihasilkan oleh sel nekrotik. DAMPs terdiri dari histon, HMGB1, U1snRNP, DNA/RNA dari inti sel, ATP, DNA mitokondria, *heat shock proteins* (HSPs), protein S100, asam urat, RNA dari sitosol, dan enzim lisosom dari lisosom yang pecah. DAMPs dan PAMPs memicu stres oksidatif yang menginduksi nekrosis sel epitel tubulus serta infiltrasi sel imun mengeluarkan sitokin proinflamator dan kemokin.

Sitokin inflamasi bersama dengan DAMPs dan PAMPs yang menyerang dikenali oleh *Toll-like receptors* (TLRs) dan menjadi sinyal primer (sinyal 1). Reseptor membran TLRs berfungsi sebagai *pattern-recognition receptors* (PRRs)

sebagai sinyal DAMPs, PAMPs, dan menjadi spesifisitas penting selama fase awal pertahanan tubuh. TLR memicu aktivasi *nuclear factor* (NF- κ B) untuk menginduksi bentuk prematur dari sitokin proinflamator seperti IL-1, IL-6, dan TNF- α . Pengenalan sinyal ke-2 mengarah pada pembentukan kompleks multiprotein yang disebut *inflammasome*. Beberapa sinyal telah diidentifikasi sebagai sinyal ke-2 untuk mengaktifasi *inflammasome* seperti ROS dari organel sel yang rusak, aliran ion K⁺, dan lisosom yang pecah. Kompleks *inflammasome* tersebut dapat meningkatkan sekresi sitokin proinflamator.

Kedua sinyal tersebut secara terkoordinasi mengumpulkan *cathepsin* endogen ke dalam sitosol dan menginduksi pembentukan kompleks *inflammasome* yang terdiri dari NLRP3, *apoptosis-associated speck-like* (ASC), dan pengerahan serta aktivasi caspase 1. Caspase 1 yang telah aktif kemudian menyebabkan pro IL menjadi IL.

Penghambatan pengangkut membran sel mungkin juga berkontribusi pada sitotoksitas gentamisin. Penghambatan asupan glukosa dan reduksi Na⁺ dapat secara teoritis menyebabkan penurunan kadar ATP seluler dan pembengkakan sel. Transportasi glukosa pada sel tubulus proksimal tergantung pada gradien natrium yang dihasilkan oleh adenosin triphosphatase (ATPase). Pengurangan ekstruksi natrium yang disebabkan oleh gentamisin secara tidak langsung dapat mengurangi ketersediaan glukosa intraseluler dan berkontribusi terhadap pengurangan ATP, menyebabkan akumulasi air, pembengkakan sel, dan kematian sel nekrotik.

Na^+K^+ -ATPase merupakan kunci homeostasis volume cairan di dalam sel dan regulasi pembengkakan.

Struktur kimia gentamisin yang memiliki banyak unsur kation menyebabkan gentamisin mudah berikatan dengan fosfolipid, sehingga mengubah struktur membran sel menjadi dalam keadaan fosfolipidosis. Fosfolipidosis disebabkan oleh gangguan sinyal jalur phosphatidylinositol, pengurangan pergantian fosfolipid dan akumulasi fosfolipid pada membran sel, pengurangan muatan negatif yang tersedia yang diperlukan untuk fungsi fosfolipase yang sesuai, dan penghambatan fosfodiesterase yang tergantung kalsium dengan bersaing dan memindahkan kalsium dari enzim. Pengikatan fosfolipid plasmalemmal dan akumulasi membran plasma terjadi pada tipe sel lain yang terpapar obat.

Gentamisin secara langsung meningkatkan ROS mitokondria melalui jalur pernapasan. Penurunan kadar glutation dan *superoxide dismutase* (SOD) terjadi setelah pemberian gentamisin. *Reactive oxygen species* (ROS), terutama anion superoksida dan radikal hidroksil, penyebab kerusakan sel dan kematian melalui mekanisme yang beragam, termasuk penghambatan rantai transpor elektron dan penekanan respirasi seluler dan produksi ATP, stimulasi pelepasan sitokrom C dari ruang intermembran mitokondria, kerusakan DNA yang memicu peningkatan aktivitas poli ADP ribosa sintase, penurunan cadangan ATP sel, dan penangkapan siklus sel, peroksidasi lipid, destabilisasi membran sel, aktivasi reseptor kematian oleh perubahan lipid, dan generasi metabolit lipid proapoptosis, seperti 4-*hydroxynonenal* dan ceramide, stres pada organel dan struktur seluler yang

berbeda, seperti retikulum endoplasma dan penghambatan aliran natrium transmembran oleh penghambatan oksidatif dari pompa $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ dan saluran natrium yang menyebabkan pembengkakan sel

Respon inflamasi yang berlebihan terlibat dalam gangguan ginjal dan berkontribusi terhadap perkembangan kerusakan ginjal. Peningkatan atau ketidakseimbangan produksi ROS dan stres oksidatif memediasi respon inflamasi yang dilepaskan oleh gentamisin. Anion superoksida dan hidrogen peroksida mengaktifkan *nuclear-factor* kB (NF-kB), mediator kunci dari beberapa jalur inflamasi yang menginduksi ekspresi sitokin proinflamasi dan iNOS. NO pada tingkat rendah memediasi vasodilatasi, sedangkan jika berlebihan dapat menyebabkan efek sitotoksik pada sel sekitar. Ekspresi iNOS yang berlebihan dapat bereaksi dengan anion superoksida dan memproduksi peroksinitrit, radikal yang sangat reaktif yang berkontribusi pada kerusakan sel, dan mengurangi relaksasi vaskuler. Sitokin inflamasi seperti $\text{TNF-}\alpha$ dapat mengaktifasi apoptosis tubuler, khususnya pada lingkungan yang patologis.

Zat asing dan sel mati pada jaringan yang cedera dibersihkan oleh sel fagosit. Beberapa enzim sebagai mediator peradangan meningkat dalam proses ini. Peradangan dapat berhenti setelah pengobatan atau semakin memburuk sehingga menjadi radang kronis dan menyebabkan kerusakan jaringan. Terjadinya cedera atau kerusakan jaringan pada ginjal menginduksi *acute phase response protein* (ARPP), dengan mediator sitokin proinflamasi seperti $\text{TNF-}\alpha$, IL-1, dan IL-6. Ketiga sitokin tersebut merangsang hati untuk mensintesis dan melepaskan protein fase akut seperti MDA. C-Reaktif protein mengaktifasi

komplemen melalui jalur klasik sampai terbentuk *membrane attack complex* (MAC) untuk mengeliminasi antigen. Proses inflamasi diperlukan sebagai pertahanan tubuh terhadap perbaikan jejas dengan melibatkan sel-sel untuk membersihkan debris lokasi cedera serta meningkatkan perbaikan jaringan.

7 Mekanisme Ekstrak Propolis dalam Penurunan Kadar MDA dan Perbaikan Tubulus Renalis

Senyawa radikal bebas dan degenerasi tubulus renalis dapat ditekan dengan menggunakan senyawa antioksidan yang terkandung di dalam ekstrak propolis. Kandungan antioksidan seperti vitamin E, vitamin C, flavonoid, dan beta karoten mampu menghambat pembentukan stres oksidatif dan melindungi *polyunsaturated fatty acids* (PUFAs) seperti asam linoleat. Flavonoid diduga sebagai zat aktif yang berperan utama dalam hal ini. Antioksidan dapat digunakan sebagai terapi dalam proses penyembuhan penyakit fibrosis ginjal, dengan cara menghambat pembentukan faktor yang merangsang produksi komponen *extra cellular matrix* (ECM) berlebih.

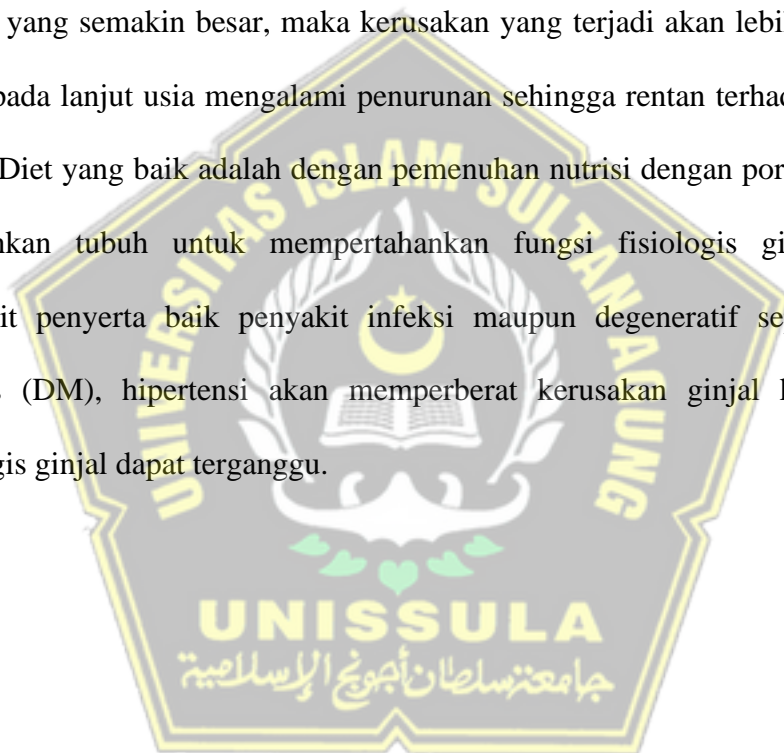
Antioksidan berperan sebagai *scavengers* yang berperan dalam meredam radikal bebas akibat gentamisin. Hal ini menyebabkan radikal tersebut tidak mampu merusak jaringan dan menekan efek peroksidasi lipid, sehingga kerusakan jaringan ginjal akan menurun. Antioksidan juga akan menginduksi proliferasi jaringan dan regenerasi sel sehingga dapat menggantikan sel-sel yang telah rusak dan membentuk jaringan baru. Jaringan ginjal yang kembali normal akan memulihkan fungsi ginjal.

Mekanisme flavonoid dalam menghambat proses terjadinya inflamasi melalui dua cara yaitu, dengan menghambat permeabilitas kapiler dan menghambat metabolisme asam arakidonat dan sekresi enzim lisosom dari sel neutrofil dan sel endotel. Flavonoid terutama bekerja pada endothelium mikrovaskular untuk mengurangi terjadinya hipermeabilitas dan inflamasi. Beberapa senyawa flavonoid dapat menghambat pelepasan asam arakidonat dan sekresi enzim lisosom dari membrane dengan jalan memblok jalur siklooksigenase dan jalur lipoksigenase sehingga menurunkan kadar prostaglandin dan leukotrien pengaruh lebih luas karena reaksi siklooksigenase merupakan langkah pertama pada jalur yang menuju ke hormone eikosanoid seperti prostaglandin dan tromboksan.

8 Faktor yang mempengaruhi kadar MDA dan Degenerasi Tubulus Renalis

Peningkatan kadar MDA dapat terjadi karena adanya antigen yang masuk ke dalam tubuh sehingga tubuh memberikan respon imun secara alami untuk mempertahankan diri. Faktor yang menyebabkan peningkatan kadar MDA antara lain kekurangan gizi, inflamasi, dan penyakit lain. Kekurangan mineral dan zat mikronutrisi seperti zat besi dan zink dalam makanan dapat menyebabkan berkurangnya imunitas tubuh, sehingga rentan terhadap terjadinya inflamasi. Adanya penyakit lain seperti lupus eritromatosus dan infark miokard akut (IMA) juga merupakan faktor yang dapat meningkatkan kadar MDA dalam tubuh.

Faktor yang dapat memicu terjadinya degenerasi tubulus antara lain obat atau zat kimia, dosis obat yang diberikan, usia, diet, dan penyakit lain. Jenis obat yang bersifat toksik antara lain NSAID (ibuprofen, naproxen), aminoglikosida termasuk gentamisin, sedangkan zat kimia yang bersifat toksik antara lain pewarna sintetik, merkuri, dan zat kontras yang diberikan sebelum *rontgen*. Tubuh yang terpapar oleh obat atau zat kimia yang bersifat nefrotoksik dalam jumlah yang semakin besar, maka kerusakan yang terjadi akan lebih luas. Fungsi ginjal pada lanjut usia mengalami penurunan sehingga rentan terhadap kerusakan ginjal. Diet yang baik adalah dengan pemenuhan nutrisi dengan porsi sesuai yang dibutuhkan tubuh untuk mempertahankan fungsi fisiologis ginjal. Adanya penyakit penyerta baik penyakit infeksi maupun degeneratif seperti diabetes melitus (DM), hipertensi akan memperberat kerusakan ginjal karena fungsi fisiologis ginjal dapat terganggu.



BAB III

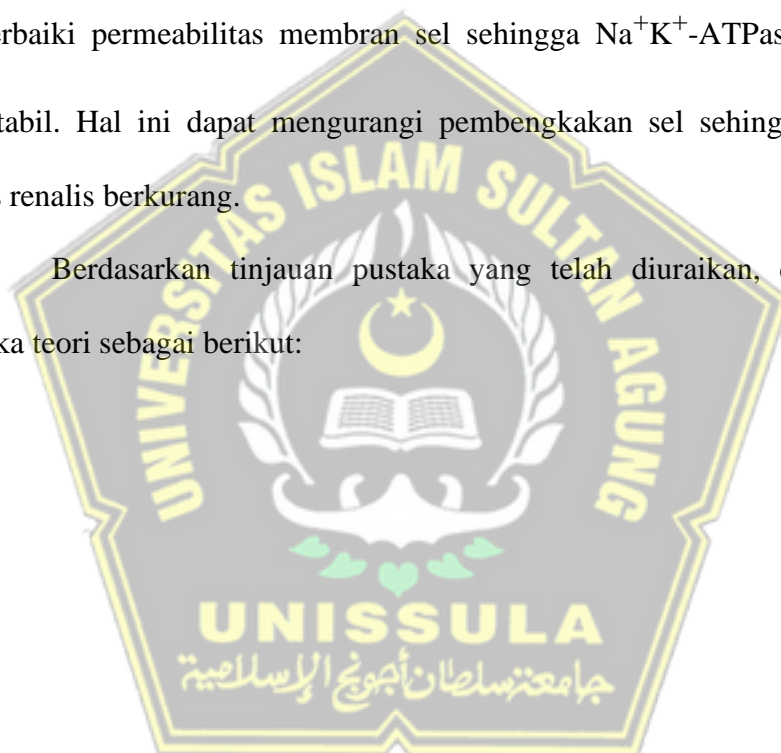
KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Teori

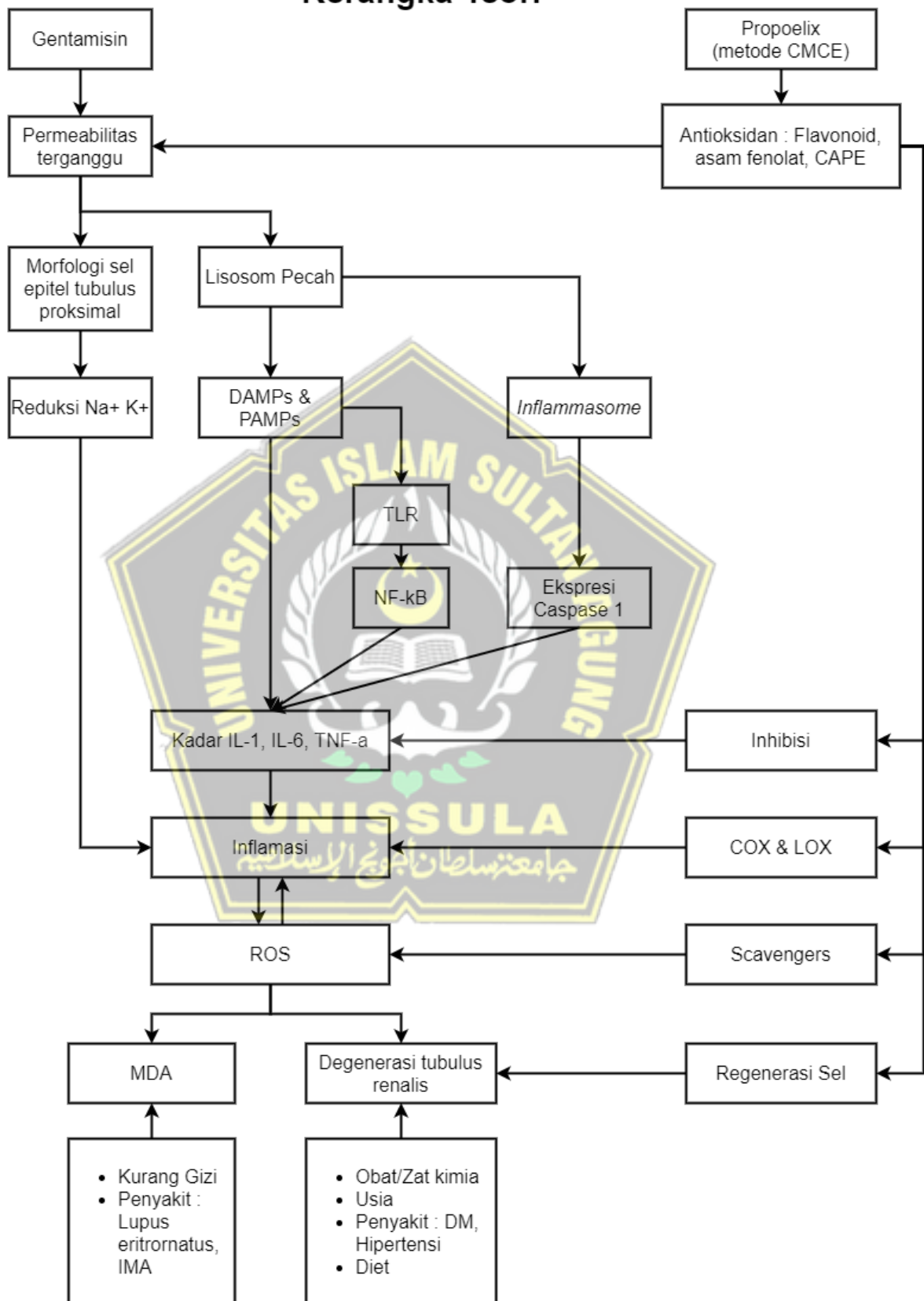
Gentamisin yang masuk ke dalam tubuh terakumulasi di nefron ginjal. Adanya akumulasi ini dapat menyebabkan terganggunya permeabilitas membran sel, pecahnya sel lisosom, dan terbentuknya kompleks *inflammasome*. Terganggunya permeabilitas membran menyebabkan adanya perubahan pada sel epitel tubulus proksimal dan reduksi ATP karena adanya reduksi dari Na^+K^+ -ATPase yang merupakan kunci homeostasis volume cairan di dalam sel. Hal ini mengakibatkan sel epitel tubulus membengkak dan nekrosis. Pecahnya lisosom dapat secara langsung memicu terbentuknya ROS. Lisosom yang pecah mengakibatkan gentamisin dan enzim protease keluar ke sitoplasma. Proses tersebut memicu aktifitas PAMPs dan DAMPs yang memicu stres oksidatif dan meningkatkan kadar sitokin proinflamator seperti IL-1, IL-6, dan TNF- α . DAMPs, PAMPs, dan sitokin proinflamator dikenali oleh TLR dan memicu aktivasi NF- κ B untuk menginduksi sitokin proinflamator prematur. Kompleks *inflammasome* yang terbentuk merangsang caspase 1 untuk mengaktifkan sitokin proinflamator prematur seperti pro IL-1 menjadi IL-1. Ketiga sitokin tersebut memicu hati untuk melepaskan MDA sehingga kadar MDA meningkat. Adanya inflamasi yang terjadi dapat meningkatkan jumlah ROS dan degenerasi tubulus renalis.

Pemberian ekstrak propolis (metode CMCE) diharapkan dapat menurunkan kadar MDA dan degenerasi tubulus renalis akibat gentamisin. Kandungan antioksidan seperti Galangin, Chrysin, Pinocembrin, Naringenin, CAPE, Cinnamic acid, Apigenin mampu menurunkan tingkat inflamasi dengan menjadi *scavengers* terhadap ROS sehingga jumlah ROS dan kadar MDA menurun. Antioksidan dalam ekstrak propolis (metode CMCE) juga mampu memperbaiki permeabilitas membran sel sehingga Na^+K^+ -ATPase dan jumlah ATP stabil. Hal ini dapat mengurangi pembengkakan sel sehingga degenerasi tubulus renalis berkurang.

Berdasarkan tinjauan pustaka yang telah diuraikan, dapat disusun kerangka teori sebagai berikut:

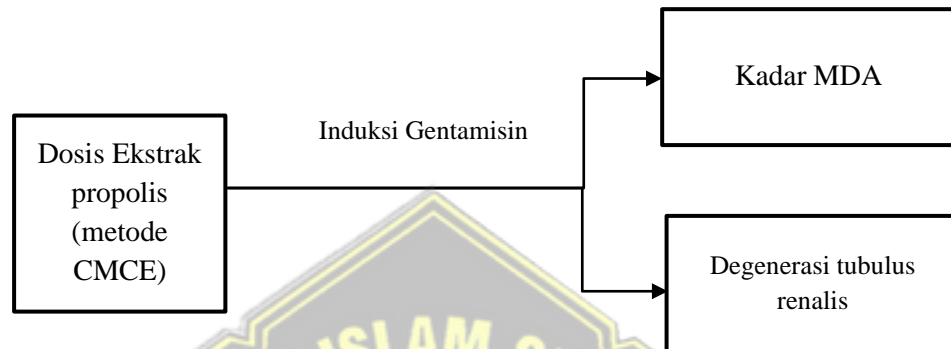


Kerangka Teori



3.2 Kerangka Konsep

Berdasarkan kerangka teori, dapat disusun kerangka konsep sebagai berikut



3.3 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah ada pengaruh Ekstrak propolis (metode CMCE) terhadap kadar MDA dan degenerasi tubulus renalis pada tikus Wistar jantan yang diinduksi gentamisin.



BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian *post test only control group design*, menggunakan tikus wistar jantan sebagai subyek penelitian. Kelompok perlakuan dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol 1, kontrol 2, perlakuan 1, perlakuan 2, dan



perlakuan 3. Berikut ini adalah skema rancangan penelitian:

Gambar 6. Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

P = Populasi

S = Sampel, yaitu tikus wistar jantan

R = Randomisasi

O = Observasi

K1 = Kelompok kontrol negatif (tanpa diinduksi gentamisin dan diberi aquades)

K2 = kelompok kontrol positif (diinduksi gentamisin selama 7 hari dan tanpa diberi ekstrak propolis)

P1 = Kelompok perlakuan 1 (diinduksi gentamisin selama 7 hari dan diberi ekstrak propolis dosis 200 mg/kg BB/ hari selama 7 hari berikutnya)

P2 = Kelompok perlakuan 2 (diinduksi gentamisin selama 7 hari dan diberi ekstrak propolis dosis 200 mg/kg BB/ hari selama 7 hari berikutnya)

P3 = Kelompok perlakuan 3 (diinduksi gentamisin selama 7 hari dan diberi ekstrak propolis dosis 200 mg/kg BB/ hari selama 7 hari berikutnya).

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

4.2.1 Tempat penelitian

Penelitian dilakukan di beberapa tempat sebagai berikut:

1. Laboratorium *Integreted Biomedical Laboratory* (IBL) Fakultas Kedokteran Universitas
2. Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Islam Sultan Agung Semarang

4.2.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dimulai dari persiapan hewan coba sampai proses pengambilan data yaitu dari bulan Maret 2020 sampai Juli 2020.

4.3 Populasi dan Sampel Penelitian

4.3.1 Populasi

Populasi target dari penelitian ini adalah tikus Wistar jantan dan populasi terjangkau dari penelitian ini adalah tikus Wistar jantan berusia 8-12 minggu dengan berat 150-200gram yang memenuhi kriteria inklusi. Tikus Wistar dipelihara di dalam ruangan dengan ventilasi yang baik dengan suhu ruangan 28-32° C. Tikus Wistar diberi makan pellet dan minum air putih secukupnya. Sebelum dilakukan perlakuan, tikus Wistar diaklimatisasi dalam kandang selama 1 minggu.

Kriteria Inklusi:

- Berat badan 150-200 gram
- Umur 12 minggu
- Tikus sehat dan aktif
- Anatomi luar tampak normal

Kriteria Eksklusi:

- Tikus sakit dan tidak aktif
- Tikus cacat

4.3.2 Sampel

Besar sampel ditentukan menurut WHO jumlah sampel setiap kelompok perlakuan minimal 5 ekor. Pada penelitian ini terdapat 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan sehingga jumlah sampel keseluruhan adalah 25 ekor tikus. Setiap kelompok ditambah 1 ekor tikus sebagai cadangan apabila terdapat sampel yang *drop out*.

4.3.3 Cara pemilihan Sampel

Pemilihan sampel dilakukan secara acak pada tikus Wistar yang telah memenuhi kriteria inklusi sehingga cukup homogen. Sampel diambil secara acak dari kelompok tikus yang sudah diaklimatisasi selama 1 minggu. Randomisasi dilakukan untuk menentukan tikus kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

4.4 Variabel

- Variabel bebas .: Ekstrak Propolis (metode CMCE) yang digunakan adalah Ekstrak Propolis (metode CMCE) yang berasal dari HDI Ekstrak propolis (metode CMCE) produksi *High Desert* Indonesia dengan sediaan 200 mg/kapsul. Dosis yang akan di gunakan dalam penelitian ini adalah 200 mg, 400 mg dan 800 mg.

Dosis I: Dengan perhitungan dosis konversi pada tikus (BB = 200 gram),
maka didapat angka $200 \text{ mg} \times 0,018 = 3,6 \text{ mg/kg BB}$.

Dosis II: Dengan perhitungan dosis konversi pada tikus (BB = 200 gram),
maka didapat angka $400 \text{ mg} \times 0,018 = 7,2 \text{ mg/kg BB}$.

Dosis III: Dengan perhitungan dosis konversi pada tikus (BB = 200 gram),
maka didapat angka $800 \text{ mg} \times 0,018 = 14,4 \text{ mg/kg BB}$.

- Variabel tergantung : kadar MDA dan degenerasi tubulus renalis

4.5 Definisi Operational

1. **Dosis Ekstrak Propolis** : Propolis yang diekstraksi dengan metode maserasi dengan dosis 200 mg, 400 mg, dan 800 mg/kg BB/ hari selama 7 hari per Oral sebanyak 1 mL
2. **Kadar MDA** : Kadar MDA pada serum tikus Wistar yang diambil dari sinus orbital dan diukur dengan metode TBA dengan satuan ng/mL pada hari ke-15 (K1, K2, P1, P2, dan P3).
3. **Degenerasi Tubulus Renalis** : Skor yang dihitung dari pengolahan jaringan ginjal tikus Wistar yang dicat dengan hematoxylin-eosin (HE) kemudian diamati dengan mikroskop menggunakan skoring modifikasi Sarjadi di bawah ini: Tubulus normal = 0, Degenarasi parenkimatosa = 1, Degenarasi hidropik = 2, Degenerasi lemak = 3

4.6 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: oven, gelas beker, *rotary evaporator*, mikrotom, mikroskop, gelas ukur, pipet tetes, sonde, spuit 1 mL, *waterbath*, *object glass*, *deck glass*, *staining jar*, sentrifuge, dan tabung kapiler.

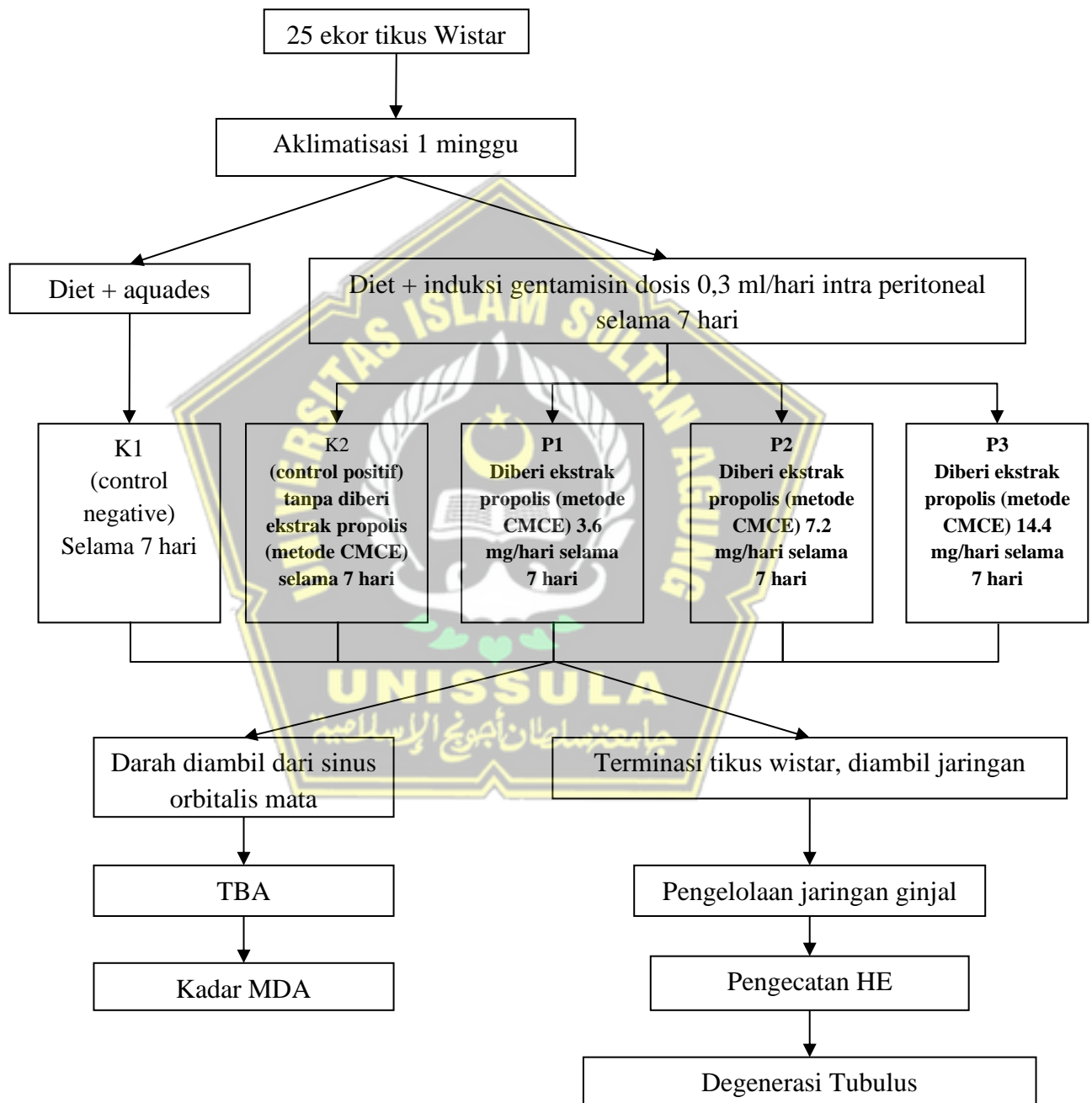
Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: gentamisin, ekstrak propolis (metode CMCE), serum tikus Wistar, ginjal tikus Wistar, buffer formalin 10%, cat *hematoxylin-eosin* (HE), aquades, xylol, alkohol (70%, 95%, dan 100%).

4.7 Cara Penelitian

Penelitian dimulai dengan pemilihan sampel tikus Wistar yang masuk dalam kriteria inklusi. Tikus Wistar diaklimatisasi selama satu minggu kemudian dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok kontrol negatif (K1) hanya diberi aquades, sedangkan kelompok kontrol positif (K2) diinduksi dengan gentamisin dosis 60 mg/kg berat badan (BB) intra peritoneal selama 7 hari dan tidak diberi ekstrak propolis (metode CMCE) selama 7 hari. Kelompok P1, P2, dan P3 diinduksi dengan gentamisin dosis 60 mg/kg BB intra peritoneal selama 7 hari kemudian diberi ekstrak propolis (metode CMCE) dosis 200, 400, dan 800 mg/kg BB per hari per oral selama 7 hari. Penelitian di akhiri dengan pengambilan darah melalui sinus orbitalis mata dan terminasi untuk mengambil ginjal tikus kelompok K1, K2, P1, P2, dan P3 pada hari ke-15. Kadar MDA

diukur dengan metode TBA dan degenerasi tubulus renalis menggunakan skoring metode modifikasi Sarjadi.

4.8 Alur penelitian



Gambar 8. Skema alur penelitian

4.9 Analisis Statistik

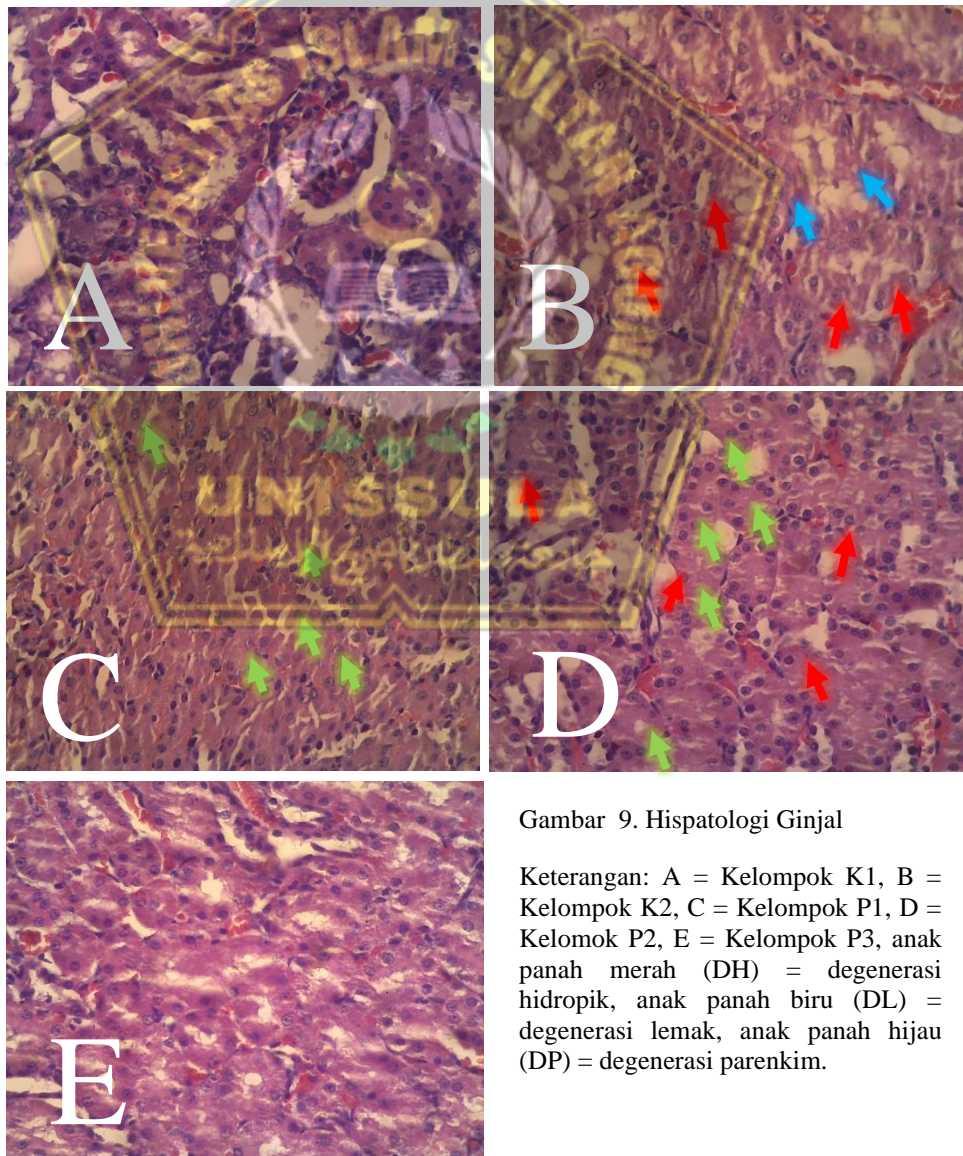
Data hasil pengukuran kadar MDA dan degenerasi tubulus renalis dikumpulkan dan disajikan dalam bentuk deskriptif, kemudian dilakukan uji normalitas dan homogenitas data dengan uji *Saphiro Wilk* ($p>0,05$). Data yang normal dan homogen telah memenuhi syarat uji parametrik, kemudian dilakukan uji parametrik *One Way ANOVA* dan uji *post hoc* dengan uji *Least Significance Difference* (LSD) dilakukan untuk mengetahui perbedaan antar kelompok ($p<0,05$)



BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

Setelah dilakukan penelitian selama 15 hari, didapatkan hasil degenerasi tubulus renalis pada tikus Wistar Jantan yang diberi ekstrak propolis (metode CMCE) dosis 200, 400, dan 800 mg/kg berat badan tikus setelah sebelumnya diinduksi Gentamisin. Tampak pada gambar



Gambar 9. Hispatologi Ginjal

Keterangan: A = Kelompok K1, B = Kelompok K2, C = Kelompok P1, D = Kelomok P2, E = Kelompok P3, anak panah merah (DH) = degenerasi hidropik, anak panah biru (DL) = degenerasi lemak, anak panah hijau (DP) = degenerasi parenkim.

Adapun rerata kadar MDA dan degenerasi tubulus renalis terlihat pada tabel 3.

Tabel 3. Tabel Rerata kadar MDA dan skor total degenerasi tubulus renalis

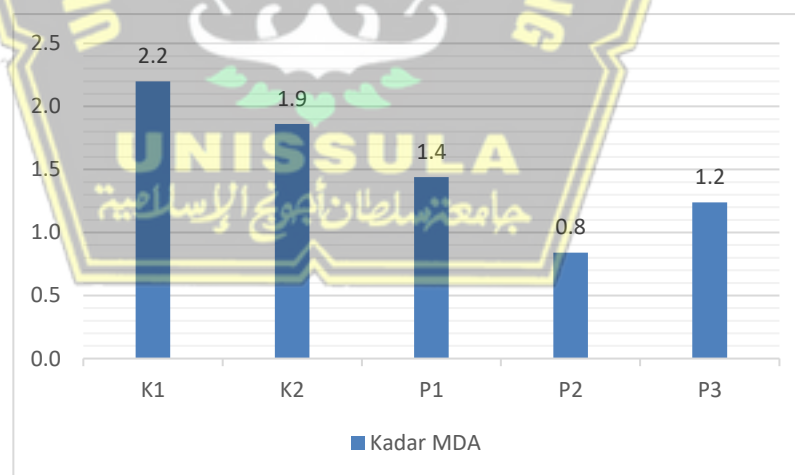
Variabel	Kelompok					Nilai p (ANOVA)
	K1 n=5 mean±S D	K2 n=5 mean±S D	P1 n=5 mean±S D	P2 n=5 mean±S D	P3 n=5 mean±S D	
MDA	2,200 ± 0,2915	1,860 ± 0,2608	1,440 ± 0,7765	0,840 ± 0,2510	1,240 ± 0,7301	0,005
Skor Total Degenerasi Tubulus	0 ± 0	569,80 ± 310,617	83,60 ± 97,703	87,0 ± 127,724	60,40 ± 97,256	0,000

Berdasarkan tabel 3, dapat diketahui bahwa rerata kadar MDA yang tertinggi adalah kelompok K1, diikuti oleh kelompok K2, P1, P3, dan terendah adalah P2. Analisis hasil menggunakan SPSS dengan uji ANOVA karena telah memenuhi syarat uji normalitas dan homogenitas. Uji ANOVA yang telah dilakukan terhadap variabel kadar MDA menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan diantara kelompok perlakuan ($p < 0,05$).

Skor total degenerasi tubulus tertinggi adalah kelompok K2, kemudian P2, P1, P3, dan terendah adalah kelompok K1. Perbedaan yang signifikan juga ditunjukkan pada uji ANOVA variabel skor total degenerasi tubulus ($p < 0,05$). Uji *post hoc* LSD dilakukan setelah uji ANOVA untuk mengetahui perbedaan yang bermakna antar kelompok.

5.1.1 Kadar MDA

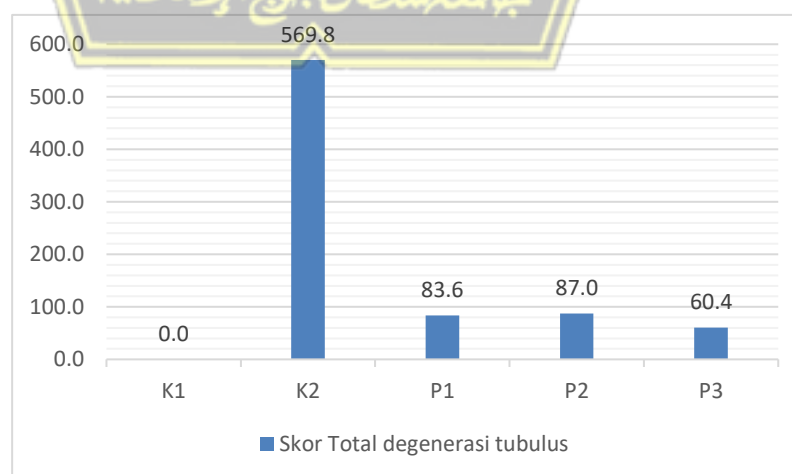
Berdasarkan gambar 10, dapat diketahui bahwa tidak terdapat perbedaan rerata kadar MDA yang signifikan antara kelompok K1 dan K2 ($p>0,05$). Kelompok K2 dengan kelompok P2 menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p<0,05$), hal ini menunjukkan adanya efektifitas pengaruh ekstrak propolis (metode CMCE) dengan dosis 400 mg/kg berat badan tikus Wistar jantan terhadap kadar MDA. Tidak ada perbedaan yang signifikan diantara kelompok P1, P2, dan P3 ($p>0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa hipotesis penelitian diterima karena ekstrak propolis (metode CMCE) berpengaruh terhadap kadar MDA pada tikus Wistar jantan yang diinduksi gentamisin.



Gambar 10. Diagram batang hasil rerata kadar MDA

5.1.2 Degenerasi Tubulus Renalis

Hasil uji menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rerata skor total degenerasi tubulus renalis yang signifikan antara kelompok K1 dengan kelompok K2 ($p < 0,05$) sebagaimana dalam gambar 11. Tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok K1 dengan kelompok P1, P2, dan P3 ($p > 0,05$). Kelompok K2 dengan kelompok P1, P2, dan P3 menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) yang menunjukkan adanya pengaruh ekstrak propolis (metode CMCE) dengan dosis 200, 400, dan 800 mg/kg berat badan tikus Wistar jantan terhadap skor total degenerasi tubulus renalis. Tidak ada perbedaan yang signifikan diantara kelompok P1, P2, dan P3 ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa hipotesis penelitian diterima karena ekstrak propolis (metode CMCE) berpengaruh terhadap skor total degenerasi tubulus renalis pada tikus Wistar jantan yang diinduksi gentamisin.



Gambar 11. Diagram batang rerata skor total degenerasi tubulus renalis

Gambaran histologi dari tikus kelompok kontrol negatif yang menunjukkan tubulus proksimal dalam batas normal sebagaimana tampak dalam gambar 9A. Gambar 9B menunjukkan sel epitel tubulus proksimal yang mengalami degenerasi parenkim, degenerasi hidropik, degenerasi lemak dan adanya nekrosis dari tikus kelompok kontrol positif, sedangkan pada gambar 9C merupakan tikus kelompok P1 menunjukkan adanya degenerasi parenkim dan degenerasi hidropik dengan kadar yang lebih rendah dari pada kelompok K2. Tikus kelompok P2 menunjukkan degenerasi parenkim dengan kadar yang lebih rendah dari pada kelompok P1 serta menunjukkan juga adanya degenerasi hidropik serta adanya nekrosis dengan kadar lebih rendah dari kelompok K2. Sedangkan kelompok P3 menunjukkan juga degenerasi parenkim dan degenerasi hidropik.

5.2 Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak propolis (metode CMCE) berpengaruh secara signifikan terhadap kadar MDA dan skor total degenerasi tubulus renalis pada tikus Wistar jantan yang diinduksi gentamisin.

Pengaruh induksi gentamisin dosis 0,3ml/hari berat badan tikus intra peritoneal selama 7 hari pada penelitian ini hampir sama dengan penelitian Lintong tahun 2012 yang menunjukkan adanya pembengkakan dan degenerasi lemak serta adanya nekrosis sel epitel tubulus. Hal ini juga sama pada penelitian Zularsil F. W. Rajak pada

tahun 2016 dimana tikus wistar yang di induksi gentamisin selama 6 hari dengan dosis 0,3ml/hari mengalami nekrosis.

Pemberian gentamisin tidak terbukti secara signifikan dapat mempengaruhi peningkatan kadar MDA tetapi dapat mempengaruhi secara signifikan skor total degenerasi tubulus renalis yang tampak pada kelompok kontrol negative (K1) terhadap kelompok kontrol positif (K2).

5.2.1 Kadar MDA

MDA merupakan senyawa reaktif yang terbentuk secara alami dan merupakan penanda stress oksidatif. Gambar 10 menunjukkan adanya penurunan rerata kadar MDA antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan.

Kelompok P2 menunjukkan adanya penurunan kadar MDA yang signifikan dibandingkan dengan kelompok K2. Hal ini terjadi karena kandungan dalam ekstrak propolis (metode CMCE) yang mampu menjadi agen anti inflamasi. Kandungan dalam ekstrak propolis (metode CMCE) antara lain Galangin, Chrysin, Pinocembrin, Naringenin, CAPE, Cinnamic acid, Apigenin mampu menurunkan tingkat inflamasi dengan menjadi *scavengers* terhadap ROS. Kandungan antioksidan dalam ekstrak propolis (metode CMCE) mampu memperbaiki kemotaksis dan perbaikan fagositosis secara keseluruhan. Penurunan aktivitas makrofag akan menurunkan kadar

sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-6, dan TNF- α sehingga kadar MDA dapat menurun.

5.2.2 Degenerasi Tubulus Renalis

Degenerasi sel tubulus merupakan suatu kelaianan yang terjadi akibat cedera yang menyebabkan terganggunya metabolisme sel tubulus renalis. Gambar 9A merupakan gambaran histologi ginjal kelompok K1 dengan perbesaran 400 kali yang menunjukkan bahwa sel-sel epitel tubulus proksimal masih dalam batas normal. Sel epitel tubulus proksimal tidak mengalami degenerasi maupun nekrosis.

Hasil pengamatan pada kelompok K2 yang telah diinduksi gentamisin 60 mg/kg berat badan tikus intra peritoneal selama 7 hari menunjukkan adanya degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidropik, degenerasi lemak dan nekrosis pada sel epitel tubulus ginjal yang tampak pada gambar 9B.

Degenerasi parenkimatososa merupakan degenerasi dengan tingkat paling rendah. Degenerasi parenkimatososa terjadi karena mitokondria dan retikulum endoplasma terganggu akibat oksidasi. Hal ini menyebabkan sel membengkak dan terjadi kekeruhan pada sitoplasma. Pembengkakan sel terjadi karena jejas tidak mampu mengeliminasi air sehingga air tertahan di dalam sel.

Degenerasi hidropik adalah degenerasi yang lebih berat dari degenerasi parenkimatos. Penampakan secara histologi menunjukkan adanya vakuolisasi yang berisi air dalam sitoplasma. Degenerasi lemak terjadi karena adanya penumpukan lemak yang abnormal dalam sitoplasma yang bervariasi kemudian mendesak inti ke tepi. Penilaian skor total degenerasi tubulus dikonversi dengan skoring metode modifikasi Sarjadi.

Nekrosis merupakan proses degenerasi yang menyebabkan kerusakan sel yang terjadi setelah suplai darah hilang ditandai dengan pembengkakan sel, denaturasi protein dan kerusakan organ yang menyebabkan disfungsi berat jaringan. Adanya interaksi radikal bebas hasil metabolisme obat dan metabolisme tubuh dengan biomolekul penyusun membran sel ginjal menyebabkan terjadi nekrosis.

Gentamisin yang masuk ke dalam tubuh terakumulasi di nefron ginjal. Adanya akumulasi ini dapat menyebabkan terganggunya permeabilitas membran sel, pecahnya sel lisosom, dan terbentuknya kompleks *inflammasome*. Terganggunya permeabilitas membran menyebabkan adanya perubahan pada sel epitel tubulus proksimal dan reduksi ATP karena adanya reduksi dari $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ yang merupakan kunci homeostasis volume cairan di dalam sel. Hal ini mengakibatkan sel epitel tubulus membengkak dan nekrosis. Pecahnya lisosom dapat secara langsung memicu terbentuknya ROS. Lisosom yang pecah mengakibatkan gentamisin dan enzim protease keluar ke

sitoplasma. Proses tersebut memicu aktifitas PAMPs dan DAMPs yang memicu stres oksidatif dan meningkatkan kadar sitokin proinflamator seperti IL-1, IL-6, dan TNF- α . DAMPs, PAMPs, dan sitokin proinflamator dikenali oleh TLR dan memicu aktivasi NF-kB untuk menginduksi sitokin proinflamator prematur. Kompleks *inflamosome* yang terbentuk merangsang caspase 1 untuk mengaktifkan sitokin proinflamator prematur seperti pro IL-1 menjadi IL-1. Ketiga sitokin tersebut memicu hati untuk melepaskan MDA sehingga kadar MDA meningkat. Adanya inflamasi yang terjadi dapat meningkatkan jumlah ROS dan degenerasi tubulus renalis.

Disfungsi ginjal mulai terjadi ketika aktivitas Na⁺K⁺-ATPase terganggu karena hambatan transportasi di dalam sel. Hal ini menyebabkan sel kekurangan ATP dan terjadi ketidakseimbangan natrium dan kalium sehingga sel mengalami degenerasi baik degenerasi parenkimatos, hidropik, perlemakan serta nekrosis yang tampak seperti pada gambar 9B. Kerusakan sel dan timbulnya inflamasi juga mampu meningkatkan kadar ROS. Proses perbaikan jaringan mulai terlihat pada gambaran histologi ginjal kelompok P1. Hal ini terjadi karena kandungan antioksidan ekstrak propolis (metode CMCE) seperti Galangin, Chrysin, Pinocembrin, Naringenin, CAPE, Cinnamic acid, Apigenin mampu menurunkan tingkat inflamasi dengan menjadi *scavengers* terhadap ROS sehingga jumlah ROS dan kadar MDA menurun. Antioksidan dalam ekstrak propolis (metode CMCE) juga

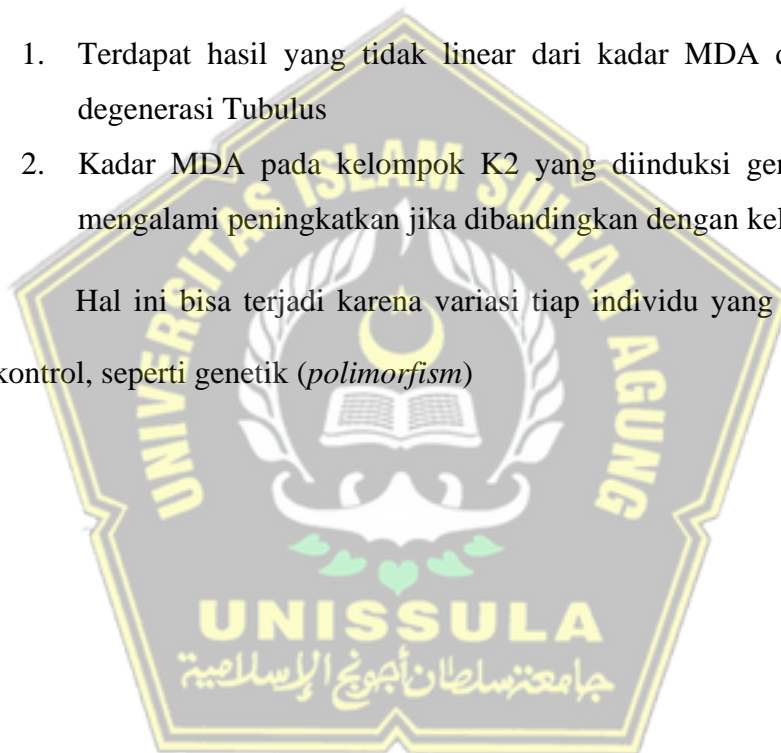
mampu memperbaiki permeabilitas membran sel sehingga Na^+K^+ -ATPase dan jumlah ATP stabil. Hal ini dapat mengurangi pembengkakan sel sehingga degenerasi tubulus renalis berkurang.

5.3 Keterbatasan Penelitian

Selama penelitian berlangsung, peneliti mendapatkan beberapa hal yang menjadi keterbatasan dalam penelitian ini, antara lain :

1. Terdapat hasil yang tidak linear dari kadar MDA dan skor total degenerasi Tubulus
2. Kadar MDA pada kelompok K2 yang diinduksi gentamisin tidak mengalami peningkatan jika dibandingkan dengan kelompok K1

Hal ini bisa terjadi karena variasi tiap individu yang tidak dapat dikontrol, seperti genetik (*polimorfism*)



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian Ekstrak Propolis (metode CMCE) dosis 200 dan 800 mg/kg berat badan tikus tidak berpengaruh secara signifikan, tetapi dengan pemberian Ekstrak Propolis (metode CMCE) dosis 400 mg/kgBB berpengaruh secara signifikan terhadap kadar MDA pada tikus Wistar jantan yang diinduksi gentamisin.
2. Pemberian Ekstrak Propolis (metode CMCE) dosis 200, 400, dan 800 mg/kg berat badan tikus berpengaruh secara signifikan terhadap skor total degenerasi tubulus renalis pada tikus Wistar jantan yang diinduksi gentamisin
3. Terdapat perbedaan pengaruh ekstrak Propolis (metode CMCE) yang signifikan terhadap kadar MDA dan skor total degenerasi tubulus renalis pada tikus Wistar jantan yang diinduksi gentamisin dengan kelompok kontrol.

6.2 Saran

1. Perlu penelitian lebih lanjut terhadap kadar MDA pada tikus wistar jantan yang di induksi Gentamisin.
2. Pemeriksaan terhadap variabel inflamasi yang lain perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruh anti inflamasi Ekstrak propolis (metode CMCE) yang lebih luas.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ostermann M, Joannidis M. *Acute Kidney Injury: Diagnosis and Diagnostic Workup*. Critical Care; 2016.
2. Basile D, Anderson M, Sutton T. Pathophysiology of Acute Kidney injury. *Natl Inst Heal*. 2012;2:1303–1353.
3. Kaddourah A, Basu RK, Bagshaw SM, Goldstein SL. Epidemiology of Acute Kidney Injury in Critically Ill Children and Young Adults. *N Engl J Med*. 2017;376:1-23.
4. Dutta RK. Beneficial Effects of Myo-Inositol Oxygenase Deficiency in Cisplatin-Induced AKI. *J Am Soc Nephrol*. 2017;28:1421-1436.
5. Prasetyo DH, Suparyanti EL, Guntur A. Ekstrak Etanol Propolis Isolat Menurunkan Derajat Inflamasi dan Kadar Malondialdehid pada Serum Tikus Model Sepsis Ethanol extract of Propolis Reduces the Level of Inflammation and Serum Malondialdehyde in Sepsis Rats Model. *Mkb*. 2013;45(3):161-166.
6. Endang UTC, Data S, Pool PP. Ekspresi COX-2 dan Jumlah Neutrofil Fase Inflamasi pada Proses Penyembuhan. 2018;21(1).
7. Damayanti R, Enggar Fitri L, Dalhar M. Pengaruh Pemberian Propolis terhadap Ekspresi INOS dan Kadar MDA pada Otak Tikus Model Cedera Otak Traumatik. *J Kedokt Brawijaya*. 2016;29(2):110-116. doi:10.21776/ub.jkb.2016.029.02.3
8. Alana L, Sari R, Apridamayanti P. Determination of FICI Value Combination of Aloe vera (L.) Burm. F.) Leaf Skin Extract and Gentamicin Sulfate against *Staphylococcus aureus* Bacteria. *Tradit Med J*. 2017;22(3):175-181.
9. Lintong PM, Kairupan CF, Sondakh PLN. Gambaran Mikroskopik Ginjal Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Setelah Diinduksi dengan Gentamisin. *J Biomedik*. 2012;4:185-192.
10. Ratna Yustika A, Sasangka Prasetyawan D. Kadar Malondialdehid (MDA) dan Gambaran Histologi pada Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Pasca Induksi Cylosporine-A. *Univ Brawijaya Malang*. 2013;1(2):222-228.
11. Sofyanita EN. Pengaruh Pemberian Ekstrak Countinous Multi-Stage Cautercurrent Extraction (CMCE) Propolis Terhadap Kadar Follicle Stimulating Hormone (FSH), Luteinizing Hormone (LH), dan Hormon Testosteron. *J Chem Inf Model*. 2019;53(9). <http://www.elsevier.com/locate/scp>.

12. Siahaan GS, Lintong PM, Loho LL. Gambaran histopatologi ginjal tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi gentamisin dan diberikan ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L. Poir). *J e-Biomedik*. 2016;4(1). doi:10.35790/ebm.4.1.2016.12229
13. Silvani FN, Sukohar A, Rudyanto W. Pengaruh ekstrak etanol belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn) sebagai antioksidan terhadap histopatologi hepar tikus galur Sprague dawley yang diinduksi parasetamol. *Majority*. 2019;8(1):95-101.
14. Seiawati E, Munir M, Prasaja EA. Pendeteksian Kelainan Fungsi Ginjal Dengan Memanfaatkan Radiofarmaka Hippuran I131 Menggunakan Kamera Gamma. 2008;10:57-60.
15. Ernawati N. Hubungan Kenaikan Kadar Cystatin dan Kadar Kreatinin pada Penderita Gagal Ginjal Akut. *J Petrol*. 2013;369(1). <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsames.2011.03.003><https://doi.org/10.1016/j.gr.2017.08.001><http://dx.doi.org/10.1016/j.precamres.2014.12.018><http://dx.doi.org/10.1016/j.precamres.2011.08.005><http://dx.doi.org/10.1080/00206814.2014.902757><http://dx.doi.org/10.1016/j.jimaging.2018.04.001>
16. Pranandari R, Supadmi W. Faktor Risiko Gagal Ginjal Kronik di Unit Hemodialisis RSUD Wates Kulon Progo. *Maj Farm*. 2015;11(7):415-418. doi:10.1063/1.1655531
17. Gallego J, Pedraza A, Lopez S, et al. Glomerulus classification and detection based on convolutional neural networks. *J Imaging*. 2018;4(1). doi:10.3390/jimaging4010020
18. Candra A, Trianto HF, In'am Ilmiawan M. Gambaran Histologis Korteks Ginjal Tikus (*Rattus norvegicus*) Pasca Penghentian Pajanan Monosodium Glutamat per Oral. *J Cerebellum*. 2015;1(3):202-220.
19. Rachmadi D. Gangguan Ginjala Akut (GnGA)*. *Dep Ilmu Kesehat Anak Fak Kedokt Univ Padjadjaran / RS Dr Hasan Sadikin Bandung*. 2011;(September):1-17.
20. Radityo AN, Kosim MS, Muryawan H. Asfiksia Neonatorum Sebagai Faktor Risiko Gagal Ginjal Akut. *Sari Pediatr*. 2016;13(5):305. doi:10.14238/sp13.5.2012.305-10
21. Masroer M, Sulistijono E. PENGARUH FAKTOR RISIKO GANGGUAN GINJAL AKUT (GnGA) NEONATAL TERHADAP STADIUM PENYAKIT DAN MORTALITAS. *Maj Kesehat*. 2019;6(2):123-133. doi:10.21776/ub.majalahkesehatan.006.02.6
22. Kairupan JD, Palar S. Gangguan Ginjal Akut et Kausa Sepsis : Laporan Kasus. 2020;2(1):36-47.

23. Tsikas D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Anal Biochem.* 2017;524:13-30. doi:10.1016/j.ab.2016.10.021
24. Mahfud RA, Lyrawati D, Sarwono I. Efek Asam Alfa Lipoat pada Kadar MDA dan Histologi Otak Diabetes Mellitus Tipe 1. *Malang Neurol J.* 2017;1(1):23-29. doi:10.23959/sfahrj-1000002
25. Situmorang N, Zulham. Malondialdehyde (MDA). 2020;2(2).
26. Przybyłek I, Karpiński TM. Antibacterial properties of propolis. *Molecules.* 2019;24(11):11-13. doi:10.3390/molecules24112047
27. Kabała-Dzik A, Rzepecka-Stojko A, Kubina R, et al. Comparison of two components of propolis: Caffeic acid (CA) and caffeic acid phenethyl ester (CAPE) induce apoptosis and cell cycle arrest of breast cancer cells MDA-MB-231. *Molecules.* 2017;22(9). doi:10.3390/molecules22091554
28. Pribadi A. Produktivitas Panen Propolis Mentah Lebah Trigona itama Cockerell (Hymenoptera: Apidae) Menggunakan Propolis Trap dan Manipulasi Lingkungan di Riau. *A Sci J.* 2020;37(2):60-68. doi:10.20884/1.mib.2020.37.2.1045
29. Lestari CR, Sumarawati T, Taufiqurrachman Nasihun. The Effect of CMCE Propolis Extract Administrations on Interleukin-1 (IL-1) Levels and the Hepatocyte Histopathological Findings of Rats Induced with CC14. *Sains Med.* 2015;1:123-128. doi:10.1007/978-1-4614-7495-1_23
30. Bulan S. Pengaruh Pemberian Ekstrak CMCE Propolis Terhadap Kadar Kreatinin dan Gambaran Histopatologi Ginjal (Studi Eksperimental Pada Tikus Jantan Galur Wistar Diinduksi Karbon Tetraklorida (CCL4). 2019.
31. Tylkowski B, Trusheva B, Bankova V, Giamberini M, Peev G, Nikolova A. Extraction of biologically active compounds from propolis and concentration of extract by nanofiltration. *J Memb Sci.* 2010;(348):124-130.
32. V. U, NC P. Inhibition of cell proliferation, induction of apoptosis, reactivation of DLC1, and modulation of other gene expression by dietary flavone in breast cancer cell lines. *Cancer Detect Prev.* 2007;2(31):110-118.

LAMPIRAN

1. Cara Pembuatan Ekstrak Propolis (metode CMCE)

Propolis yang digunakan pada penelitian didapatkan dari Ekstrak Propolis (metode CMCE) (merek dagang HDI Ekstrak propolis (metode CMCE) 200 mg/cap) yang didapat dari *High Desert* Indonesia. Adapun teknik pembuatan ekstrak propolis adalah dengan teknik CMCE (Continuous Multi-stage Countercurrent Extraction). Continuous Multi-stage Countercurrent Extraction adalah pengembangan ekstraksi satu stage dimana rafinat yang keluar dari stage pertama dicampur dengan solven segar pada stage kedua dan rafinat dari stage kedua dicampur dengan solven segar pada stage ketiga. Ekstrak dari stage pertama digabung dengan ekstrak dari stage kedua dan stage ke tiga. Hasil akhir adalah ekstrak (E1+E2+E3) dan Rafinat R3. Komposisi komponen – komponen di dalam aliran E dan R sudah dalam kesetimbangan sehingga E dan R lokasinya terletak pada kurve kesetimbangan: E1 setimbang dengan R1, E2 setimbang dengan R2 dan E3 setimbang dengan R3.

2. Cara pengukuran Kadar MDA dengan Uji TBA

Sebanyak 0,5 gram organ ginjal tikus bersama pasir kuarsa digerus dengan mortar hingga halus. Kemudian ditambahkan 200 μ L NaCl-fisiologis ke dalam mortar. Homogenat dimasukkan ke dalam tabung polipropilen dan ditambah 550 μ L akuades. Kemudian ditambah 100 μ L TCA dan dihomogenkan. Selanjutnya ditambah 250 μ L HCl 1N dan dihomogenkan.

Lalu campuran ditambah 100 μ L Na-Thio 1% dan disentrifugasi pada kecepatan 500 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil dan disaring menggunakan glass wool. Supernatan yang diperoleh dipanaskan dalam waterbath 100oC selama 20 menit. Supernatan yang telah dipanaskan selanjutnya didinginkan pada temperatur ruang. Setelah itu ditentukan nilai absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

3. Pembuatan Preparat Histopatologi Ginjal

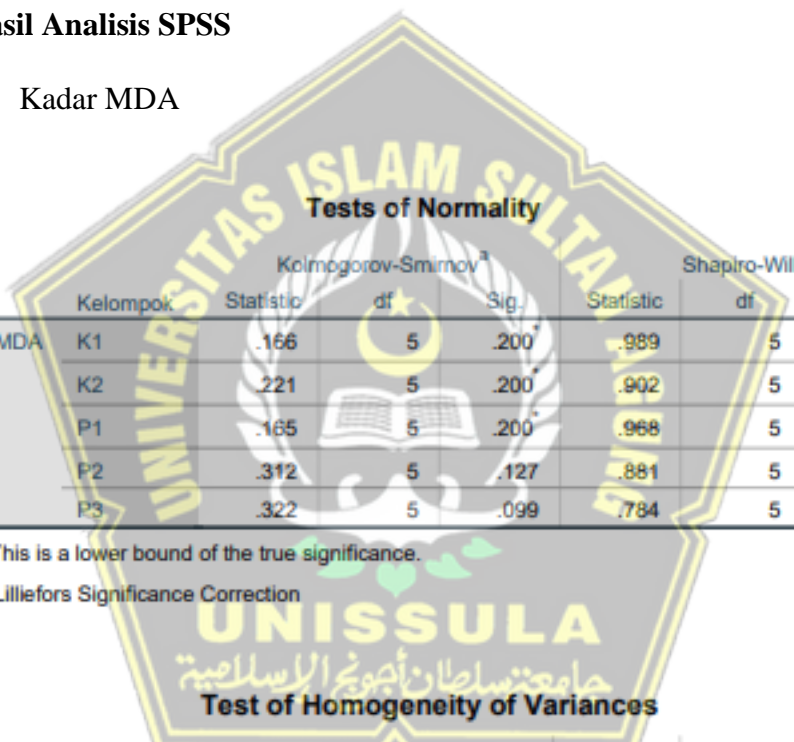
Pembuatan preparat histopatologi dilakukan determinasi Tikus Wistar dengan dislokasi tulang leher, kemudian pada bagian abdomen dibuka dengan gunting bedah dan ginjal diambil. Ginjal dicuci dengan aquades steril, difiksasi dengan menggunakan larutan Netral Buffer formalin 10% selama 3 jam, dan dilakukan proses dehidrasi secara bertingkat menggunakan alkohol 70% dan alkohol 95% masing-masing selama 30 menit kemudian alkohol 100% sebanyak 3 kali. Rendaman yang pertama selama 30 menit, rendaman ke-dua, ke-tiga dan ke-empat masing-masing 1 jam.

Tahap selanjutnya adalah clearing, dengan memasukkan ginjal ke dalam xylol lalu dimasukkan ke dalam parafin sebanyak 3 kali. Parafin pertama selama 2,5 jam dan yang ke-dua selama 4 jam. Setelah itu, jaringan dimasukkan ke dalam cassette untuk dicetak di dalam parafin dan disimpan dalam lemari pendingin. Kemudian Blok-blok paraffin tersebut dipotong

tipis, dengan ketebalan 5-6 μm menggunakan mikrotom. Hasil potongan lalu diapungkan dalam air hangat bersuhu 60°C untuk meregangkan agar jaringan tidak berlipat. Sediaan kemudian diangkat dan diletakkan dalam gelas objek untuk dilakukan pewarnaan Hematoxylin dan Eosin (HE). Selanjutnya diperiksa dibawah mikroskop.

4. Hasil Analisis SPSS

b. Kadar MDA



Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil MDA K1	.166	5	.200 [*]	.989	5	.977
K2	.221	5	.200 [*]	.902	5	.421
P1	.165	5	.200 [*]	.968	5	.865
P2	.312	5	.127	.881	5	.314
P3	.322	5	.099	.784	5	.060

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

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Hasil MDA Based on Mean	2.309	4	20	.093
Based on Median	1.423	4	20	.263
Based on Median and with adjusted df	1.423	4	9.632	.298
Based on trimmed mean	2.045	4	20	.127

Descriptives

Hasil MDA

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
K1	5	2.200	.2915	.1304	1.838	2.562
K2	5	1.860	.2608	.1166	1.536	2.184
P1	5	1.440	.7765	.3473	.476	2.404
P2	5	.840	.2510	.1122	.528	1.152
P3	5	1.240	.7301	.3265	.334	2.146
Total	25	1.516	.6780	.1356	1.236	1.796

ANOVA

Hasil MDA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.626	4	1.406	5.201	.005
Within Groups	5.408	20	.270		
Total	11.034	24			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Hasil MDA

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K1	K2	.3400*	.3289	.314	-.346	1.026
	P1	.7600*	.3289	.032	.074	1.446
	P2	1.3600*	.3289	.001	.674	2.046
	P3	.9600*	.3289	.008	.274	1.646
K2	K1	-.3400	.3289	.314	-1.026	.346
	P1	-.4200	.3289	.216	-.266	1.106
	P2	1.0200*	.3289	.006	.334	1.706
	P3	.6200	.3289	.074	-.066	1.306
P1	K1	-.7600	.3289	.032	-1.446	-.074
	K2	-.4200	.3289	.216	-1.106	.266
	P2	.6000	.3289	.083	-.086	1.286
	P3	.2000	.3289	.550	-.486	.886
P2	K1	-1.3600*	.3289	.001	-2.046	-.674
	K2	-1.0200*	.3289	.006	-1.706	-.334
	P1	-.6000	.3289	.083	-1.286	.086
	P3	-.4000	.3289	.238	-1.086	.286
P3	K1	-.9600*	.3289	.008	-1.646	-.274
	K2	-.6200	.3289	.074	-1.306	.066
	P1	-.2000	.3289	.550	-.886	.486
	P2	.4000	.3289	.238	-.286	1.086

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

c. Hasil PA (Skor total deg. Tubulus)

Tests of Normality						
Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	
Skor Total Deg. Tubulus	K1	.	5	.	5	
	K2	.242	5	.200*	5	
	P1	.305	5	.786	5	
	P2	.441	5	.002	5	
	P3	.454	5	.001	5	

Test of Homogeneity of Variances				
Kelompok	Based on	Levene Statistic	df1	df2
	Based on Median	2.198	4	20
	Based on Median and with adjusted df	2.198	4	9.385
	Based on trimmed mean	5.740	4	20

Descriptives

Skor Total Deg. Tubulus

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
K1	5	.00	.000	.000	.00	.00
K2	5	569.80	310.617	138.912	184.12	955.48
P1	5	83.60	97.703	43.694	-37.71	204.91
P2	5	87.00	127.724	57.120	-71.59	245.59
P3	5	60.40	97.256	43.494	-60.36	181.16
Total	25	160.16	258.224	51.645	53.57	266.75

ANOVA

Skor Total Deg. Tubulus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1073110.160	4	268277.540	10.177	.000
Within Groups	527203.200	20	26360.160		
Total	1600313.360	24			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Skor Total Deg. Tubulus

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K1	K2	-569.800*	102.684	.000	-784.00	-355.60
	P1	-83.600	102.684	.425	-297.80	130.60
	P2	-97.000	102.684	.407	-301.20	127.20
	P3	-60.400	102.684	.563	-274.80	153.80
K2	K1	569.800*	102.684	.000	355.60	784.00
	P1	486.200*	102.684	.000	272.00	700.40
	P2	482.800*	102.684	.000	268.60	697.00
	P3	509.400*	102.684	.000	295.20	723.60
P1	K1	83.600	102.684	.425	-130.60	297.80
	K2	-486.200*	102.684	.000	-700.40	-272.00
	P2	-3.400	102.684	.974	-217.60	210.80
	P3	23.200	102.684	.824	-191.00	237.40
P2	K1	87.000	102.684	.407	-127.20	301.20
	K2	-482.800*	102.684	.000	-697.00	-268.60
	P1	3.400	102.684	.974	-210.80	217.60
	P3	26.600	102.684	.798	-187.60	240.80
P3	K1	60.400	102.684	.563	-153.80	274.60
	K2	-509.400*	102.684	.000	-723.60	-295.20
	P1	-23.200	102.684	.824	-237.40	191.00
	P2	-26.600	102.684	.798	-240.80	187.60

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

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
						Lower Bound	Upper Bound	
Deg. Parenkim	K1	K2	-102.000*	33.260	.006	-171.38	-32.62	
		P1	-69.200	33.260	.051	-138.58	.18	
		P2	-16.600	33.260	.623	-85.98	52.78	
		P3	-22.800	33.260	.501	-92.18	46.58	
	K2	K1	102.000*	33.260	.006	32.62	171.38	
		P1	32.800	33.260	.336	-36.58	102.18	
		P2	85.400*	33.260	.018	16.02	154.78	
		P3	79.200*	33.260	.027	9.82	148.58	
	P1	K1	69.200	33.260	.051	-.18	138.58	
		K2	-32.800	33.260	.336	-102.18	36.58	
		P2	52.600	33.260	.129	-16.78	121.98	
		P3	46.400	33.260	.178	-22.98	115.78	
	P2	K1	16.600	33.260	.623	-52.78	85.98	
		K2	-85.400*	33.260	.018	-154.78	-16.02	
		P1	-52.600	33.260	.129	-121.98	16.78	
		P3	-6.200	33.260	.854	-75.58	63.18	
	P3	K1	22.800	33.260	.501	-46.58	92.18	
		K2	-79.200*	33.260	.027	-148.58	-9.82	
		P1	-46.400	33.260	.178	-115.78	22.98	
		P2	6.200	33.260	.854	-63.18	75.58	
	Deg. Hidropik	K1	K2	-222.800*	55.040	.001	-337.61	-107.99
			P1	-7.200	55.040	.897	-122.01	107.61
			P2	-33.600	55.040	.548	-148.41	81.21
			P3	-18.800	55.040	.736	-133.61	96.01
K2		K1	222.800*	55.040	.001	107.99	337.61	
		P1	215.600*	55.040	.001	100.79	330.41	
		P2	189.200*	55.040	.003	74.39	304.01	
		P3	204.000*	55.040	.001	89.19	318.81	
P1		K1	7.200	55.040	.897	-107.61	122.01	
		K2	-215.600*	55.040	.001	-330.41	-100.79	
		P2	-26.400	55.040	.637	-141.21	88.41	
		P3	-11.600	55.040	.835	-126.41	103.21	
P2		K1	33.600	55.040	.548	-81.21	148.41	
		K2	-189.200*	55.040	.003	-304.01	-74.39	
		P1	26.400	55.040	.637	-88.41	141.21	
		P3	14.800	55.040	.791	-100.01	129.61	
P3		K1	18.800	55.040	.736	-96.01	133.61	
		K2	-204.000*	55.040	.001	-318.81	-89.19	
		P1	11.600	55.040	.835	-103.21	126.41	
		P2	-14.800	55.040	.791	-129.61	100.01	

Deg. Lemak	K1	K2	-1.000*	.400	.021	-1.83	-.17	
		P1	.000	.400	1.000	-.83	.83	
		P2	.000	.400	1.000	-.83	.83	
		P3	.000	.400	1.000	-.83	.83	
	K2	K1	1.000*	.400	.021	.17	1.83	
		P1	1.000*	.400	.021	.17	1.83	
		P2	1.000*	.400	.021	.17	1.83	
		P3	1.000*	.400	.021	.17	1.83	
	P1	K1	.000	.400	1.000	-.83	.83	
		K2	-1.000*	.400	.021	-1.83	-.17	
		P2	.000	.400	1.000	-.83	.83	
		P3	.000	.400	1.000	-.83	.83	
	P2	K1	.000	.400	1.000	-.83	.83	
		K2	-1.000*	.400	.021	-1.83	-.17	
		P1	.000	.400	1.000	-.83	.83	
		P3	.000	.400	1.000	-.83	.83	
	P3	K1	.000	.400	1.000	-.83	.83	
		K2	-1.000*	.400	.021	-1.83	-.17	
		P1	.000	.400	1.000	-.83	.83	
		P2	.000	.400	1.000	-.83	.83	
	Nekrosis	K1	K2	-4.800*	1.659	.009	-8.26	-1.34
			P1	.000	1.659	1.000	-3.46	3.46
			P2	-.800	1.659	.635	-4.26	2.66
			P3	.000	1.659	1.000	-3.46	3.46
K2		K1	4.800*	1.659	.009	1.34	8.26	
		P1	4.800*	1.659	.009	1.34	8.26	
		P2	4.000*	1.659	.026	.54	7.46	
		P3	4.800*	1.659	.009	1.34	8.26	
P1		K1	.000	1.659	1.000	-3.46	3.46	
		K2	-4.800*	1.659	.009	-8.26	-1.34	
		P2	-.800	1.659	.635	-4.26	2.66	
		P3	.000	1.659	1.000	-3.46	3.46	
P2	K1	.800	1.659	.635	-2.66	4.26		
	K2	-4.000*	1.659	.026	-7.46	-.54		
	P1	.800	1.659	.635	-2.66	4.26		
	P3	.800	1.659	.635	-2.66	4.26		
P3	K1	.000	1.659	1.000	-3.46	3.46		
	K2	-4.800*	1.659	.009	-8.26	-1.34		
	P1	.000	1.659	1.000	-3.46	3.46		
	P2	-.800	1.659	.635	-4.26	2.66		

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



UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG (UNISSULA)

INTEGRATED BIOMEDICAL LABORATORY

FAKULTAS KEDOKTERAN

**Jl. Raya Kaligawe KM.4, Semarang 50112
Tel. +62246583584, email: ibl@unissula.ac.id**

Laboratorium Biomedik Terintegrasi

SURAT KETERANGAN
No. 131 /IBL-FK-SA/VII/2020

Yang Bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Dina Fatmawati, M.Sc.
Jabatan : Kepala Laboratorium Biomedik Terintegrasi FK Unissula

Menerangkan bahwa :

Nama : Alamsyah
NIM/NIK : MBK 17.9.01.0112
Fakultas : Kedokteran / Biomedik
Universitas : Islam Sultan Agung
Judul : Pengaruh Ekstrak Propolis (Metode CMCE) Terhadap Kadar MDA dan Skor Total Degenerasi Tubulus Renalis (Pada Tikus Wistar yang Diinduksi Gentamisin)

Telah selesai melakukan penelitian di Laboratorium Biomedik Terintegrasi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung, untuk menunjang penyusunan Tugas Akhir (Tesis). Adapun penelitian dilakukan pada bulan Maret 2020 - Juli 2020, dengan hasil terlampir.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Semarang, 27 Juli 2020

Mengetahui,

Kepala Lab. Biomedik Terintegrasi
Fakultas Kedokteran Unissula

Dina Fatmawati, M.Sc.

NIK. 210109143



UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG (UNISSULA)

INTEGRATED BIOMEDICAL LABORATORY

FAKULTAS KEDOKTERAN

Jl. Raya Kaligawe KM.4, Semarang 50112
Tel. +62246583584, email: ibl@unissula.ac.id

Laboratorium Biomedik Terintegrasi

Hasil Uji MDA (*Malondialdehyde*)

Kode Sampel	Konsentrasi
K(-) 1	2,2
K(-) 2	1,8
K(-) 3	2,3
K(-) 4	2,1
K(-) 5	2,6
K(+) 1	2,1
K(+) 2	1,9
K(+) 3	1,7
K(+) 4	2,1
K(+) 5	1,5
P1	2,4
P1	2,0
P1	0,5
P1	0,9
P1	1,4
P2	1,0
P2	0,6
P2	1,2
P2	0,7
P2	0,7
P3	1,0
P3	2,5
P3	0,7
P3	1,2
P3	0,8

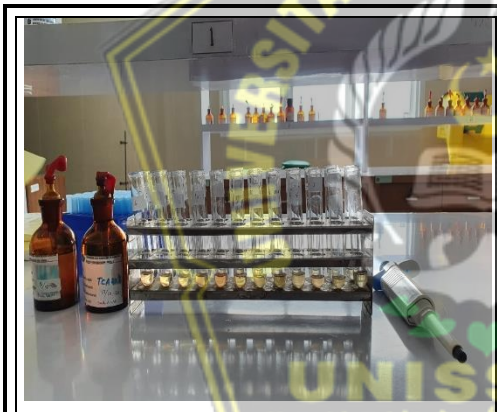
LAMPIRAN
DOKUMENTASI KEGIATAN PENELITIAN



Alat Spektrofotometer untuk pembacaan kadar MDA



Sampel yang diinkubasi dengan suhu 94 derajat



Alat dan bahan untuk pemeriksaan MDA



Perubahan Warna merah muda setelah diinkubasi



Tikus diberikan gentamisin dengan cara di sounde



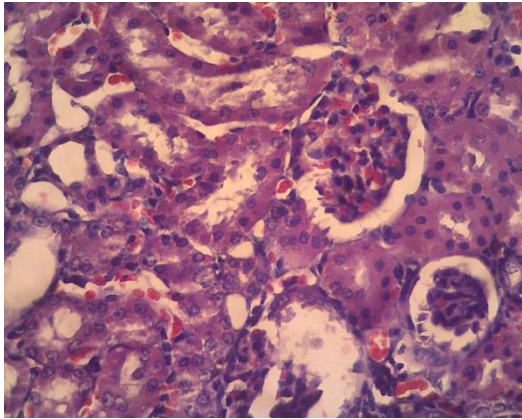
Alat sentrifuge untuk memisahkan darah dan serum



Hasil pembacaan histopatologi ginjal

no	kelompok	L1				L2				L3				L4				L5				Total			
		a	h	l	n	a	h	l	n	a	h	l	n	a	h	l	n	a	h	l	n	a	h	l	n
1	k-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	k-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	k-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	k-4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-5-	k-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	K+1	11	-	-	-	32	-	-	-	45	5	-	-	18	32	-	1	18	5	2	1				
7	K+2	-	92	1	-	2	66	2	-	16	51	-	2	15	31	-	-	-	96	-	4				
8	K+3	0	96	-	4	1	99	-	-	-	94	-	1	-	96	-	4	-	95	-	5				
9	K+4	12	2	-	-	40	7	-	-	25	53	-	-	11	52	-	-	95	2	-	-				
10	K+5	15	55	-	-	22	50	-	1	55	11	-	-	45	17	-	-	32	7	-	1				
11	P1.1	18	2	-	-	21	10	-	-	11	7	-	-	72	-	-	-	87	-	-	-				
12	P1.2	6	2	-	-	2	-	-	-	4	-	-	-	9	-	-	-	6	-	-	-				
13	P1.3	3	-	-	-	2	-	-	-	4	-	-	-	2	-	-	-	4	-	-	-				
14	P1.4	4	-	-	-	2	3	-	-	3	-	-	-	3	-	-	-	5	-	-	-				
15	P1.5	10	-	-	-	15	2	-	-	9	5	-	-	32	5	-	-	12	-	-	-				
16	P2.1	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-	14	-	-				
17	P2.2	2	-	-	-	6	-	-	-	3	-	-	-	6	-	-	-	2	-	-	-				
18	P2.3	-	53	-	-	-	31	-	-	4	32	-	-	2	27	-	4	7	-	-	-				
19	P2.4	4	-	-	-	5	-	-	-	5	3	-	-	2	2	-	-	3	6	-	-				
20	P2.5	8	-	-	-	7	-	-	-	4	-	-	-	5	-	-	-	2	-	-	-				
21	P3.1	2	-	-	-	6	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	12	-	-	-				
22	P3.2	3	62	-	-	8	2	-	-	5	14	-	-	6	11	-	-	34	-	-	-				
23	P3.3	5	1	-	-	4	-	-	-	6	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-				
24	P3.4	1	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-				
25	P3.5	5	-	-	-	2	3	-	-	1	-	-	-	2	-	-	-	2	1	-	-				

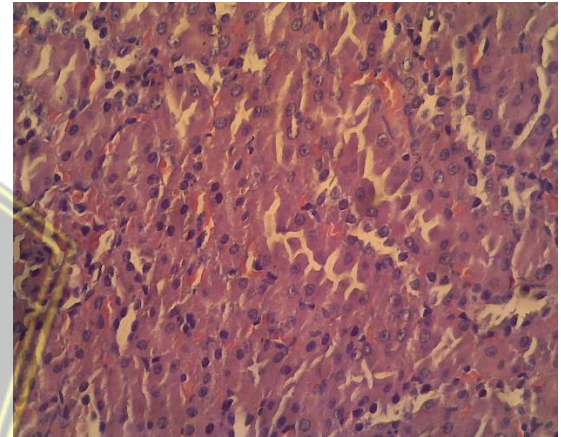
Kontrol negatif



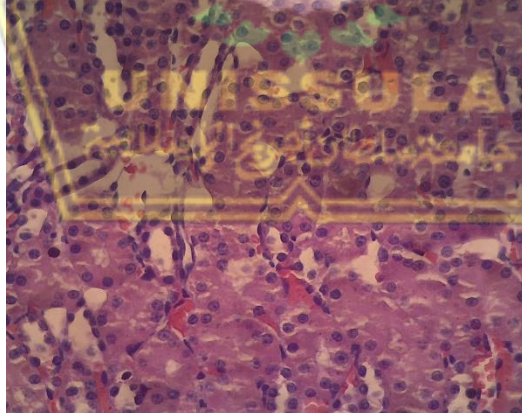
kontrol positif



P1



P2



P3

