

**EFEK PEMBERIAN TERAPI EKSTRAK DAUN SUKUN (*Artocarpus altilis*)  
PADA MENCIT (*Mus musculus*) MODEL GLOMERULONEFRITIS AKUT  
HASIL INDUKSI STREPTOKINASE TERHADAP KADAR (MDA)  
MALONDIALDEHID GINJAL DAN GAMBARAN  
HISTOPATOLOGI GINJAL**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**YATIK TRIHEPSATITI**

**135130107111026**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**

**EFEK PEMBERIAN TERAPI EKSTRAK DAUN SUKUN (*Artocarpus altilis*)  
PADA MENCIT (*Mus musculus*) MODEL *GLOMERULONEFRITIS* AKUT  
HASIL INDUKSI STREPTOKINASE TERHADAP KADAR (MDA)  
MALONDIALDEHID GINJAL DAN GAMBARAN  
HISTOPATOLOGI GINJAL**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:

**YATIK TRIHEPSATITI**

**135130107111026**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan semesta alam Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya serta junjungan Nabi besar Muhammad SAW, sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal ini dengan baik. Judul penelitian yang dipilih adalah “Efek Pemberian Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus Altilis*) Pada Mencit (*Mus Musculus*) Model *Gomerulonefritis* Akut Hasil Induksi Streptokinase Terhadap Kadar Malanodialdehid (MDA) Ginjal Dan Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit”

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Pratiwi Trisunuwati, drh, MS. sebagai dosen pembimbing I, drh. Nurina Titisari selaku pembimbing II yang telah membimbing, memberi banyak masukan dan bimbingan serta mengajarkan hal-hal baru selama penelitian dan penulisan skripsi.
2. drh. Fidi Nur Aini EPD, M.Si, Agri Kaltaria Anisa, S.Farm, Apt. selaku dosen penguji yang telah bersedia meluangkan waktu untuk menilai dan memberi masukan pada penulis.
3. Prof.Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya (FKH UB).
4. drh. Dyah Ayu Oktavianie A.P., M.Biotech selaku Wakil Dekan I Bidang Akademik Fakultas Kedokteran Hewan.
5. Keluarga penulis yang telah memberikan dukungan dan semangat yang sangat besar kepada penulis sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.
6. Rekan penelitian Safitri U. Mukminah dan Arista Nurindah Sari, Kontrakan 508, serta para wanita Paripurna atas kerjasama, semangat dan kebersamaan yang dilalui selama melakukan penelitian dan penulisan skripsi.
7. Teman-teman CAVITAS yang telah memberikan dukungan moril serta semangat kepada penulis

Penulis menyadari bahwa kesempurnaan hanya dimiliki oleh Allah SWT, maka dari itu penulis memohon maaf apabila terdapat kesalahan di dalam penulisan ini, oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga yang ada dalam tulisan ini dapat bermanfaat bagi kita semua.



Malang, 9 Januari 2018

Penulis



## **Effect Of The Extract Leaves Sukun (*Artocarpus Altilis*) In Acute Glomeruloneprithis Mice (*Mus musculus*) Induction Of Streptokinase As Measured Malanodialdehyd And Histopathology Of Ren**

### **ABSTRACT**

Glomeruloneprithis Acute is an immune complex disease in kidney that mark by inflammation and proliferation of glomerulus cell. Streptokinase made from streptococcus beta hemolyticus causing glomerulonefrithis acute. The purpose of this study is to know the effect of the extract leaves of sukun as therapy effect of glomeruloneprithis acute based on decreased MDA level and repair of histopathology ren. This experiment use completely randomized design (CRD). Mice were divided into 5 groups: negative control group, positive control group, and three groups of IV induction of streptokinase dose 2500 IU and treated with (*Artocarpus Altilis*) (Dose 16,8 mg/mice, 25,2 mg/mice, and 33,6 mg/mice per-oral for 14 days). Quantitative analysis of MDA level using One Way ANOVA with ( $P < 0.05$ ). Qualitative analysis was used to analyze the histopathology of ren. The result showed that extract leaves of *Artocarpus altilis* with doses 16,8 mg/mice, 25,2 mg/mice and 33,6 mg/mice has significantly therapy effect to glomeruloneprithis acute based on decrease levels of MDA in ren and repair of histopathology ren that is repair of ren by decrease of radang infiltration, repair size of Capsula Bowman, and repair tubulus by decrease necrosis of epitel tubulus. The conclusion of this study was *Artocarpus altilis* has therapy effect to glomerulonefrithis acute induced by streptokinase based on decrease levels of MDA in ren and repair of histopahatology ren with the best dose is 16,8 mg/mice.

Keyword : Acute glomeruloneprithis, Streptokinase, MDA of ren, Histopathology of ren.

**EFEK PEMBERIAN TERAPI EKSTRAK DAUN SUKUN (*Artocarpus altilis*) PADA MENCIT MODEL GLOMERULONEFRITIS AKUT HASIL INDUKSI STREPTOKINASE TERHADAP KADAR MDA Malanodialdehid HISTOPATOLOGI GINJAL**

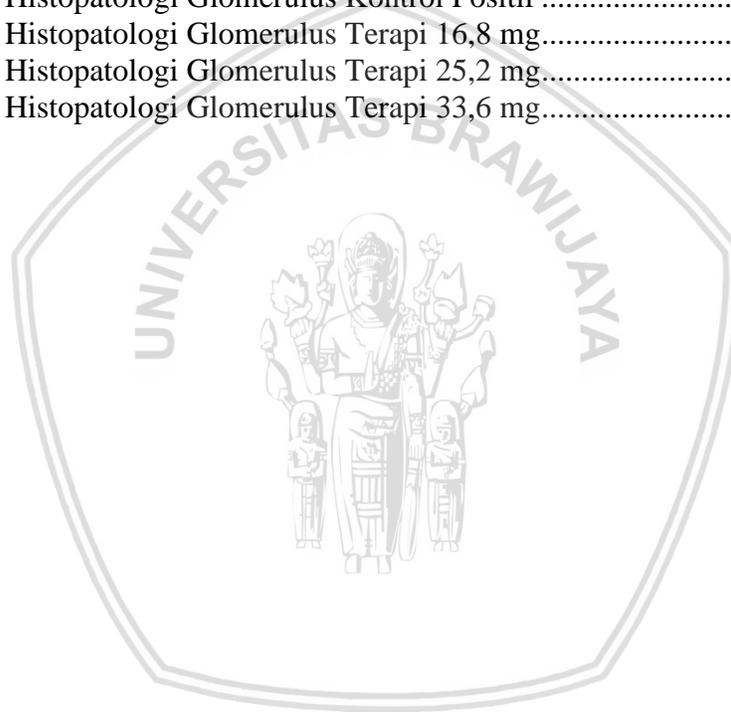
**ABSTRAK**

Glomerulonefritis Akut (GNA) merupakan penyakit kompleks imun ditandai dengan inflamasi dan proliferasi sel glomerulus pada ginjal, Streptokinase diproduksi oleh *streptococcus beta hemolyticus* yang dapat menyebabkan glomerulonefritis akut. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sukun (*Artocarpus Altilis*) sebagai terapi pada glomerulonefritis akut berdasarkan penurunan kadar MDA dan perbaikan gambaran histopatologi ginjal. Penelitian ini menggunakan model Rancangan Acak Lengkap (RAL). Mencit dibagi ke dalam 5 kelompok yaitu, kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan 3 kelompok perlakuan yang diinduksi streptokinase secara IV dosis 2500 IU dan diterapi dengan ekstrak daun sukun (dosis 16,8 mg/ekor, 25,2 mg/ekor, dan 33,6 mg/ekor per-oral selama 14 hari. Analisis kuantitatif kadar MDA menggunakan *Oneway* ANOVA dengan ( $P<0.05$ ). Analisa kualitatif digunakan untuk menganalisis gambaran histopatologi ginjal. Hasil penelitian menunjukkan pemberian terapi ekstrak daun sukun dengan dosis 16,8 mg/ekor, 25,2 mg/ekor dan 33,6 mg/ekor mampu menurunkan kadar MDA dan memperbaiki gambaran histopatologi ginjal yaitu perbaikan pada gambaran ginjal dengan penurunan infiltrasi sel radang, perbaikan ukuran kapsula bowman dan perbaikan tubulus yang ditunjukkan dengan penurunan nekrosis pada epitel tubulus. Kesimpulan penelitian ini yaitu ekstrak daun sukun dapat sebagai terapi pada mencit model glomerulonefritis akut hasil induksi streptokinase berdasarkan penurunan kadar MDA dan perbaikan gambaran histopatologi ginjal dengan dosis terbaik yaitu 16,8 mg/ekor.

Kata kunci : Glomerulonefritis Akut, Streptokinase, MDA ginjal, Histopatologi Ginjal.

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Gambaran Histologi Glomerulus Normal .....	8
2.2 Tanaman Sukun.....	14
2.3 Mekanisme Pembentukan MDA.....	20
5.1 Gambar Histopatologi Glomerulus Kontrol Negatif.....	40
5.2 Gambar Histopatologi Glomerulus Kontrol Positif .....	40
5.3 Gambar Histopatologi Glomerulus Terapi 16,8 mg.....	41
5.4 Gambar Histopatologi Glomerulus Terapi 25,2 mg.....	41
5.5 Gambar Histopatologi Glomerulus Terapi 33,6 mg.....	42



## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN PROPOSAL SKRIPSI .....</b>	<b>iii</b>
<b>LEMBAR PERNYATAAN .....</b>	<b>v</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>vi</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>vii</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN .....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xv</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Batasan Masalah .....	4
1.4 Tujuan Penelitian .....	5
1.5 Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>7</b>
2.1 Ginjal .....	7
2.1.1 Fisiologi Ginjal .....	8
2.2 Glomerulonefritis Akut .....	10
2.2.1 Etiologi Glomerulonefritis Akut .....	10
2.2.2 Patogenesis GNA .....	11
2.2.3 Diagnosa .....	11
2.2.4 Pengobatan .....	12
2.3 Hewan Coba Mencit ( <i>Mus musculus</i> ) .....	12
2.4 Daun Sukun .....	13
2.4.1 Klasifikasi Daun Sukun .....	13
2.4.2 Morfologi Daun Sukun .....	14
2.4.3 Budidaya Daun Sukun .....	14
2.4.4 Kandungan Daun Sukun .....	15
2.5 Streptokinase .....	18
2.6 Malanoldehid (MDA) .....	19
<b>BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN .....</b>	<b>21</b>
3.1 Kerangka Konsep .....	21
3.2 Hipotesis Penelitian .....	22
<b>BAB 4. METODELOGI PENELITIAN .....</b>	<b>23</b>
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	23



4.2	Alat dan Bahan.....	23
4.3	Rancangan Penelitian.....	24
4.4	Sampel Penelitian.....	25
4.5	Variabel Penelitian.....	26
4.6	Tahapan Penelitian.....	26
4.6.1	Persiapan Hewan Coba.....	27
4.6.2	Preparasi Streptokinase.....	27
4.6.3	Pembuatan Hewan Model GNA.....	28
4.6.4	Penentuan kadar BUN dan Kreatinin.....	29
4.6.5	Pembuatan Ekstrak Daun Sukun.....	29
4.6.6	Pemberian Tterapi.....	30
4.6.7	Euthanasi Hewan Coba.....	31
4.6.8	Pengukuran Kadar MDA.....	32
4.6.9	Pemeriksaan Histopatologi Ginjal.....	33
4.7	Analisa Data.....	33
<b>BAB 5</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>34</b>
5.1	Hasil induksi streptokinase pada mencit.....	34
5.2	Pengaruh terapi daun sukun terhadap kadar MDA.....	36
5.3	Pengaruh terapi daun sukun terhadap histopatologi ginjal.....	39
<b>BAB 6</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>46</b>
6.1	Kesimpulan.....	46
6.2	Saran.....	46
	<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>47</b>
	<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>53</b>

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Laik Etik.....	54
2. Determinasi Tanaman Daun Sukun ( <i>Artocarpus altilis</i> ).....	55
3. Skema Perlakuan.....	56
4. Kerangka Operasional .....	57
5. Perhitungan Streptokinase.....	58
6. Perhitungan Dosis Terapi Ekstrak Daun Sukun.....	59
7. Langkah Kerja Penelitian.....	63
8. Pengukuran kadar MDA .....	65
9. Pembuatan Preparat Histologi Ginjal.....	67
10. Lampiran Perhitungan Statistik Kadar MDA.....	68
11. Lampiran Uji Fitokimia daun sukun .....	72



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Rancangan Penelitian .....	25
5.1 Rata-rata kadar MDA ginjal Mencit .....	38



Lampiran 1 . Laik Etik



Lampiran 2. Determinasi Tanaman Daun Sukun (*Artocarpus altilis*).

  
**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR**  
**DINAS KESEHATAN**  
**UPT MATERIA MEDICA BATU**  
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396  
**KOTA BATU 65313**

---

Nomor : 074/319A/102.7/2017  
Sifat : Biasa  
Perihal : **Determinasi Tanaman Sukun**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : YATIK TRIHEPSATITI  
NIM : 135130107111026  
Fakultas : FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG

1. Perihal determinasi tanaman sukun

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)  
Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)  
Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)  
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)  
Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)  
Sub Kelas : Dilleniidae  
Ordo : Urticales  
Famili : Moraceae (suku nangka-nangkaan)  
Genus : Artocarpus  
Spesies : *Artocarpus communis* Forst  
Nama Daerah : Sukun (Aceh), hatopul (Batak), amu (Meteyu), sukun (Jawa), sakon (Madura), sukun (Bali), karara bima (Flores)  
Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-15a-109b-119b-120a-121b-124a-1b-2.

2. Morfologi : Habitus: Pohon, tinggi 10-25 m. Batang: Tegak, berkayu, bulat, percabangan simpodial, coklat. Daun: Tunggal, tersebar, panjang 40-60 cm, lebar 30-35 cm, tepi bertoreh, ujung meruncing, pangkal membulat, pertulangan menjari, daging daun tebal, permukaan licin, tulang daun menonjol, permukaan atas berbulu, hijau, tangkai bulat, panjang 3-4 cm, hijau. Bunga: Tunggal, di ketiak daun, tangkai silindris, panjang 2-3 cm, hijau muda, kelopak lonjong, permukaan bagian dalam licin, bagian luar berambut, kehijauan, mahkota lonjong, kuning kehijauan. Buah: Buni, lonjong, diameter 6-10 cm, permukaan bergerigi tumpul, teratur, bergetah, hijau. Biji: Lonjong, pipih, coklat. Akar: Tunggang, coklat.

3. Nama Simplisia : *Artocarpus Folium*/ Daun Sukun.

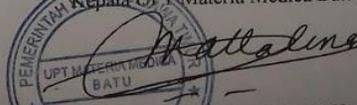
4. Kandungan : Daun dan kulit batang mengandung saponin dan polifenol. Daun mengandung saponin, polifenol, asam hidrosianat, kalium, phenol, tannin, asetilcolin, flavonoid, beta sitosterol dan riboflavin. Buah mengandung protein, lemak, karbohidrat, serat, kalsium, kalium, fosfor, zat besi, karoten, thiamin, riboflavin, niacin dan asam askorbat.

5. Penggunaan : Penelitian

6. Daftar Pustaka

- Anonim. <http://www.warintek.ristek.go.id/sukun>, diakses tanggal 1 Desember 2010.
- Nur Apriyanti, Rosy. 2012. *Daun sukun vs ginjal, hepatitis*. Trubus vol. 509, XLIII: Hal 13-17.
- Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Johny Ria Hutapea. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Van Steenis, C.G.G.J. 2008. *FLORA*. Pradnya Paramita, Jakarta.

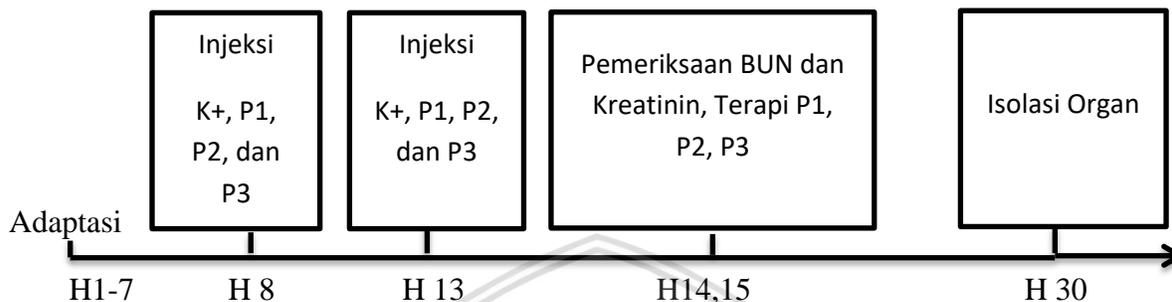
Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Bat., 21 Agustus 2017  
Kepala UPT Materia Medica Batu  
  
Dr. Husin R.M., Drs., Apt., M.Kes.  
NIP. 196111021991031003



### Lampiran 3. Skema Perlakuan

Perlakuan :



Keterangan :

K+ = Kontrol Positif

K- = Kontrol negatif

P1 = Perlakuan 1 (dosis terapi 16,8 mg/ekor)

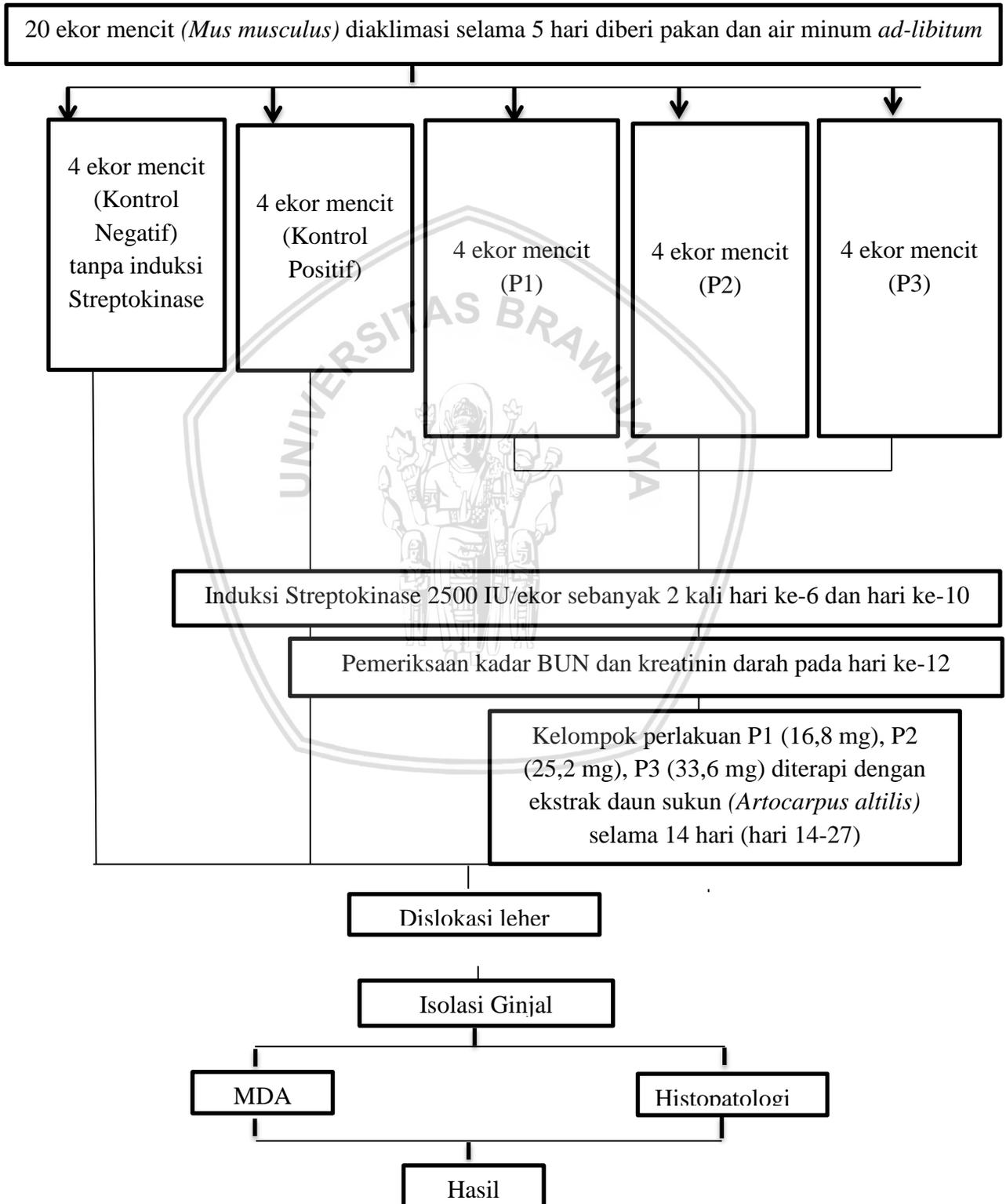
P2 = Perlakuan 2 (dosis terapi 25,2 mg/ekor)

P3 = Perlakuan 3 (dosis terapi 33,6 mg/ekor)

Penjelasan :

1. Hari ke-8 dilakukan injeksi Streptokinase pada K+, P1, P2, dan P3 sebanyak 2500 IU secara IV
2. Hari ke-13 dilakukan injeksi Streptokinase pada K+, P1, P2, dan P3 sebanyak 2500 IU secara IV
3. Hari ke 4 dilakukan pengambilan darah untuk pemeriksaan BUN dan Kreatinin serum
4. Hari ke-15 diberikan terapi ekstrak daun sukun pada P1, P2, dan P3 dengan masing masing dosis yaitu 16,8 mg/ekor, 25,2 mg/ekor, dan 33,6 mg/ekor
5. Hari ke-29 dilakukan pengambilan serum untuk pemeriksaan kreatinin serum dan dilakukan isolasi organ ginjal untuk pemeriksaan histopatologi ginjal

**Lampiran 4. Kerangka Operasional**



### Lampiran 5. Perhitungan Streptokinase

Induksi dosis streptokinase pada penelitian ini mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Murwani, dkk. (2014) yaitu sebesar 2500 IU.

Perhitungan larutan streptokinase dosis 2500 IU.

Diketahui :

Sediaan Streptokinase = 1.500.000 IU (serbuk) dengan aturan pakai dilarutkan dalam RL 2 ml)

Jumlah mencit (*Mus musculus*) yang akan diinduksi = 16 ekor (kelompok K+, P1, P2, dan P3)

Dosis streptokinase per-ekor per-induksi = 2500 IU

- Pengenceran pertama streptokinase 1.500.000 IU ditambahkan larutan RL sebanyak 2 mL dan dihomogenkan menggunakan vortex. Diambil 1 mL yang mengandung 750.000 IU kemudian ditambahkan lagi larutan RL hingga 5 mL kemudian dihomogenkan dengan vortex. Diambil 1 mL dari larutan akhir yang mengandung 150.000 IU. Untuk menyiapkan streptokinase dengan dosis 2500 IU dilakukan perhitungan sebagai berikut

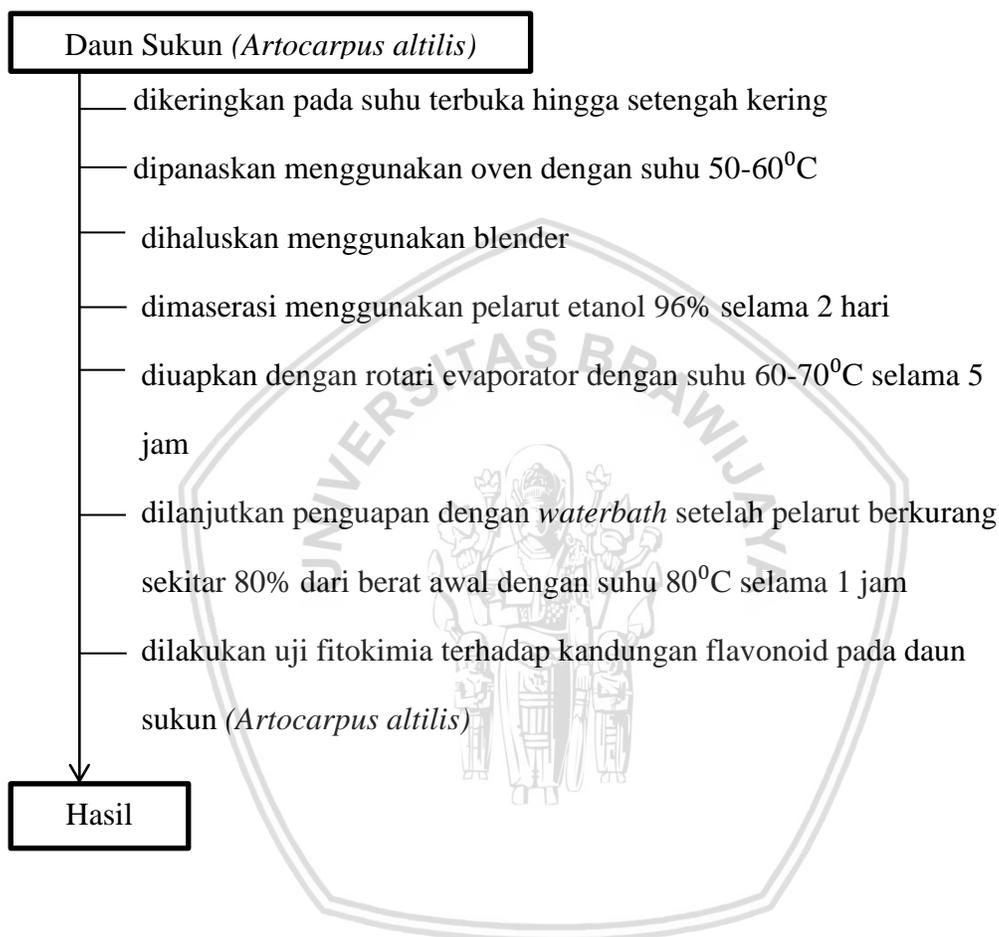
$$\frac{750.000 \text{ IU}}{5 \text{ mL}} = 150 \text{ IU}/\mu\text{L}$$

$$\frac{2500 \text{ IU}}{150 \text{ IU}/\mu\text{L}} = 16,67 \mu\text{L/ekor ditambahkan larutan RL hingga } 100 \mu\text{L}$$

Streptokinase diinduksi sebanyak 2 kali dengan selang waktu 4 hari sebanyak 100  $\mu\text{L}$ /ekor pada vena coccygea.

## Lampiran 6.

### 6.1 Pembuatan Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*)



### 6.2 Perhitungan dosis terapi

Dosis ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) yang diberikan pada mencit sebagai terapi glomerulonefritis akut berdasarkan penelitian Safitri, dkk., (2015) menyatakan bahwa penggunaan ekstrak etanol daun sukun dengan dosis 200 mg/kg BB pada gangguan fungsi ginjal dapat menurunkan kadar BUN dan Kreatinin ginjal serta dapat memperbaiki histologi ginjal tikus. Berdasarkan hal tersebut dosis yang

digunakan pada penelitian ini menggunakan dosis variasi ekstrak daun sukun yaitu 400 mg/kg BB, 600 mg/kg BB dan 800 mg/kg BB.

Dosis tersebut tidak melebihi batas toksik ekstrak daun sukun yaitu 2000 mg/kg BB sesuai dengan penelitian Sairam, S. and Urooj, A. (2014) menyatakan bahwa ekstrak daun sukun pada dosis 2000 mg/kg BB tidak menyebabkan mortalitas, dan reaksi toksik lainnya. Perhitungan dosis dengan mengkonversi dosis pada tikus ke mencit dengan diketahui berat badan mencit 30 g dan konversi 0,14 pada tikus 200 g ke mencit 20 g.

Perhitungan Konversi Dosis dari tikus ke mencit:

Tikus (200 g) : Mencit (20 g)

**Dosis 1 : 400 mg/kg BB**

- Dosis pada tikus dengan BB 200 g adalah  $0,2 \text{ kg} \times 400 \text{ mg/kgBB} = 80 \text{ mg}$
- Tikus (200 g) konversi ke mencit 20 g :  $0,14 \times 80 \text{ mg} = 11,2 \text{ mg}$
- mencit (30 g) :  $30 \text{ g}/20 \text{ g} \times 11,2 \text{ mg} = 16,8 \text{ mg}$

**Dosis 2 : 600 mg/kg BB**

- Dosis pada tikus dengan BB 200 g adalah  $0,2 \text{ kg} \times 600 \text{ mg/kgBB} = 120 \text{ mg}$
- Tikus (200 g) konversi ke mencit 20 g :  $0,14 \times 120 \text{ mg} = 16,8 \text{ mg}$
- mencit (30 g) :  $30 \text{ g}/20 \text{ g} \times 16,8 \text{ mg} = 25,2 \text{ mg}$

**Dosis 3 = 800 mg/kg BB**

- Dosis pada tikus dengan BB 200 g adalah  $0,2 \text{ kg} \times 800 \text{ mg/kgBB} = 160 \text{ mg}$
- Tikus (200 g) konversi ke mencit 20 g :  $0,14 \times 160 \text{ mg} = 22,4 \text{ mg}$
- mencit (30 g) :  $30 \text{ g}/20 \text{ g} \times 22,4 \text{ mg} = 33,6 \text{ mg}$

Volume pemberian ekstrak daun sukun :

1. 1 ml = 1000 mg hanya berlaku untuk air dengan berat jenis = 1, sehingga dilakukan perhitungan melalui penimbangan :

- a. Spuit Kosong
- b. Diambil ekstrak daun sukun 1 ml
- c. Dicari selisih spuit kosong dengan spuit berisi ekstrak 1 ml
- d. Dosis dibagi selisih berat lalu dikali 1 ml
- e. Ditemukan volume dalam per ml
- f. Dosis untuk 1 ekor = dosis dibagi berat selisih dan dikali 1 ml
- g. Dosis untuk 4 ekor = dosis x 4 ekor/ berat selisih x 1 ml

Diketahui :

Berat Spuit = 2,4 gr

1 ml ekstrak+ spuit = 3,3 gr

Selisih = 1,1 gr atau 1100 mg

2. Volume pemberian ekstrak daun sukun setiap dosis

- a. Dosis pertama yaitu 16,8 mg/ekor

Jika untuk 4 ekor maka :  $16,8\text{mg/ekor} \times 4 \text{ ekor} / 1100 \text{ mg} \times 1 \text{ ml}$

$$= \mathbf{0,061 \text{ ml}}$$

Untuk mempermudah pemberian, dilakukan pengenceran yaitu 0,061 ml ditambahkan dengan aquades sampai 4 ml sehingga untuk pemberian per ekor = 1 ml

b. Dosis kedua yaitu : 25,2 mg/ ekor

Jika untuk 4 ekor maka :  $25,2 \text{ mg/ekor} \times 4 \text{ ekor} / 1100 \text{ mg} \times 1 \text{ ml}$

$$= \mathbf{0,091 \text{ ml}}$$

Untuk mempermudah pemberian, dilakukan pengenceran yaitu 0,091

ml ditambahkan dengan aquades sampai 4 ml sehingga untuk

pemberian per ekor = 1 ml

c. Dosis ketiga yaitu 33,6 mg/ekor

Jika untuk 4 ekor maka :  $33,6 \text{ mg/ekor} \times 4 \text{ ekor} / 1100 \text{ mg} \times 1 \text{ ml}$

$$= \mathbf{0,122 \text{ ml}}$$

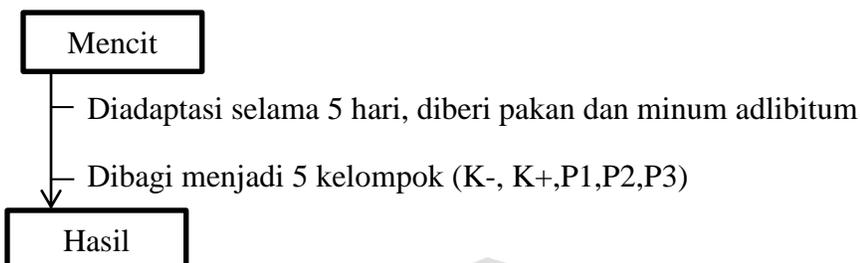
Untuk mempermudah pemberian, dilakukan pengenceran yaitu 0,091

ml ditambahkan dengan aquades sampai 4 ml sehingga untuk

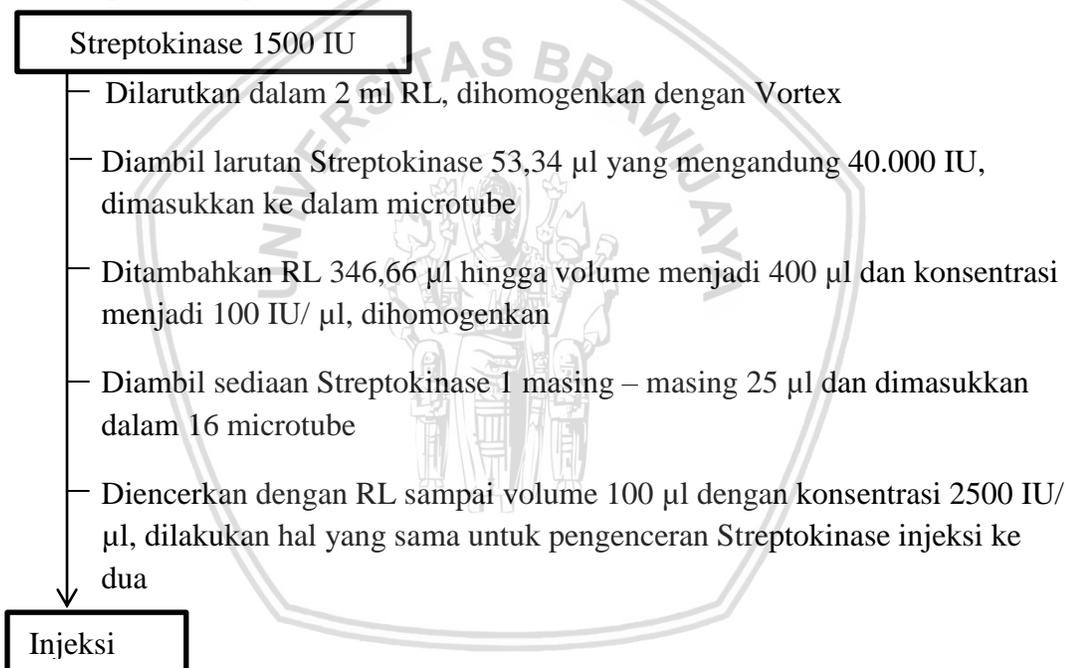
pemberian per ekor = 1 ml

**Lampiran 7. Langkah Kerja Penelitian**

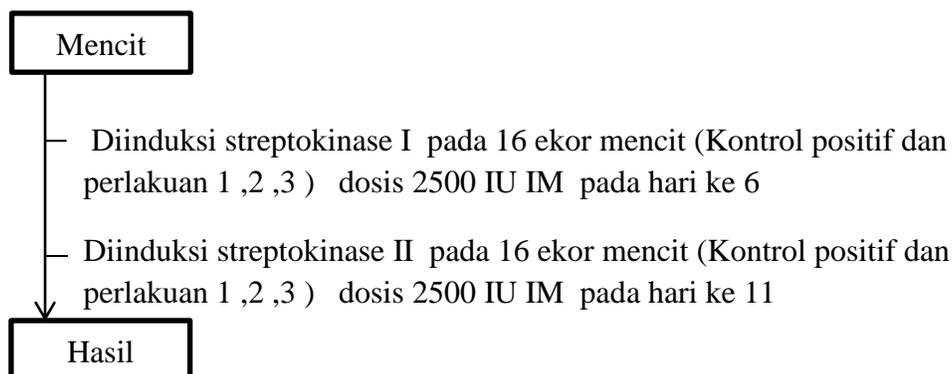
## 1. Persiapan Hewan Coba



## 2. Preparasi Streptokinase



## 1. Pembuatan mencit model GNA



## 2. Terapi Ekstrak Daun Sukun

### Mencit

- Diterapi mencit GNA perlakuan (1) 400 mg/kg BB dengan ekstrak daun sukun yang diberikan 16,8 mg/ekor
- Diterapi mencit GNA perlakuan (2) 600 mg/kg BB dengan ekstrak daun sukun yang diberikan 25,2 mg/ekor
- Diterapi mencit GNA perlakuan (3) 800 mg/kg BB dengan ekstrak daun sukun yang diberikan 36,3 mg/ekor

### Hasil

## 3. Pengambilan organ ginjal

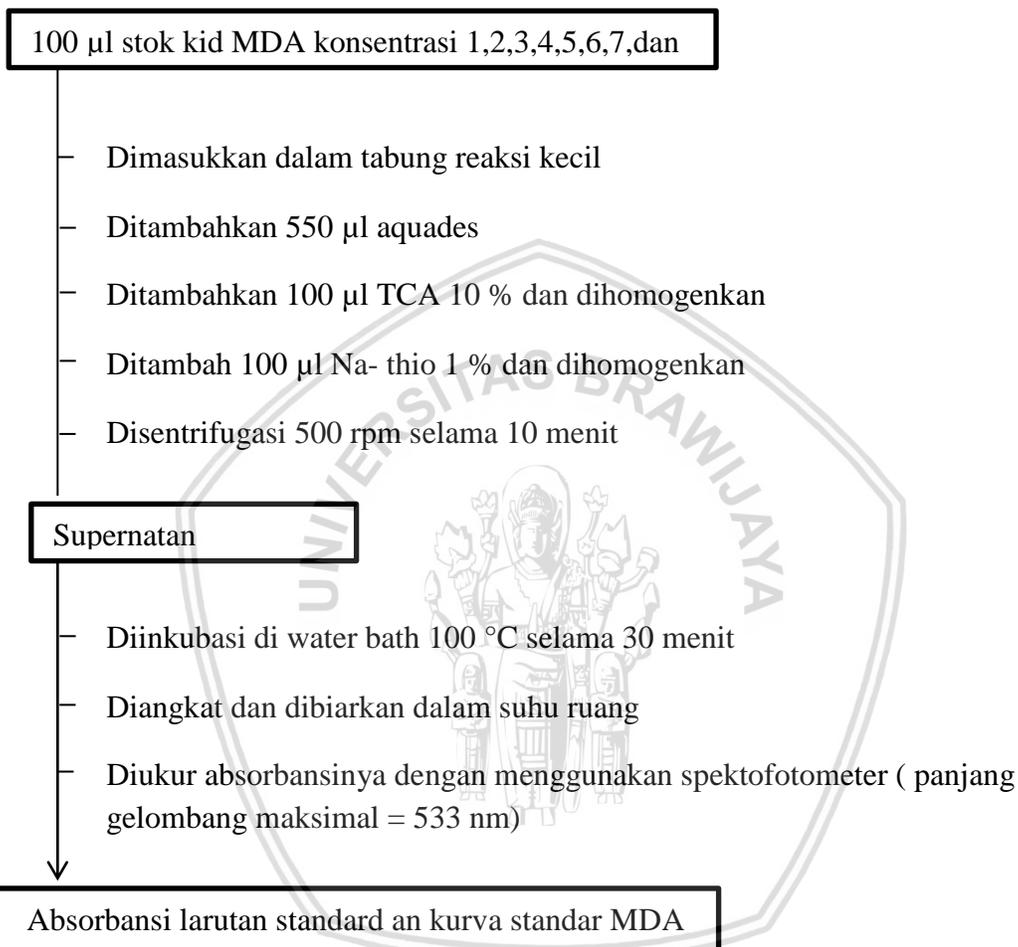
### Mencit

- Dietanasi menggunakan kloroform
- Dilakukan pembedahan abdomen posisi rebah dorsal
- Diambil organ ginjal, dan dipotong 2 bagian dengan berat pertama yaitu 20 mg dan sisa menjadi 2 bagian.
- Bagian 1, dimasukkan kedalam larutan *Phosphate Buffer Saline* –azida (PBS-azida) pH 7,4
- Bagian kedua dimasukkan dalam larutan Formaldehid 10 %.

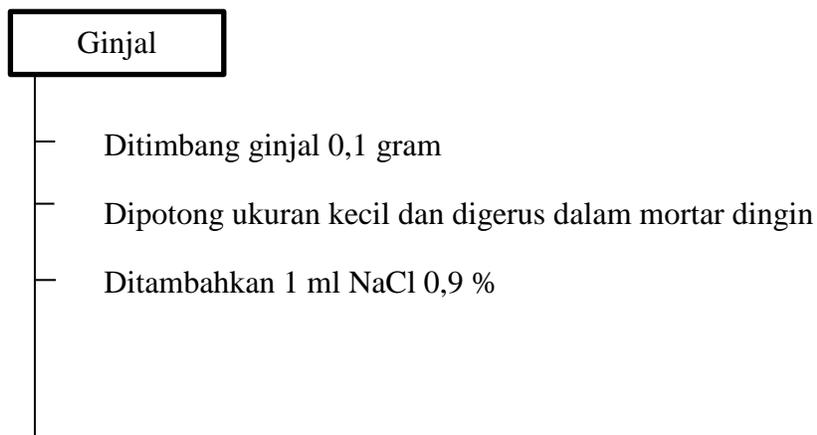
### Hasil

**Lampiran 8** Prosedur pengukuran Kadar Melondialdehida

## 1. Pengukuran panjang gelombang Maksimum MDA



## 2. Pembuatan Homogenat



- Disentrifugasi 800 rpm selama 2 menit
- Diambil supernatant

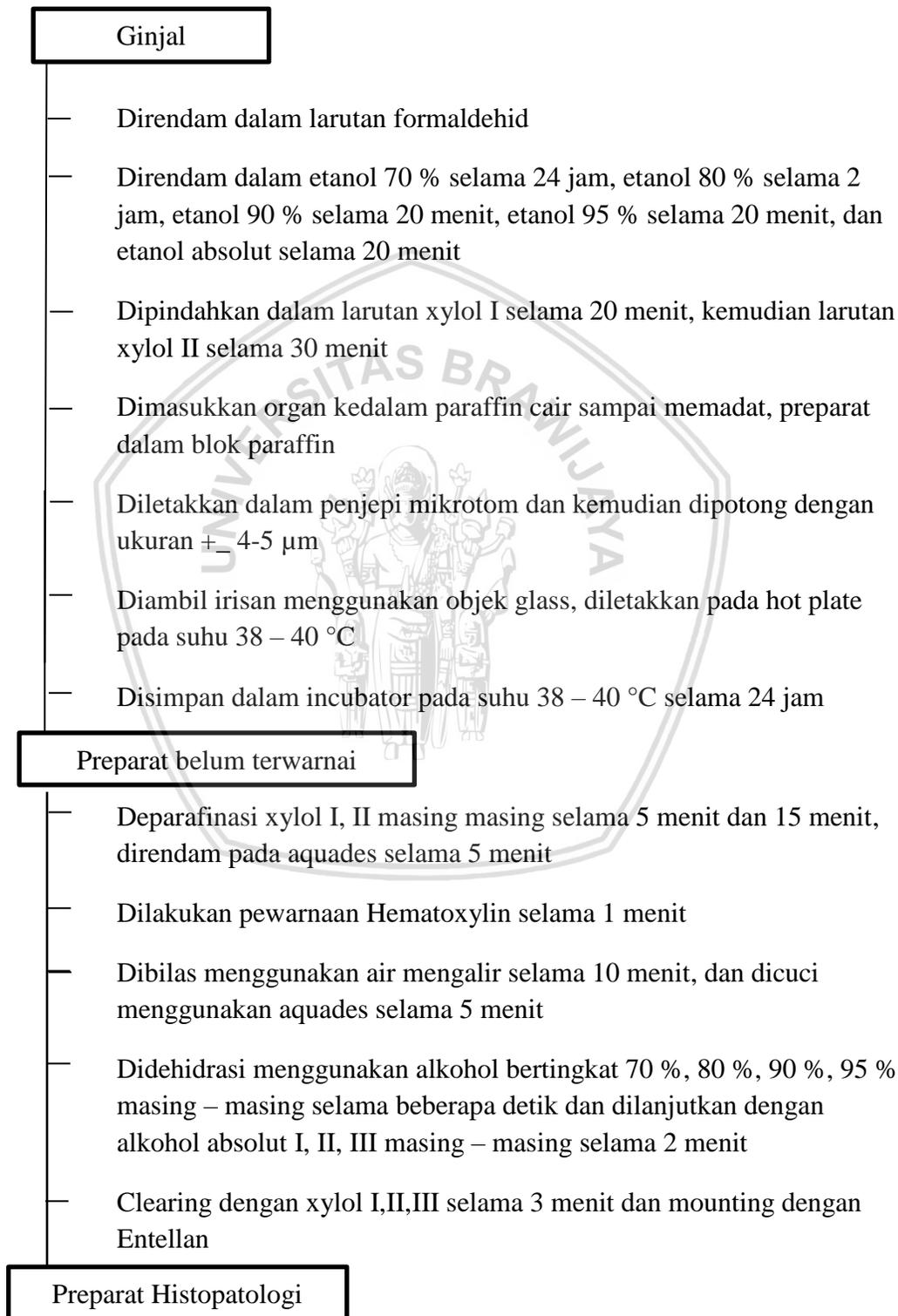
Supernatan

### 3. Pengukuran Kadar MDA Homogenat

Supernatan

- Diambil 100  $\mu$ l sampel supernatant
- Ditambahkan 550  $\mu$ l aquadest dan 1 ml NaCl 0,9 %
- Ditambahkan 100  $\mu$ l TCA dan dihomogenkan
- Ditambahkan 250  $\mu$ l HCL 1 M
- Ditambahkan 100  $\mu$ l Na - Thio 1 % kemudian dihomogenkan menggunakan vortex
- Dipanaskan dalam water bath pada suhu 100 ° C selama 20 menit
- Diangkat dan didinginkan pada suhu ruang
- Diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada  $\alpha$  maksimum
- Diperoleh nilai absorbansi sampel

Hasil

**Lampiran 9.** Pembuatan preparat histologi ginjal

**Lampiran 10.** Perhitungan Statistik Kadar MDA

a. Analisa Deskriptif

**Descriptives**

KadarMDA

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol -	4	,2078	,01756	,00878	,1798	,2357	,19	,22
Kontrol +	4	,5233	,04836	,02418	,4463	,6002	,47	,57
P1	4	,1985	,06898	,03449	,0887	,3083	,14	,29
P2	4	,2233	,03193	,01597	,1724	,2741	,20	,27
P3	4	,2115	,03367	,01683	,1579	,2651	,17	,24
Total	20	,2729	,13444	,03006	,2099	,3358	,14	,57

b. Uji Normalitas

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Residual for KadarMDA
N		20
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	,0000
	Std. Deviation	,03885
	Most Extreme Differences	
	Absolute	,137
	Positive	,137
	Negative	-,060
Test Statistic		,137
Asymp. Sig. (2-tailed)		,200 <sup>c,d</sup>

Interpretasi

H0 = Distribusi data normal

H1 = Distribusi data tidak normal

Berdasarkan uji normalitas didapatkan signifikansi sebesar 0,2 yang artinya nilai ini lebih besar dari pada  $\alpha = 0,05$ , sehingga hipotesis yang diambil adalah  $H_0$  distribusi data normal dan dapat dilanjutkan uji Anova.

c. Uji Homogenitas

**Test of Homogeneity of Variances**

KadarMDA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,957	4	15	,153

Interpretasi :

$H_0$  = Varian data homogen

$H_1$  = Varian data tidak homogen

Berdasarkan hasil uji homogenitas didapat signifikansi sebesar 0,153 yang artinya lebih besar dari  $\alpha = 0,05$ , sehingga hipotesis yang diambil adalah  $H_0$  yang menyatakan varian data homogen.

d. One Way Anova

**ANOVA**

KadarMDA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,315	4	,079	41,167	,000
Within Groups	,029	15	,002		
Total	,343	19			

Interpretasi :

$H_0$  = Semua kelompok sama

$H_1$  = Salah satu atau lebih kelompok ada yang berbeda

Jika  $p < \alpha$ , maka  $H_1$  diterima

Jika  $p > \alpha$ , maka  $H_0$  diterima

Berdasarkan uji Anova di dapat P. value atau signifikansi sebesar 0,0 yang artinya nilai tersebut lebih kecil dari pada  $\alpha = 0,05$ , sehingga hipotesis yang diambil adalah H1 yang menyatakan terdapat salah satu atau lebih kelompok ada yang berbeda. Hasil ini menunjukkan bahwa dengan tingkat kesalahan 5 % sudah cukup membuktikan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun sukun sebagai terapi terhadap kadar MDA ginjal mencit model glomerulonefritis hasil induksi streptokinase. Untuk mengetahui kelompok yang berbeda maka data diuji dengan uji BNJ atau uji Tukey.

e. Uji Post Hoc

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: KadarMDA

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol -	Kontrol +	-,31550*	,03092	,000	-,4110	-,2200
	P1	,00925	,03092	,998	-,0862	,1047
	P2	-,01550	,03092	,986	-,1110	,0800
	P3	-,00375	,03092	1,000	-,0992	,0917
Kontrol +	Kontrol -	,31550*	,03092	,000	,2200	,4110
	P1	,32475*	,03092	,000	,2293	,4202
	P2	,30000*	,03092	,000	,2045	,3955
	P3	,31175*	,03092	,000	,2163	,4072
P1	Kontrol -	-,00925	,03092	,998	-,1047	,0862
	Kontrol +	-,32475*	,03092	,000	-,4202	-,2293
	P2	-,02475	,03092	,926	-,1202	,0707
	P3	-,01300	,03092	,993	-,1085	,0825
P2	Kontrol -	,01550	,03092	,986	-,0800	,1110
	Kontrol +	-,30000*	,03092	,000	-,3955	-,2045
	P1	,02475	,03092	,926	-,0707	,1202
	P3	,01175	,03092	,995	-,0837	,1072

P3	Kontrol -	,00375	,03092	1,000	-,0917	,0992
	Kontrol +	-,31175*	,03092	,000	-,4072	-,2163
	P1	,01300	,03092	,993	-,0825	,1085
	P2	-,01175	,03092	,995	-,1072	,0837

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

f. Uji Tukey

**KadarMDA**

Tukey HSD<sup>a</sup>

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Perlakuan 1	4	,1985	
Kontrol -	4	,2078	
Perlakuan 3	4	,2115	
Perlakuan 2	4	,2233	
Kontrol +	4		,5233
Sig.		,926	1,000



## LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**Efek Pemberian Terapi Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus Altilis*)  
Pada Mencit (*Mus musculus*) Model *Glomerulonefritis* Akut  
Hasil Induksi Streptokinase Terhadap Kadar (MDA)  
Malanodialdehid Ginjal Dan Gambaran  
Histopatologi Ginjal**

Oleh :

**YATIK TRIHEPSATITI**

**135130107111026**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji  
pada tanggal 9 Januari 2018  
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh  
gelar Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

**Prof. Dr. Pratiwi Trisunuwati, drh., MS.**

NIP. 19480615 197702 2 001

**drh. Nurina Titisari, M, Sc**

NIP. 19860122 201504 2 001

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Brawijaya

**Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES**

NIP. 19600903 198802 2 001

**LEMBAR PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yatik Trihepsatiti

NIM : 135130107111026

Program Studi : Kedokteran Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

**Efek Pemberian Terapi Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus Altilis*) Pada Mencit (*Mus Musculus*) Model *Glomerulonefritis* Akut Hasil Induksi Streptokinase Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) ginjal Dan Gambaran Histopatologi Ginjal**

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termasuk di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya bersedia menanggung segala risiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 9 Januari 2018  
Yang menyatakan,

(Yatik Trihepsatiti)  
NIM. 135130107111026



## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Glomerulonephritis akut (GNA) disebut juga glomerulonephritis poststreptokokus akut merupakan penyakit kompleks imun ditandai dengan inflamasi dan proliferasi sel glomerulus pada ginjal yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus beta hemolyticus* grup A tipe nefritogenik (Nelson, dkk, 2000 ; Pardede, 2009). Salah satu alasan glomerulonefritis menjadi penting untuk ditangani yaitu glomerulonefritis merupakan suatu proses penting yang dapat menyebabkan gagal ginjal kronik yang angka kejadiannya meningkat setiap tahun (Madaio dan Harrington, 2001). Pada tahun 2006 mencapai 0,8 % dan meningkat pada tahun 2010 menjadi 1,6 % (Francey and Ariane, 2008). Dari hasil survey kejadian 7GNA pada anjing dan kucing telah dilakukan oleh seorang peneliti, pada kucing yang menderita GNA rata – rata umur 3- 4 tahun, 75 % yaitu kucing berjenis kelamin jantan dan pada anjing umur rata – rata penderita GNA yaitu 4- 8 tahun dengan 55 % penderita pada anjing jantan (Brown, 2013).

Penyebab umum (80%) glomerulonefritis adalah infeksi *Streptococcus β hemolyticus* (Rahmadi, 2010). Sesuai dengan pendapat Pardede (2009) bahwa *streptococcus β hemolyticus* grup A dan kadang–kadang grup C atau G merupakan galur yang dapat menyebabkan glomerulonefritis akut yang disebut *streptococcus nefritogenik*. Gejala klinis yang menyertai kejadian GNA yaitu hematuria dan proteinuria karena menurunnya kemampuan glomerulus dalam menyaring darah, jika

lebih dari 6 bulan masih terdapat proteinuria maka kemungkinan terjadi glomerulonefritis kronis (Robertson dan Seguin, 2006).

Glomerulonefritis menyebabkan inflamasi dan proliferasi sel glomerulus. Peradangan tersebut utamanya disebabkan karena adanya mekanisme imunologis yang menimbulkan kelainan patologis pada glomerulus (Maniur, 2003). Kelainan patologis tersebut dapat diamati pada gambaran histopatologi glomerulus. Adanya mediator inflamasi seperti histamin, sitokin, leukotrin terakumulasi dan menyebabkan peningkatan *Reaktif Oksigen Species* (ROS) melebihi batas dan memicu peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid menghasilkan radikal bebas yang berinteraksi dengan PUFA *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA) dengan hasil akhir berupa malondialdehid (MDA).

Glomerulonefritis merupakan suatu kondisi yang berpotensi serius sehingga membutuhkan tes diagnostik dan perawatan yang luas, prognosis dengan diagnosis dini dan terapi yang tepat dapat memperpanjang kelangsungan hidup anjing lebih baik (Brown, 2013). Kondisi glomerulonefritis lebih lanjut dapat menyebabkan gagal ginjal dan hanya dapat di terapi dengan cuci darah (*hemodialisis*), *Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis*, *Automated Peritoneal Dialysis* atau transplatasi ginjal (Pernefri, 2011). Berdasarkan paparan diatas, jika glomerulonefritis dibiarkan tanpa terapi yang tepat maka dapat menyebabkan gagal ginjal dan terapi untuk gagal ginjal terbilang mahal, dan lebih rumit. Oleh karena itu perlu adanya inovasi untuk terapi GNA menggunakan obat–obat tradisional yang lebih murah, dan aman, toksisitas rendah.

Menurut Pattanayak., *et al* (2010) bahwa efek antiinflamasi seperti dari flavonoid, tannin, eugenol dapat menghambat kerusakan sel dengan cara menghambat akumulasi leukosit disitus inflamasi dan menurunkan aktivasi komplemen serta menghambat degranulasi neutrofil sedangkan antioksidan berperan dalam melindungi sel dari peroksidasi lipid sehingga menghambat pelepasan mediator inflamasi. Dalam hal ini, flavonoid juga terdapat dalam daun sukun yang dapat digunakan sebagai antiinflamasi dan antioksidan sebagai terapi glomerulonefritis akut pada mencit.

Hal ini menjadi penting terkait kandungan daun sukun sesuai dengan penelitian terhadap daun sukun menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid, tannin, saponin, steroida, dan glikosida (Abdassah dkk., 2009).

Berdasarkan fakta tersebut penulis mengambil penelitian dengan judul efek terapi ekstrak daun sukun pada hewan model glomerulonefritis akut terhadap kadar MDA ginjal dan histopatologi ginjal.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka dapat dirumuskan beberapa masalah sebagai berikut :

- 1) Apakah pemberian terapi ekstrak daun sukun dapat sebagai terapi pada mencit (*Mus musculus*) model glomerulonefritis akut induksi streptokinase terhadap kadar MDA (Malanodialdehid) ginjal?
- 2) Apakah pemberian terapi ekstrak daun sukun dapat sebagai terapi pada mencit (*Mus musculus*) model glomerulonefritis akut induksi streptokinase terhadap gambaran histopatologi ginjal mencit?

### 1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian ini dibatasi pada :

- 1) Hewan model yang akan digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) jantan umur 2–3 bulan dan berat badan 30 gram.
- 2) Pembuatan keadaan hewan model mencit glomerulonefritis akut dilakukan dengan cara induksi streptokinase sebanyak 2500 IU per ekor pada 16 ekor mencit.
- 3) Ekstrak daun sukun yang digunakan di dapatkan di daerah sekitar Kediri dan dilakukan pembuatan ekstrak daun sukun dan uji Fitokimia di UPT Materia Medika Batu Malang.
- 4) Dosis untuk terapi GNA menggunakan ekstrak daun sukun sebanyak 16,8 mg/ ekor (P1), 25,2 mg/ekor (P2), dan 33,6 mg/ekor (P3) selama 14 hari.
- 5) Variable yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar MDA yang diukur dengan menggunakan spektrofotometri dan gambaran histopatologi ginjal menggunakan pewarnaan HE.

#### 1.4 Tujuan Penelitian

- 1) Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sukun terhadap kadar MDA pada mencit (*Mus musculus*) model glomerulonefritis akut hasil induksi streptokinase
- 2) Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sukun terhadap gambaran histopatologi glomerulus pada mencit (*Mus musculus*) model glomerulonefritis akut hasil induksi streptokinase

#### 1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dalam penelitian ini adalah antara lain :

1. Manfaat Khusus
  - a. Menambah wawasan dan keterampilan dalam proses penelitian dan *lab skill*
  - b. Memberikan bahan pertimbangan untuk penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan ekstrak daun sukun sebagai antioksidan dan antiinflamasi untuk terapi glomerulonefritis akut
2. Manfaat Umum
  - a. Memberikan informasi tentang potensi ekstrak daun sukun sebagai antioksidan dan antiinflamasi untuk terapi glomerulonefritis akut
  - b. Sebagai bahan kajian pustaka untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sukun terhadap kadar MDA dan histopatologi ginjal pada mencit (*Mus Musculus*) model glomerulonefritis akut hasil induksi streptokinase.

## BAB II

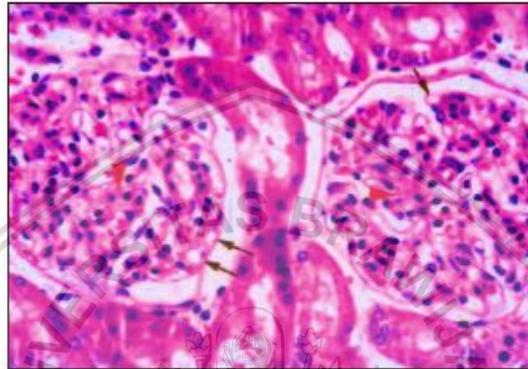
### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Ginjal

Ginjal merupakan salah satu organ dalam sistem uriner. Sistem uriner adalah sistem organ utama yang berperan dalam homeostatis air dan elektrolit, serta berperan dalam ekskresi sisa hasil metabolisme tubuh. Ginjal pada mamalia berjumlah sepasang, yang terletak dalam rongga abdomen retroperitoneal primer kiri dan kanan kolumna vertebralis. Ukuran ginjal kiri lebih panjang dari pada ukuran ginjal kanan (Maharani, 2012).

Ginjal secara mikroskopis dibagi menjadi 2 bagian yaitu korteks dan medulla. Di dalam bagian tersebut terdapat tubulus uriniferus yang terdiri atas nefron dan *ductus collectivus*. Nefron tersusun atas glomerulus, kapsula bowman, tubulus kontortus proksimal, Ansa Henle, dan tubulus kontortus distal. Kapsula Bowman merupakan ruang sempit berbentuk piala antar lapisan viseralis dan lapisan parietalis yang akan dilewati ultrafiltrat. Kapsula bowman membungkus glomerulus. Glomerulus merupakan anastomosis kapiler–kapiler fenestrated yang berasal dari arteri renalis, dimana sel endotel kapiler tersebut membentuk taut yang erat dan dikelilingi oleh membrane basalis hingga membentuk suatu kumpulan yang dapat diidentifikasi dibawah mikroskop. Setelah melalui glomerulus dilanjutkan ke tubulus kontortus proksimal. Tubulus kontortus proksimal memiliki epitel selapis kubus dengan *brushborder* yang jelas. Bila dilihat dibawah mikroskop lumen tubulus

kontortus proksimal terlihat penuh dan kotor. Tubulus kontortus distal tersusun atas epitel selapis kubus yang tidak memiliki *brushborder* sehingga pada gambaran mikroskop akan tampak lumen duktus bersih (Baqarizqi dan Fiizdha, 2015). Gambaran histologi glomerulus dapat dilihat pada **gambar 2.1**.



**Gambar 2.1** Glomerulus normal anjing ( pewarnaan HE, perbesaran 400x ).  
(Granth *and* Forrester, 2001).

Kapiler–kapiler dengan lapisan tipis merupakan sel *endothelial* dan glomerulus (panah hitam), sedangkan *mesangial* sel yang dikelilingi matrix yang ditandai dengan panah merah (Granth *and* Forrester, 2001). Pada panah hitam tampak ruang antara kapsula bowman terlihat masih lebar dan tidak ada infiltrasi sel radang pada glomerulus.

### 2.1.1 Fisiologi Ginjal

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

dan vitamin D, serta menghasilkan beberapa hormon seperti eritopoetin yang berfungsi dalam pembentukan sel darah merah dan renin yang berfungsi untuk mengatur tekanan darah (Maharani, 2012).

Ginjal melakukan fungsinya yang paling penting dengan menyaring plasma dan memindahkan zat dari filtrat dengan kecepatan yang bervariasi bergantung pada kebutuhan tubuh. Proses pembentukan urin dimulai dengan filtrasi sejumlah besar cairan yang hampir bebas protein dari kapiler glomerulus ke kapsula bowman. Kebanyakan zat dalam plasma, kecuali protein, difiltrasi secara bebas sehingga konsentrasinya pada filtrat glomerulus dalam kapsula Bowman hampir sama dengan plasma. Ketika cairan yang telah difiltrasi ini meninggalkan kapsula Bowman dan mengalir melewati tubulus, cairan ini mengalami perubahan akibat adanya reabsorpsi air dan zat terlarut spesifik kembali ke dalam tubulus. Urin adalah jalur utama ekskresi sebagian besar toksikan. Akibatnya, ginjal mempunyai volume aliran darah yang tinggi, mengkonsentrasi toksikan pada filtrat, membawa toksikan melalui tubulus dan mengaktifkan toksikan tertentu. Karenanya, ginjal adalah organ sasaran utama dari efek toksik (Juhryyah, 2008).

Ginjal dalam melaksanakan fungsi ekskresi ini mendapat tugas berat, karena hampir 25% dari seluruh aliran darah mengalir ke dua buah ginjal. Besarnya aliran darah yang menuju ginjal ini menyebabkan keterpaparan ginjal terhadap bahan yang beredar dalam sistem sirkulasi cukup tinggi, sehingga bahan yang bersifat toksik akan mudah menyebabkan kerusakan jaringan ginjal dalam bentuk perubahan struktur dan fungsi ginjal. Toksikan yang masuk ke dalam ginjal dapat menyebabkan berbagai

macam kelainan pada struktur maupun fungsi nefron. Kerusakan pada nefron dapat terjadi pada tubulus, korpuskulus renalis, maupun kapiler-kapiler darah dalam ginjal. Gangguan pada korpuskulus dapat merusak glomerulus dan kapsula Bowman, sehingga akan mengganggu kelancaran aliran darah dalam kapiler-kapiler glomerulus (Adleend, 2012).

## 2.2 Glomerulonefritis Akut

### 2.2.1 Etiologi Glomerulonefritis Akut

Glomerulonefritis adalah salah satu penyakit infeksi pada traktus urinarius yang dibagi menjadi glomerulonefritis akut (GNA) dan glomerulonefritis kronik (Albar *and* Rauf, 2005). Terjadinya glomerulonefritis akut ditandai oleh adanya reaksi inflamasi glomerulus atau biasa disebut glomerulonefritis. Glomerulonefritis ini dapat dipicu oleh beberapa faktor salah satunya adalah toksin yang dihasilkan oleh bakteri atau virus tertentu (Lumban dan Maniur, 2003).

Sebagian besar kasus glomerulonefritis yang terjadi pada hewan adalah glomerulonefritis akut pasca streptokokal, glomerulonefritis tipe ini disebabkan adanya infeksi dari bakteri *streptokokus*. Penyebab dari penyakit GNA salah satunya adalah bakteri *Streptococcus*. *Streptococcus* group A juga disebut *Streptococcus piogenes* dan termasuk kelompok *Streptococcus  $\beta$  hemolyticus* yang dapat menyebabkan GNA dan demam reumatik. *Streptococcus  $\beta$  hemolyticus* grup A merupakan bentuk yang paling virulent (Pardede, 2009). Bakteri ini mengeluarkan eksoprotein ekstraseluler aktif yang bekerja sebagai toksin sistemik dan sebagai enzim invasif lokal yaitu streptokianse yang berperan dalam patogenesis GNA dan

diduga memiliki sifat toksik terhadap ginjal (Pardede, 2009). Gejala klinis yang menyertai kejadian GNA yaitu hematuria, dan proteinuria karena menurunnya kemampuan glomerulus dalam menyaring darah, jika lebih dari 6 bulan masih terdapat proteinuria maka kemungkinan terjadi glomerulonefritis kronik (Robertson dan Sugin, 2006).

### 2.2.2 Patogenesis

Streptokokus grup A dapat memproduksi streptokinase imunogenik yaitu yang dapat mengubah plasminogen menjadi plasmin. Selain itu, streptokinase mampu mengubah C3 menjadi C3a yang merupakan suatu faktor kemotaktik (C5a) (Bahaudin dkk., 2010). Plasmin mengaktivasi reaksi kaskade komplemen 3 (C3) pada glomerulus sehingga memicu aktivasi monosit dan neutrofil. Monosit yang masuk ke jaringan ginjal berkembang menjadi makrofag. Pengerahan neutrofil, aktivasi komplemen, dan produksi sitokin akan terjadi di glomerulus (Smith *et al.*, 2007). Setelah itu, inflamasi terjadi di glomerulus dan diikuti kerusakan sel epitel tubulus yang ditandai dengan terbentuknya sel inflamasi (Chatziantoniou, 2005; Susanto dkk., 2014).

### 2.2.3 Diagnosa

Diagnosa secara definitif dilakukan dengan cara biopsi ginjal. Tes urin juga dilakukan sebagai dugaan dalam mendiagnosa adanya penyakit glomerular. Tes urin dilakukan sebagai metode dalam mendiagnosa adanya penyakit ginjal. Gejala klinis glomerulonefritis akut yaitu mengalami oligouria bahkan pada kasus yang berat dapat ditandai dengan anuria. Tanda glomerulonefritis yang khas adalah proteinuria.

Semakin meningkatnya kerusakan kapiler glomerulus menyebabkan protein dan eritrosit dapat keluar ke dalam urin sehingga terjadi proteinuria dan hematuria (Rahmadi, 2010). Tes urinalisis dan pemeriksaan darah digunakan untuk mengetahui rasio kreatinin dan ureum, apabila kreatinin dan ureum menurun sedangkan jumlah BUN dan kreatinin serum meningkat maka diduga menderita glomerulonefritis akut (Mayer dkk., 2011).

#### 2.2.4 Pengobatan

Pengobatan atau manajemen medis yang diberikan pada penderita GNA yaitu terapi immunosupresan (*azathioprine, chlorambucil, atau cyclosporine*) untuk menekan pembentukan kompleks imun. Antitrombotik (aspirin) pada anjing dapat mencegah pembekuan darah di glomerulus (Brown, 2013). Antiinflamasi (aspirin), obat diuretik. Penggunaan kortikosteroid tidak diberikan pada anjing karena dapat menyebabkan proteinuria semakin parah dan meningkatkan azotemia (Ward, 2010). Hilangnya protein ke dalam urin dapat diatasi dengan pemberian *Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Inhibitor (benazepril, enalapril)* (Brown, 2013).

#### 2.3 Hewan Coba Mencit (*Mus musculus*)

Klasifikasi mencit menurut Muliani (2011) yaitu :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae

Genus : Mus  
Spesies : *Mus musculus*

Mencit (*Mus musculus*) merupakan hewan rodensia yang umum digunakan sebagai hewan percobaan pada penelitian. Keunggulan mencit sebagai hewan coba yaitu jumlah anak perkelahirannya banyak (6-10 ekor) dengan masa bunting yang pendek (9-21 hari) sehingga satu mencit betina dapat beranak 5-10 kali pertahun, variasi sifat yang tinggi, mudah dalam penanganan dan harga relatif murah (Malole dan Pramono, 2000). Berat mencit jantan dewasa mencapai 20-40 gram sedangkan mencit betina dewasa 18-35 gram. Berat lahir mencit 0,5–1 gram, dengan berat sapih 8-20 gram, kecepatan tumbuh 1 gram per hari. Rata-rata konsumsi pakan mencit dewasa yaitu 3-5 gram sehari dan konsumsi air minum sebanyak 4–8 ml sehari bias diberikan secara adlibitum (Muliani, 2011).

## 2.4 Daun Sukun

### 2.4.1 Klasifikasi Daun Sukun

Klasifikasi Sukun berdasarkan ilmu taksonomi klasifikasi tanaman sukun adalah (Dalimartha, 2003) :

Divisi : Spermatophyta  
Sub divisi : Angiospermae  
Bangsa : Urticales  
Suku : Moraceae  
Marga : Artocarpus  
Jenis : *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg

### 2.4.2 Morfologi Daun Sukun

Sukun merupakan tanaman yang berupa pohon tegak, berkayu, berakar tunggal, batangnya berbentuk bulat, dan memiliki percabangan simpodial. Tanaman sukun berdaun tunggal yang tersebar, tepi daun bertoreh, ujung daun meruncing, pangkal daunnya membulat, memiliki pertulangan daun menjari dengan permukaan licin, dan tulang daun menonjol. Buahnya berbentuk lonjong dengan permukaan bergigi tumpul yang tersusun teratur dan berwarna hijau. Buah ini dapat mengeluarkan getah. Bijinya berwarna cokelat dan berbentuk lonjong dan pipih (Andriani, 2013). Gambar daun sukun dapat dilihat pada **gambar 2.2** dibawah ini.



**Gambar 2.2** Tanaman Sukun (*Artocarpus altilis*) (Riliani, 2015).

### 2.4.3 Budi Daya Tanaman Sukun

Sukun merupakan spesies anggota suku *Moraceae*. Tanaman sukun banyak tumbuh di daerah tropis. Sukun dapat tumbuh pada berbagai tipe tanah alluvial maupun daerah pantai tetapi paling cocok ditanam pada tanah liat yang berpasir dan banyak mendapatkan hujan dengan ketinggian 600-650 m di atas permukaan air laut. Tanaman ini mampu bertahan hidup di tanah yang gersang atau pada musim kering.

Sukun dibudidayakan secara vegetatif dengan cara memotong bagian akar atau tunasnya (Andriani, 2013). Tumbuhan sukun tergolong dalam jenis tanaman tropic sejati karena dapat tumbuh baik pada dataran rendah dan dataran tinggi. Pada kondisi lingkungan panas tanaman sukun bisa tumbuh dengan subur dengan tersedianya air tanah yang mencukupi meskipun di pulau karang dan pantai. Indonesia merupakan negara yang hampir secara merata seluruh daerah terdapat tumbuhan sukun, khususnya di Jawa Tengah dan Jawa Timur (Kartika dan Adinugraha, 2003).

#### **2.4.5 Kandungan Kimia Daun Sukun**

Kandungan kimia pada daun sukun berupa saponin, tanin, flavanoid, polifenol, asam hidrosianat, asetilkolin, riboflavin (Bakarbesy *et al.*, 2016). Aplikasi daun sukun sebagai obat herbal digunakan sebagai obat antiinflamasi dan anti kanker (Marline, *dkk.*, 2009). Daun sukun mengandung senyawa turunan flavonoid seperti kuersetin, champorol, dan artoindonianin (Umar, *dkk.*, 2007 dan Syah, *dkk.*, 2006). Berdasarkan penelitian fitokimia, ekstrak daun sukun memiliki kandungan flavonoid dengan 3 senyawa aktif aurone yaitu altilisin (H), altilisin (I), dan altilisin (J) yang dapat menghambat aktivitas enzim tirosinase. Flavonoid merupakan sumber warna alami pada tanaman yang dapat berfungsi sebagai antioksidan, antibakteri, antiinflamasi maupun sebagai soothing agent. Flavonoid dibagi menjadi 6 grup utama yaitu flavanols, flavones, flavonols, flavanones, isoflavones, dan anthocyanidins (Riliani, 2015).

Flavonoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang banyak dijumpai pada tumbuhan baik tumbuhan kelas tinggi, rendah, juga alga. Flavonoid

larut dalam air, methanol, etanol, butanol, aseton, dimestilsufoksida, dan dimetilformamid. Bila diamati berdasarkan struktur senyawanya, flavonoid termasuk senyawa turunan dari fenolik dimana sering dijumpai gugus hidroksil (-OH) pada cincin aromatik pembentuk struktur senyawa flavonoid ini. Senyawa flavonoid seringkali dijumpai dan diisolasi dari bagian tumbuhan seperti daun, bunga, kulit batang, akar, dan buah (Lubis, 2013).

Suatu penelitian telah dilakukan untuk menguji aktivitas antioksidan daun sukun. Uji flavonoid dilakukan terhadap daun sukun muda, tua dan gugur. Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak daun sukun tua mengandung kadar flavonoid yang lebih tinggi (100,68 mg/g) dibanding ekstrak daun sukun muda (87,03 mg/g) dan gugur (42,89 mg/g). Aktivitas antioksidan daun sukun yang paling tinggi didapat dari ekstrak metanol (97%). Aktivitas antioksidan berkaitan erat dengan kadar flavonoid. Senyawa antioksidan dalam ekstrak daun sukun termasuk antioksidan primer, dan jika dibandingkan dengan vitamin C, ekstrak metanol daun sukun masih lebih tinggi (Riliani, 2015).

Mekanisme antiinflamasi yang dilakukan oleh flavonoid dapat melalui beberapa jalur yaitu (Nijveldt, *and*, 2001).

a. Penghambatan aktifitas enzim COX dan lipoksigenase

Flavonoid dilaporkan dapat menghambat aktifitas COX dan lipoksigenase. Penghambatan jalur COX dan lipoksigenase ini secara langsung juga mengakibatkan terjadinya penghambatan biosintesis eicosanoid dan leukotriene yang merupakan produk akhir dari jalur COX dan lipoksigenase.

#### b. Penghambatan Akumulasi Leukosit

Flavonoid dapat menghambat akumulasi leukosit di daerah inflamasi. Pada kondisi normal leukosit bergerak bebas disepanjang dinding endotel. Namun selama inflamasi berbagai mediator turunan endotel dan faktor komplemen dapat menyebabkan adhesi leukosit ke dinding endotel sehingga menyebabkan leukosit menjadi immobile dan menstimulasi degradasi neutrofil. Flavonoid dapat mengurangi leukosit yang imobil dan mengurangi aktivitas komplemen sehingga menurunkan adhesi leukosit ke endotel dan menurunkan respon inflamasi tubuh.

#### c. Penghambatan Degranulasi Neutrofil

Flavonoid diduga dapat menghambat degranulasi neutrofil, dengan demikian secara langsung flavonoid dapat mengurangi pelepasan asam arakhidonat oleh neutrofil.

#### d. Penghambatan Pelepasan Histamin

Efek antiinflamasi dari flavonoid didukung oleh aksinya sebagai antihistamin. Histamin merupakan salah satu mediator inflamasi yang pelepasannya distimulasi oleh pemompaan kalsium ke dalam sel. Flavonoid juga dapat menghambat pelepasan histamin dari sel mast, walaupun mekanismenya belum diketahui secara pasti, namun diduga flavonoid dapat menghambat enzim cAMP dalam sel mas meningkat, hal tersebut dapat mengakibatkan pelepasan kalsium untuk masuk kedalam sel, hal ini berarti juga mencegah pelepasan histamin.

e. Penstabil ROS

Efek flavonoid sebagai antioksidan juga mendukung efek antiinflamasi dari flavonoid. Adanya radikal bebas akan menarik berbagai mediator inflamasi. Flavonoid dapat menstabilkan ROS (*Reactive Oxygen Species*) dengan cara bereaksi dengan senyawa reaktif dari radikal sehingga radikal menjadi inaktif.

## 2.5 Streptokinase

Streptokinase adalah protein yang terbuat dari filtrat kultur *streptococcus beta hemolyticus*. Protein ini terlibat dalam penyebaran kuman dalam jaringan karena memiliki kemampuan memecah plasminogen menjadi plasmin (Moore *et al.*, 2007). Protein M yang terdapat pada *streptococcus* sebagai tipe nefritogenik yang dapat menyebabkan kerusakan pada glomerulus (Hu *et al.*, 2008). Sediaan Streptokinase yang berasal dari *streptococcus β hemolyticus* adalah vial 1.500.000 IU (Bahaudin dkk., 2010).

Streptokinase merusak jaringan ginjal melalui 2 mekanisme. Pertama, streptokinase yang diinjeksikan pada hewan model akan membentuk kompleks antigen–antibodi di dalam darah dan bersirkulasi di dalam glomerulus. Kompleks tersebut kemudian terperangkap dalam membrane basalis dan mengaktivasi sistem komplemen. Kedua, streptokinase membentuk kompleks dengan plasminogen (proenzim inaktif). Kompleks streptokinase–plasminogen tersebut mengubah plasminogen bebas menjadi plasmin (enzim aktif) dengan memutus rantai peptida. Selanjutnya plasmin mengaktivasi system komplemen sebagai mediator inflamasi yang penting (Kumar dkk., 2013). Hal tersebut sesuai dengan pendapat Djamali

(2007), plasmin mengaktifasi bradikinin yang berperan sebagai mediator terjadinya inflamasi. Bradikinin akan berikatan dengan  $\beta 1$  integrin yang berada di dalam makrofag kemudian mengaktifasi makrofag untuk menghasilkan radikal bebas.

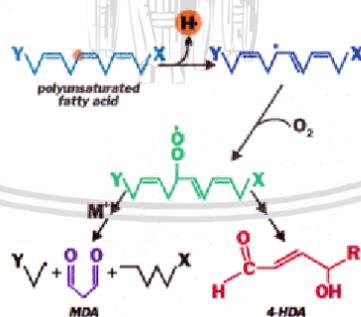
Plasmin memecah C3 menjadi C3a dan produk akhir dari aktivasi komplemen adalah C5a yang mengaktifasi leukosit dan meningkatkan afinitas integrin sehingga adhesi dengan endotel meningkat. C5a merupakan agen kemotaktik kuat terhadap monosit, neutrofil, eosinofil, dan basophil. Hal ini menyebabkan peningkatan migrasi monosit kedalam jaringan dan berkembang menjadi makrofag (Kumar dkk., 2013; Baratawidjaja dan Rengganis, 2010; *Smith et al.*, 2003).

## 2.6 Malondialdehid (MDA)

Radikal bebas didefinisikan sebagai atom atau molekul yang mempunyai elektron tak berpasangan di orbital terluarnya. ROS adalah bagian dari radikal bebas yang merupakan produk dari metabolisme sel normal. Radikal bebas merupakan salah satu produk reaksi kimia dalam tubuh berupa atom atau gugus yang mempunyai elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya, sehingga senyawa ini bersifat sangat reaktif (tidak stabil). 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). Dengan demikian, MDA dapat digunakan sebagai indeks pengukuran aktivitas radikal bebas dalam tubuh. Tingginya kadar MDA di dalam tubuh dapat disebabkan oleh meningkatnya aktivitas radikal bebas (Agnes dkk., 2013).

Proses peroksidasi lipid ini menghasilkan beberapa produk akhir diantaranya adalah senyawa malanodialdehid (MDA). Jumlah radikal bebas yang berlebih mengakibatkan peningkatan proses peroksidasi lipid sehingga produksi MDA juga meningkat (Agnes, dkk., 2013). Radikal bebas berfungsi di dalam tubuh sebagai fagositosis, transport elektron, dan transduksi sinyal (Naguchi *et al.*, 1999).

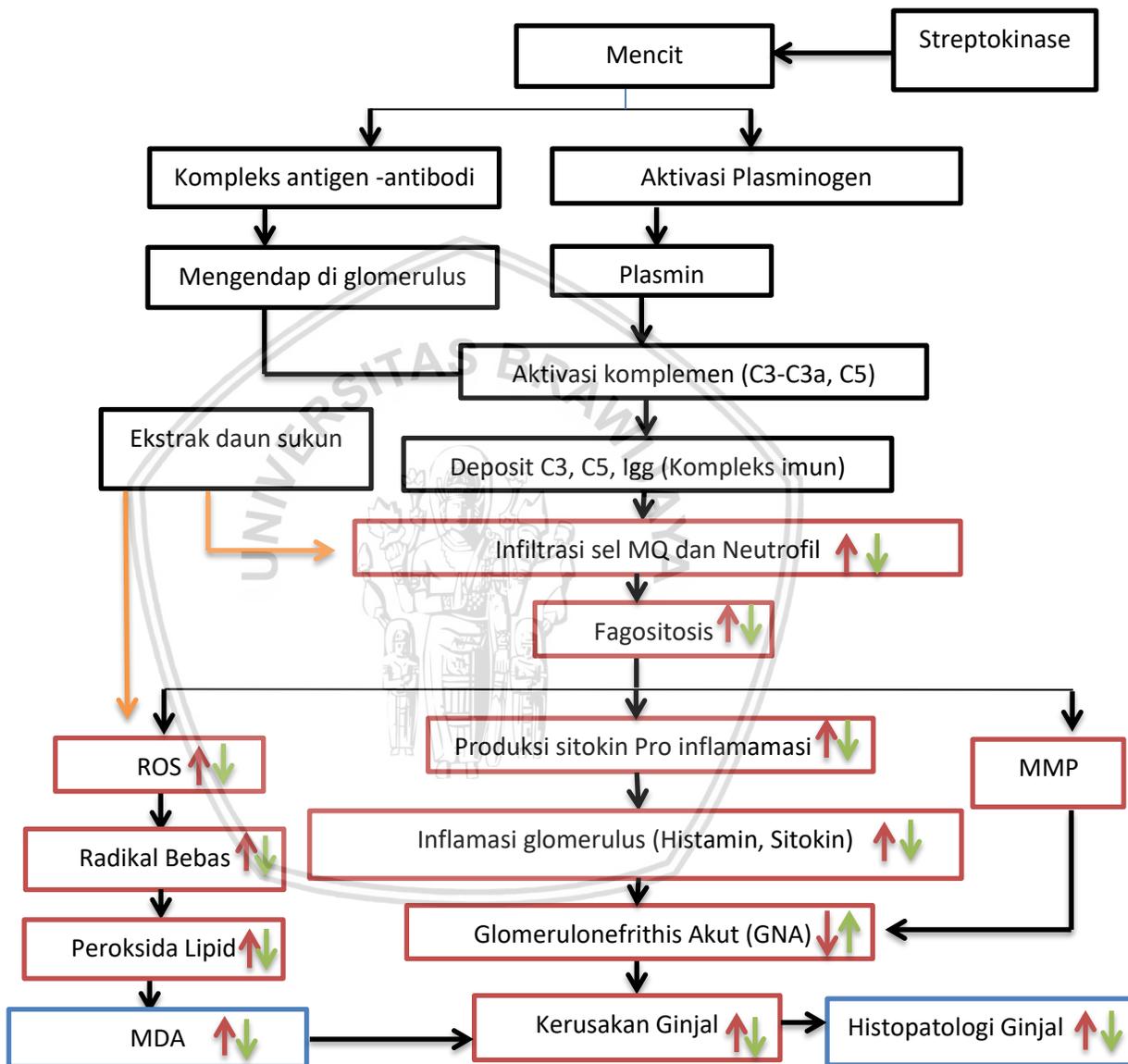
Mekanisme pembentukan MDA melalui peroksidasi lipid diawali dengan penghilangan atom hidrogen (H) dari molekul lipid tak jenuh rantai panjang oleh gugus radikal hidroksil (OH), sehingga lipid bersifat radikal. Kemudian radikal lipid ini bereaksi dengan atom oksigen (O<sub>2</sub>) membentuk radikal peroksil (OO), yang selanjutnya menghasilkan MDA (dengan ikatan tak jenuh lebih dari tiga) (Agnes dkk., 2013). Mekanisme pembentukan Malanodialdehid dapat dilihat pada gambar 2.3 .



**Gambar 2.3** Mekanisme pembentukan MDA (Agnes dkk., 2013).

**BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN**

**3.1 Kerangka Konsep**



**Keterangan :**

↕ : Efek induksi Streptokinase

↕ : Efek pemberian ekstrak daun sukun pasca terapi → :Efek terapi

□ : Variabel yang diamati

Streptokinase merupakan protein yang terbuat dari filtrat kultur *Streptococcus beta hemolyticus*. Protein M yang terdapat pada *Streptococcus* sebagai tipe nefritogenik yang dapat menyebabkan kerusakan pada glomerulus (Hu *et al.*, 2008). Streptokinase merusak jaringan ginjal melalui 2 mekanisme. Pertama, streptokinase yang diinjeksikan pada hewan model akan membentuk kompleks antigen–antibodi di dalam darah dan bersirkulasi di dalam glomerulus. Kompleks tersebut kemudian terperangkap dalam membran basalis dan mengaktivasi sistem komplemen. Kedua, streptokinase membentuk kompleks dengan plasminogen (proenzim inaktif). Kompleks streptokinase–plasminogen tersebut mengubah plasminogen bebas menjadi plasmin (enzim aktif) dengan memutus rantai peptida. Selanjutnya plasmin mengaktivasi sistem komplemen C3 dan mengubahnya menjadi C3a dengan produk akhir berupa C5. Selanjutnya terjadi deposit C3, C5, Igg dan membentuk kompleks imun. Kompleks imun menstimulasi kemotaksis dari sel inflamasi seperti sel PMN dan makrofag (Kumar dkk., 2013; Baratawidjaja dan Rengganis, 2010; Smith *et al.*, 2003). Adanya infiltrasi neutrofil yang diikuti dengan migrasinya eosinofil, basofil dan makrofag ke tempat aktivasi komplemen kemudian terjadi proses fagositosis. Aktivitas fagositosis tersebut menyebabkan terbentuknya radikal bebas, dan teraktifasinya MMP (*Matrix Metalloproteinase*) yang merupakan enzim yang dapat merusak dinding sel glomerulus sehingga menyebabkan kerusakan matrix extra seluler yang dapat mempengaruhi aliran darah dalam tubuh sehingga menyebabkan destruksi glomerulus yang dapat menyebabkan glomerulonefrithis akut. Kerusakan glomerulus tersebut dilihat dari gambaran histopatologi ginjal.

Mediator inflamasi seperti histamin, sitokin, leukotrin terakumulasi dan menyebabkan peningkatan ROS (*Reaktif Oksigen Species*) melebihi batas dan memicu peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid menghasilkan radikal bebas yang berinteraksi dengan PUFA (*Poly Unsaturated Fatty Acid*) dengan hasil akhir berupa malondialdehid (MDA).

Adanya ekstrak daun sukun yang mengandung flavonoid diharapkan mampu menghambat aktivasi enzim COX dan lipooksigenase dan juga dapat menekan terjadinya kompleks antigen-antibodi yang terjadi di glomerulus sehingga dapat menekan aktivasi komplemen dan sel-sel inflamasi lainnya sehingga aktivitas radikal bebas dan pelepasan-pelepasan sitokin.

### 3.2 Hipotesa Penelitian

1. Ekstrak daun sukun dapat sebagai terapi pada hewan mencit model glomerulonefritis akut induksi streptokinase berdasarkan penurunan kadar MDA di ginjal.
2. Ekstrak daun sukun dapat sebagai terapi pada hewan mencit model glomerulonefritis akut berdasarkan perbaikan kerusakan gambaran histopatologi ginjal yaitu penurunan infiltrasi sel radang, serta perbaikan pada tubulus yang ditunjukkan dengan penurunan nekrosis pada epitel tubulus, serta perbaikan ukuran kapsula bowman.

## BAB IV METODE PENELITIAN

### 4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilaksanakan pada bulan September 2017 sampai Oktober 2017. Penelitian ini meliputi beberapa tahapan yaitu pembuatan ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) yang dilaksanakan di UPT Materia Medika Batu Malang. Tahapan perawatan hewan coba dan perlakuan dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Kegiatan pembedahan, pembuatan preparat, pemeriksaan histoptologi, dan pengukuran MDA ginjal dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

### 4.2 Alat dan Bahan

#### 4.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam pemeliharaan hewan coba antara lain : kandang kotak plastik ukuran 21 x 30 x 9 cm yang dilengkapi dengan tempat pakan dan minum, lampu. Alat yang digunakan untuk preparasi streptokinase antara lain : *appendofe tube*, *yellow tip*, mikro pipet, *ice box*, spuit insulin 1 ml dan kapas. Alat preparasi dan pemberian ekstrak daun sukun antara lain : timbangan analitik, tabung apendof, sonde lambung, spuit 1 ml, dan lap steril. Alat untuk mengukur volume urin yaitu digunakan kandang metabolik, spuit 3 ml, pot organ untuk menampung urin. Alat yang digunakan untuk membuat preparat histopatologi antara lain wadah larutan, pinset, *blade*, objek glass, *cover glass*, penjepit, *incubator* dan kamera untuk

pengambilan gambar histopatologi. Alat yang digunakan untuk pengukuran MDA antara lain : tabung reaksi kecil, sentrifus, *water bath*, spektrofotometer, timbangan, dan *vortex*.

#### 4.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan untuk pemeliharaan hewan coba mencit jantan berumur 2- 3 bulan dengan berat badan 30 gram antara lain minum, pakan, dan serbuk kayu. Bahan ekstrak daun sukun dan etanol 96 %. Bahan preparasi streptokinase berupa laktat ringer dan alkohol 70 %. Bahan yang digunakan untuk pengukuran BUN dan kreatinin urin dan serum adalah urin dan serum mencit. Bahan yang digunakan untuk pembedahan mencit dan bahan isolasi organ ginjal adalah NaCl fisiologis dan larutan formalin 10 %. Bahan yang digunakan untuk membuat preparat histologi glomerulus adalah etanol 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, aquades steril, pewarna *hematoxylin eosin* dan larutan *xylol*, alkohol 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, air, paraffin cair dan formaldehid. Bahan yang digunakan untuk mengukur kadar MDA antara lain : stok kit MDA konsentrasi 1,2,3,4,5,6,7,8 mg/ml, Na -Thio 1 %, TCA 10 %, aquadest, Nacl 0,9 % dan HCl.

#### 4.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental *control design only* menggunakan model Rancangan Acak Lengkap (RAL). Metode *control design only* yaitu dilakukan uji parameter (MDA dan histopatologi ginjal) setelah diberi perlakuan. Sedangkan Kusningrum (2008) mengatakan bahwa Rancangan Acak lengkap (RAL) digunakan pada penelitian yang bersifat eksperimental, yaitu pada

penelitian sama atau dianggap seragam. Kelompok hewan coba dalam penelitian ini dibagi menjadi lima kelompok perlakuan sebagai berikut :

**Table 4.1 Rancangan Penelitian**

Kelompok	Perlakuan		Keterangan
	Induksi Streptokinase	Dosis ekstrak daun sukun	
K -	-	-	Kontrol negatif, tanpa induksi streptokinase dan tanpa terapi ekstrak daun sukun
K+	2500 IU	-	Kontrol positif, diinduksi streptokinase dan tanpa terapi ekstrak daun sukun
P1	2500 IU	16,8 mg/ekor	Perlakuan 1
P2	2500 IU	25,2 mg/ekor	Perlakuan 2
P3	2500 IU	33,6 mg/ekor	Perlakuan 3

#### 4.4 Sampel Penelitian

Hewan model menggunakan mencit (*Mus musculus*) jantan berumur 2–3 bulan. Bobot badan mencit antara 30 gram. Hewan coba diadaptasikan selama tujuh hari untuk menyesuaikan dengan kondisi di laboratorium. Estimasi besar sampel dihitung berdasarkan rumus ( Kusningrum, 2008) :

$$t(n-1) \geq 15$$

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

$$5n-4 \geq 15$$

$$5n \geq 15+5$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

**Keterangan :**

p : jumlah perlakuan hewan coba

n : jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan diatas maka untuk 5 macam kelompok perlakuan diperlukan jumlah ulangan paling sedikit 4 kali dalam setiap kelompok perlakuan sehingga dibutuhkan 20 ekor hewan coba.

**4.5 Variabel Penelitian**

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

1. Variabel bebas : dosis streptokinase yaitu 2500 IU, dan dosis ekstrak daun sukun 16,8 mg/ ekor, 25,2 mg/ekor, 33,6 mg/ekor.
2. Variabel tergantung : Kadar MDA dan Histopatologi ginjal
3. Variabel kontrol : Jenis kelamin, berat badan 30 gram, umur 2-3 bulan, suhu, pakan, dan kandang mencit.

**4.6 Tahapan Penelitian**

1. Persiapan Hewan Coba
2. Preparasi streptokinase
3. Pembuatan hewan model glomerulonefritis akut (induksi streptokinase)
4. Pemeriksaan BUN dan kreatinin darah
5. Pembuatan ekstrak daun sukun
6. Pemberian terapi ekstrak daun sukun pada hewan model GNA induksi streptokinase

7. Euthanasi Hewan Coba
8. Pengukuran kadar MDA ginjal
9. Pembuatan preparat histopatologi ginjal dan pemeriksaan histopatologi ginjal
10. Analisa data

#### 4.6.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah mencit jantan berumur 2-3 bulan dengan berat 30 gram, mencit diaklimasi pada ruangan laboratorium selama 7 hari dengan tujuan untuk meminimalisir stress dan hewan coba bebas mengekspresikan perilaku alamiahnya (Ridwan, 2013). Hewan coba di tempatkan pada kandang plastik dan ditutup menggunakan anyaman kawat dan lantai kandang diberi serbuk kayu agar mudah dibersihkan. Kandang tersebut dilengkapi tempat pakan, minum.

Sebanyak 20 ekor mencit dikandangkan berkelompok, setiap kandang berisi 4 ekor mencit. Kandang mencit diletakkan pada tempat yang bebas dari keramaian, terhindar dari polutan, dan ditempatkan pada suhu ruang. Pakan yang diberikan berbentuk pallet dan minum adlibitum (Mangkoewidjojo, 2006).

#### 4.6.2 Preparasi Streptokinase

Streptokinase didapatkan dari Rumah Sakit Aisyiyah (RSIA) Malang. Dosis streptokinase yang diberikan pada hewan coba, yaitu 2500 IU/ ekor sebanyak 2 kali. Streptokinase yang digunakan telah melalui proses pengenceran terlebih dahulu. Streptokinase berjumlah  $1,5 \times 10^6$  IU berbentuk serbuk dalam vial diencerkan dengan *ringer laktat* 2 mL dan dihomogenkan (stok 1). Selanjutnya dilakukan pengenceran

menggunakan RL dan dibuat sampai stok 3. Perhitungan pengenceran dapat dilihat pada **Lampiran 7**.

Menurut pendapat Murwani dkk. (2015) menyatakan bahwa induksi streptokinase dengan dosis 2500 IU dapat menyebabkan glomerulonefritis akut berdasarkan peningkatan kadar BUN dan kreatinin serum hingga sebesar 45 % akibat penurunan laju filtrasi glomerulus.

#### **4.6.3 Pembuatan Hewan Model GNA**

Hewan coba yang digunakan adalah mencit berjumlah 20 ekor dengan berat 30 kg, umur 2-3 bulan. Mencit terlebih dahulu diaklimasi lingkungan laboratorium selama 7 hari. Injeksi streptokinase dilakukan pada 16 mencit pada hari ke 8 dan ke 13 sebesar 2500 IU/ ekor intravena. Empat (4) ekor tidak diinjeksikan streptokinase karena sebagai kontrol negatif. Hewan positif glomerulonefritis akut dapat diketahui berdasarkan adanya gejala klinis sebagai berikut: pertama, mencit mengalami oligouria yang dapat diketahui dengan pengukuran volume urin. Kedua, pada mencit glomerulonefritis akut terdapat protein di dalam urin yang dapat diketahui dengan uji *dipstick* urin. Ketiga, pada mencit model GNA mengalami peningkatan BUN dan kreatinin serum, sehingga dilakukan pengujian serum mencit. Berdasarkan pemeriksaan diatas dapat disimpulkan bahwa hewan coba sudah mengalami glomerulonefritis akut.

Gejala klinis mencit yang mengalami glomerulonefritis akut antara lain oligouria, proteinuria, hematuria, dan peningkatan BUN dan kreatinin serum. Oligouria dilakukan dengan pengukuran volume urin 24 jam, sedangkan peng

#### 4.6.4 Penentuan Kadar BUN dan Kreatinin Darah

Pada saat pengkondisian hewan model GNA akut setelah dilakukan injeksi yang ke 2, dilakukan pengambilan sampel serum dan urin untuk pengukuran BUN (*blood ureum nitrogen*) dan kreatinin. Pengukuran kadar BUN dapat dilakukan dengan menggunakan metode *urease-salicylate*. Metode *urease-salicylate* yang dilakukan pada alat *Autoanalyzer Biosystem* mempunyai prinsip kerja, yaitu urea dalam sampel akan bereaksi dengan urease dan *salicylate*, kemudian diukur secara otomatis dengan spektrofotometer. Pengukuran kadar kreatinin dengan menggunakan metode Jaffe yang ditentukan pada alat *Autoanalyzer Biosystem*. Metode Jaffe adalah salah satu metode kalorimetri. Prinsip reaksi pada metode ini, yaitu reaksi antara kreatinin dengan asam pikrat dalam suasana basa, membentuk kompleks kreatinin pikrat berwarna jingga (Haribi dkk., 2009) Sampel yang digunakan untuk memeriksa kadar BUN dan kreatinin adalah serum yang dikoleksi dari masing-masing kelompok.

Mencit (*Mus musculus*) dapat dikatakan menderita glomerulonefritis akut apabila terjadi peningkatan kadar BUN dan kreatinin dalam darah secara signifikan jika dibandingkan dengan mencit (*Mus musculus*) normal atau kontrol negatif (Bijanti dkk., 2010). Kadar normal kreatinin darah mencit (*Mus musculus*) antara 0,3-1,0 mg/dL (Doloksaribu, 2008), sedangkan kadar normal BUN mencit (*Mus musculus*) antara 13,9-28,3 mg/dL (Bijanti dkk., 2010).

#### 4.6.5 Pembuatan Ekstrak Daun Sukun

Pembuatan ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dilakukan dengan tiga prosedur, yaitu pengeringan, ekstraksi, dan evaporasi. Proses pengeringan adalah

dengan mengeringkan daun sukun (*Artocarpus altilis*) yang telah dicuci bersih dengan suhu udara terbuka. kemudian dilakukan pemanasan oven dengan suhu 50–60 °C hingga kering sempurna. Proses ekstraksi adalah proses perendaman daun sukun (*Artocarpus altilis*) yang telah dihaluskan ke dalam etanol 96 %.. Proses evaporasi adalah proses pengambilan lapisan atas dari hasil campuran etanol dengan zat aktif yang sudah terambil dan dilakukan evaporasi. Hasil yang diperoleh kira-kira setengah dari bahan alam kering yaitu 50 gram (Kurnia, dkk., 2011). Prosedur ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dapat dilihat pada **Lampiran 6.1**.

#### **4.6.6 Terapi Ekstrak Daun Sukun**

Terapi ekstrak daun sukun diberikan pada kelompok P1, P2, dan P3, pemberian terapi dimulai pada hari ke Sembilan. Pemberian terapi diberikan secara rutin satu kali per hari, selama 14 kali (Shendy dkk., 2016). Pemberian ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) pada mencit dilakukan dengan cara sonde peroral. Sonde oral pada mencit dilakukan dengan memegang leher bagian belakang dengan tangan kiri, sedangkan tangan kanan memegang alat sonde yang berisi ekstrak daun sukun. Sonde dimasukkan dengan hati-hati kira-kira sampai di lambung. Setelah yakin jarum sonde telah masuk ke dalam lambung, dikeluarkan ekstrak daun sukun didalam sonde dan dimasukkan kedalam lambung (Ngatidjan, 2006). Dosis ekstrak daun sukun yang diberikan yaitu 16,8 mg/ ekor (P1), 25,2 mg/ekor (P2), 33,6 mg/ekor (P3). Perhitungan dosis terapi dapat dilihat pada **Lampiran 6**.

#### 4.6.7 Euthanasi Hewan Coba

Proses *euthanasi* pada hewan coba mencit (*Mus musculus*) dilakukan pada hari ke 28 setelah seluruh perlakuan. *Euthanasi* hewan coba dengan pemberian kloroform kemudian mencit diletakkan pada posisi rebah dorsal dan dilakukan pembedahan pada bagian abdomen. Organ ginjal kanan dipotong menjadi 2 bagian, bagian pertama seberat 20 mg dan sisanya menjadi bagian kedua. Organ ginjal dibilas dengan NaCl – fisiologis 0,9 %, kemudian bagian pertama 20 mg bagian ginjal dimasukkan kedalam larutan *Phosphate Buffer Saline* – azida (PBS – azida) pH 7,4 dan bagian kedua dimasukkan pada larutan *formaldehyde* 10 %.

#### 4.6.8 Pengukuran kadar MDA

Pengukuran kadar MDA dilakukan dengan metode Thiobarbituric Acid (TBA). MDA (*malanodialdehyde*) dapat terbentuk apabila radikal bebas hidroksil seperti *Reactive Oxygen Species* (ROS) bereaksi dengan komponen asam lipid dari membran sel sehingga terjadi reaksi berantai yang dikenal dengan peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid merupakan suatu marker kerusakan (*oxidative injury*) yang dipresentasikan sebagai MDA (*malondialdehyde*). Pada kondisi normal MDA tetap dihasilkan selama terjadinya biosintesis prostaglandin dalam sel, namun ketika terjadi peningkatan kadar MDA maka dapat mengganggu keutuhan membran sel yang dapat menyebabkan kerusakan pada suatu organ (Winarsi, 2007).

#### 4.6.9 Pemeriksaan Histopatologi ginjal

Proses pembuatan preparat histopatologi terdiri dari fiksasi, dehidrasi dan infiltrasi penjernihan, infiltrasi paraffin, embedding, sectioning, penempelan di gelas

objek, serta pewarnaan dengan hematoxilin eosin (Muntiha, 2001). Ginjal dibagi dalam korteks di bagian luar yang tercatat gelap dalam preparat mikroskopis dan medula di bagian dalam yang tercatat lebih terang. Setiap ginjal terdiri atas 1-4 juta nefron. Setiap nefron terdiri atas bagian yang melebar, korpuskulus ginjal; tubulus kontortus proksimal; segmen tebal dan tipis ansa Henle; serta tubulus kontortus distal. Korpuskulus ginjal berdiameter sekitar 200-250  $\mu\text{m}$  dan terdiri atas seberkas kapiler, yaitu glomerulus, dikelilingi oleh kapsula epitel berdinding ganda yang disebut kapsula Bowman. Glomerulus berhubungan dengan kapsula Bowman di bagian dalam melalui lapisan viseral yang tersusun oleh modifikasi sel-sel epitel yang disebut podosit. Kontortus proksimal dilapisi epitel selapis kuboid atau silindris (Adleend, 2015). Bagian yang diamati pada preparat histologi ginjal adalah bagian yang mengalami inflamasi. Kriteria kerusakan berupa perubahan struktural morfologi ginjal yaitu ukuran kapsula bowman lebih besar dari ukuran normal akibat infiltrasi dari sel neutrofil, nekrosis pada tubulus. Prosedur pembuatan preparat histologi ginjal dapat dilihat pada **Lampiran 8**.

#### 4.7 Analisa Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini berupa data kuantitatif untuk mengetahui kadar MDA yang dianalisis dengan ONE WAY ANOVA dengan  $\alpha = 0,05$  dan dilanjutkan dengan uji Tukey. Gambaran histopatologi ginjal dianalisis secara kualitatif dengan melihat adanya perubahan struktural morfologi ginjal.

## BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Pembuatan Hewan model Glomerulonefritis Akut Menggunakan Induksi

#### Streptokinase

Penelitian ini merupakan penelitian tentang glomerulonefritis akut hasil induksi streptokinase. Pemberian streptokinase dengan dosis 2500 IU dapat menyebabkan glomerulonefritis akut yang mengacu pada peningkatan kadar BUN dan kreatinin sebesar 45 % yang diakibatkan oleh terjadinya penurunan laju filtrasi glomerulus (Murwani dkk, 2014). Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) jantan. Penggunaan mencit jantan sebagai hewan coba sering digunakan pada penelitian medis dibandingkan hewan coba lainnya. Sesuai dengan pendapat Malole dan Pramono, (2000) bahwa mencit (*Mus musculus*) merupakan hewan rodensia yang umum digunakan sebagai hewan percobaan pada penelitian.

Gejala klinis mencit yang mengalami glomerulonefritis akut adalah terjadinya oligouria yang merupakan petanda awal terjadinya kerusakan ginjal, pada penelitian ini volume rata-rata urin 24 jam pada kelompok mencit kontrol positif 0,45 mL sedangkan volume rata-rata urin pada kelompok kontrol negatif yaitu 0,80 mL sesuai dengan pendapat Biji, dkk (2004) bahwa volume urin normal pada mencit yaitu 0,5-2 mL setiap 24 jam. Pada kelompok hewan kontrol positif terjadi penurunan volume rata-rata urin yang disebabkan oleh kerusakan ginjal. Oliguria sampai anuria yang dapat terjadi sebagai akibat berkurangnya filtrasi glomerulus (Rachmadi, 2010).

Diagnosa lainnya untuk mengetahui glomerulonefritis akut antara lain yaitu proteinuria dan hematuria, proteinuria yaitu terdapat protein didalam urin yang disebabkan karena kerusakan kapiler glomerulus sehingga dapat menyebabkan protein dan darah keluar dalam urin (Rahcmadi, 2010). Pada penelitian ini tidak didapatkan hematuria pada kelompok hewan coba melainkan hanya positif proteinuria. Pemeriksaan hematuria dan proteinuria dilakukan menggunakan uji *dipstick*. Hasil pemeriksaan proteinuria pada kelompok hewan kontrol positif yaitu positif (+++) sedangkan pada kelompok kontrol negatif di dapat hasil negatif. Prinsip uji *dipstick* yaitu pada pH tertentu protein akan mengubah zat kromogen dan membentuk warna. Cara kerja uji *dipstick* yaitu sebelumnya dikoleksi urin mencit selama 24 jam. Perubahan akibat inflamasi yang terjadi di glomerulus dapat mengubah fisiologi normal glomerulus sehingga membuat protein keluar bersama dengan urin (Jennete, 2012).

Pemeriksaan pendukung lainnya yaitu pemeriksaan BUN dan kreatinin serum. Rataan hasil pemeriksaan BUN pada penelitian ini yaitu 19,771 mg/dL untuk kelompok kontrol negatif sedangkan rataannya kadar BUN kelompok kontrol positif yaitu 29,275 mg/dL. Berdasarkan hasil tersebut, terjadi peningkatan kadar BUN pada kelompok kontrol positif dimana pada kadar normal BUN mencit antara 13,28 sampai 28,3 mg/dL (Mitruka, 1981). Rataan hasil pemeriksaan Kreatinin mencit pada penelitian ini untuk kelompok kontrol negatif yaitu adalah 0,325 mg/dL sedangkan rataannya untuk kelompok kontrol positif yaitu 0,750 mg/dL. Berdasarkan rataannya kadar kreatinin diatas yaitu kadar kreatinin masih dalam batas normal sesuai

dengan pendapat Doloksaribu (2008) yaitu kadar normal kreatinin mencit antara 0,3-1,0 mg/dL. Peningkatan rata-rata kontrol positif dibandingkan dengan kontrol negatif tersebut menggambarkan bahwa terjadi gangguan fungsi filtrasi dari glomerulus pada mencit hasil induksi streptokinase. Pada prinsipnya ketika BUN dan kreatinin meningkat di darah dapat diartikan bahwa sudah terjadi kerusakan pada ginjal.

Pada tahap pembuatan hewan model glomerulonefritis akut hasil induksi streptokinase didapat kelompok hewan kontrol positif yaitu oligouria, proteinuria serta terjadi peningkatan BUN serum. Hasil pemeriksaan tersebut merupakan gejala klinis untuk mendiagnosa glomerulonefritis akut.

## **5.2 Pengaruh terapi ekstrak daun sukun terhadap kadar Malanodialdehid (MDA) mencit model glomerulonefritis akut hasil induksi streptokinase**

Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas didapatkan data terdistribusi normal dan homogen ( $p < 0,05$ ) (**Lampiran 9**) sehingga dilanjutkan pada uji One way ANOVA. Pada uji One Way ANOVA menunjukkan bahwa terdapat pengaruh ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) yang diberikan sebagai terapi pada mencit model glomerulonefritis akut hasil induksi streptokinase terhadap kadar MDA secara significant ( $p < 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh terapi ekstrak daun sukun *Artocarpus altilis* pada mencit model glomerulonefritis akut terhadap penurunan kadar MDA ginjal.

Hasil pengukuran MDA menggunakan metode Thiobarbituric Acid (TBA) pada ginjal mencit model glomerulonefritis akut hasil induksi streptokinase yaitu rata-rata kontrol negatif menunjukkan kadar MDA ginjal yaitu 0,207 ng/uL. Dalam

keadaan normal, MDA akan tetap dihasilkan namun dalam kadar normal. Sesuai dengan pendapat Repetto *et al.*, (2012) bahwa dalam keadaan normal MDA akan tetap dihasilkan selama terjadinya biosintesis prostaglandin dalam sel. Malanodialdehid (MDA) juga dihasilkan sebagai produk dari peroksidasi lipid terutama *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) yang merupakan reaksi berantai akibat penambahan oksigen radikal dan akan mengakibatkan kerusakan oksidatif pada PUFA yang banyak terdapat pada membran sel.

Kelompok kontrol positif (+) menunjukkan rata-rata kadar MDA 0,523 ng/uL yang merupakan jumlah kadar MDA lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) dapat dilihat pada **(Tabel 5.1)**. Tingginya kadar MDA pada kontrol positif disebabkan oleh adanya stress oksidatif yang tinggi akibat induksi streptokinase yang dapat menyebabkan glomerulonefritis akut. Streptokinase memiliki kemampuan untuk memecah plasminogen menjadi plasmin yang akan mengaktifkan bradikinin. Bradikinin akan berikatan dengan  $\beta$  integrin yang ada pada makrofag sehingga makrofag akan teraktifasi untuk menghasilkan radikal bebas. Pembentukan radikal bebas yang meningkat akan menyebabkan stress oksidatif. Stress oksidatif yang meningkat menyebabkan rusaknya DNA, oksidasi protein reseptor ataupun fungsional sehingga menyebabkan protein rusak serta rusaknya membrane sel yang mengandung asam lemak tak jenuh yang akan menjadi peroksida lipid (Ulilalbab, 2015). Peroksida lipid merupakan proses oksidasi asam lemak tak jenuh rantai panjang yang menyebabkan terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa

toksik dan juga menyebabkan kerusakan pada membrane sel. Malanodialdehid dapat terbentuk apabila *reactive oxygen species* (ROS) bereaksi dengan komponen asam lemak dari membrane sel sehingga terjadi reaksi berantai yang dikenal dengan peroksidasi lipid (Yunus, 2001). Malanodialdehid yang dihasilkan tersebut dapat dijadikan indeks peroksidasi lipid dan dapat dijadikan sebagai alat ukur aktivitas radikal bebas secara tidak langsung (Suryohudoyo, 2000).

**Tabel 5.1** Rata-rata kadar MDA, Standar Deviasi dan Hasil Uji Tukey pada ginjal mencit

Kelompok Perlakuan	Rata-ratakadar MDA(ng/200uL)± SD
Kontrol negatif	0,207 ± 0,02 <sup>a</sup>
Kontrol Positif	0,523 ± 0,05 <sup>b</sup>
Perlakuan 1	0,198 ± 0,07 <sup>a</sup>
Perlakuan 2	0,223 ± 0,03 <sup>a</sup>
Perlakuan 3	0,211± 0,03 <sup>a</sup>

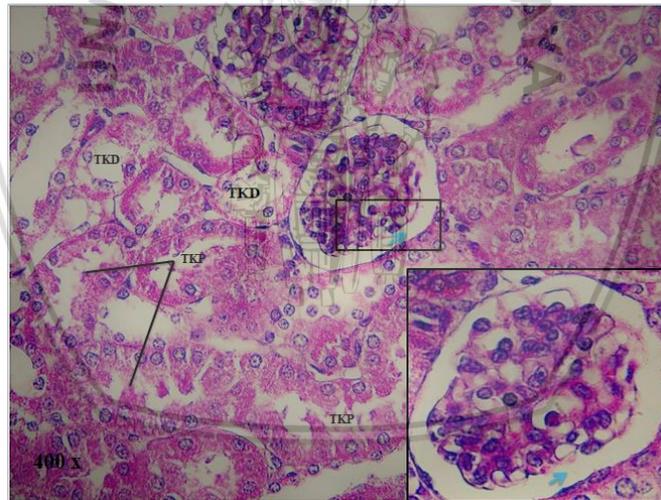
Keterangan : notasi yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antar kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ).

Penurunan kadar MDA tersebut dipengaruhi oleh aktifitas dari daun sukun sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Flavonoid merupakan senyawa sekunder yang merupakan senyawa antioksidan yang digunakan untuk mencegah kerusakan jaringan yang disebabkan oleh induksi streptokinase. Pencegahan tersebut dilakukan dengan cara flavonoid menstabilkan senyawa oksigen reaktif dengan susunan reaktif dari

radikal bebas akibat induksi streptokinase sehingga akan menghasilkan radikal yang lebih stabil dan kurang reaktif (Nijveidt *et al.*, 2001).

### 5.3 Pengaruh terapi ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap gambaran histopatologi ginjal mencit.

Pengamatan hasil pemeriksaan histopatologi ginjal pada mencit model glomerulonefritis akut hasil induksi streptokinase dilakukan dengan mengamati preparat dengan perbesaran 400x. Pengamatan pada perbesaran tersebut dapat diamati perubahan pada kapsula bowman, adanya sel radang pada glomerulus, dan melihat perubahan pada tubulus.



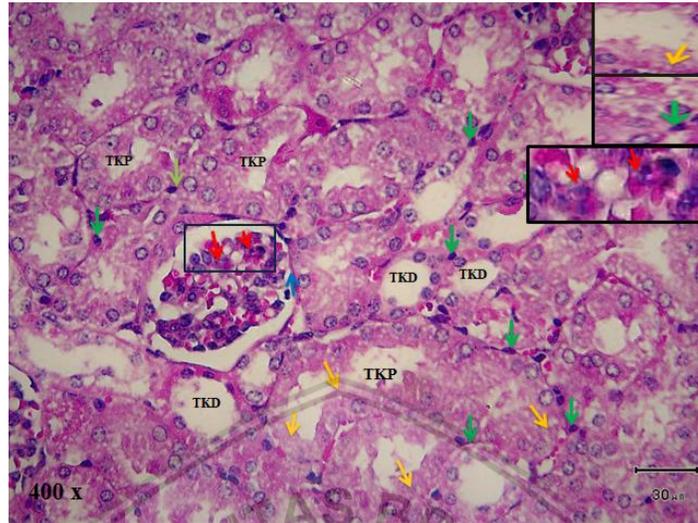
**Gambar 5.1 :** Kelompok kontrol negatif histopatologi ginjal (HE) perbesaran 400 x.

Keterangan : → : Tidak terlihat adanya sel radang

→ : Kapsula Bowman tampak lebar

TKP : Tubulus kontortus proksimal terlihat normal tidak ada kariolisis dan piknosis

TKD : Tubulus kontortus distal terlihat normal tidak ada kariolisis dan piknosis



**Gambar 5.2** Kelompok kontrol positif histopatologi ginjal pewarnaan HE (400x).

**Keterangan :** → : Terlihat sel radang yang cukup banyak

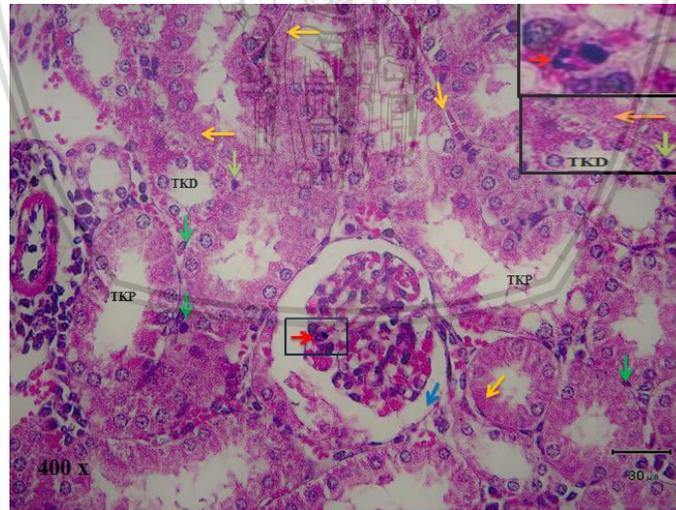
→ : Kapsula bowman menyempit

→ : Kariolisis pada epitel tubulus banyak

→ : Piknosis pada epitel tubulus banyak

TKP : Tubulus kontortus proksimal terlihat abnormal

TKD : Tubulus kontortus distal terlihat abnormal



**Gambar 5.3** Kelompok perlakuan 1, Pewarnaan HE perbesaran 400 x

**Keterangan :** → : Terlihat sel radang yang lebih sedikit

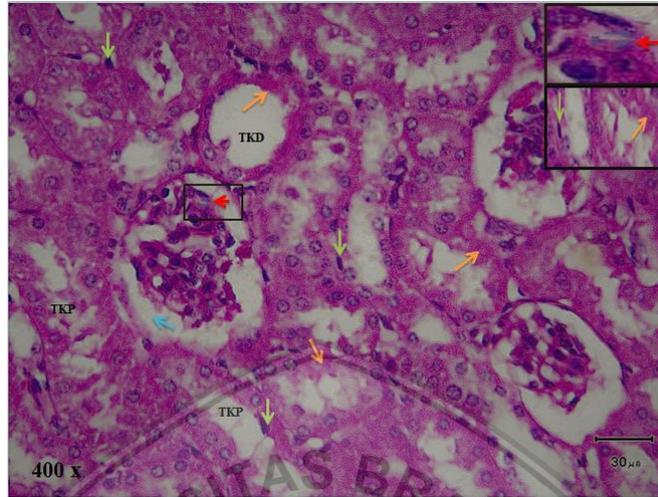
→ : Kapsula bowman tampak lebih lebar

→ : Kariolisis pada tubulus lebih berkurang dibanding kontrol +

→ : Piknosis pada tubulus lebih berkurang dibanding kontrol +

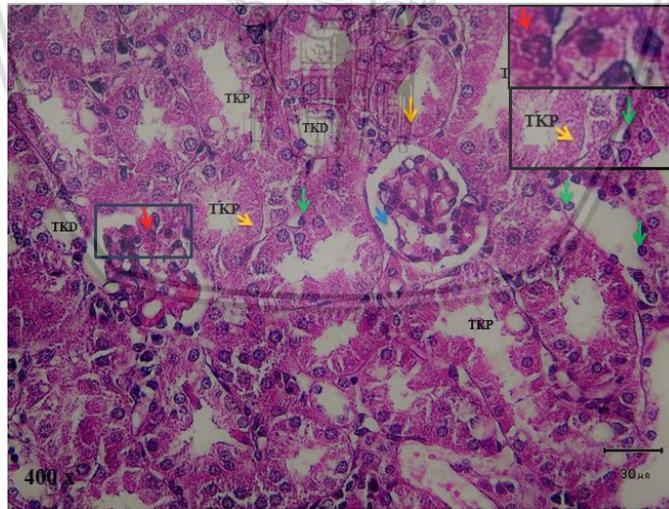
TKP : Tubulus kontortus proksimal terlihat abnormal

TKD : Tubulus kontortus distal terlihat abnormal



**Gambar 5.4. Kelompok perlakuan 2, Pewarnaan HE dengan perbesaran 400x.**

**Keterangan:** → : Terlihat masih adanya sel radang  
 → : Kapsula bowman tampak lebih lebar  
 → : Kariolisis pada epitel tubulus lebih berkurang  
 → : Piknosis pada epitel tubulus lebih berkurang  
 TKP :Tubulus kontortus proksimal terlihat abnormal  
 TKD :Tubulus kontortus distal terlihat abnormal



**Gambar 5.5. Kelompok Perlakuan 3, pewarnaan HE dengan perbesaran 400 x.**

**Keterangan :** → : Terlihat masih ada sel radang  
 → : Kapsula bowman tampak lebih lebar  
 → : Kariolisis pada epitel tubulus sedikit  
 → : Piknosis pada epitel tubulus sedikit  
 TKP :Tubulus kontortus proksimal terlihat abnormal  
 TKD :Tubulus kontortus distal terlihat abnormal

Hasil pengamatan histopatologi ginjal mencit kelompok kontrol negatif pada perbesaran 400 x yaitu mencit tanpa induksi streptokinase (**Gambar 5.1**), terlihat bahwa glomerulus tampak normal dimana inti sel glomerulus tampak bulat dan padat, kapsula bowman masih lebar dan tidak terdapat sel radang, tubulus kontortus proksimal dan tubulus kontortus distal tampak normal. Pada glomerulus normal akan terlihat sel-sel glomerulus berbentuk epitel selapis kubus terlihat normal, dengan inti sel terlihat bulat dan padat, ruang antara kapsula bowman terlihat masih lebar dan tidak ada infiltrasi sel radang pada glomerulus. Epitel kapsula bowman terlihat beraturan yang terdiri atas sel epitel selapis pipih (Mills, 2007). Tubulus kontortus dibatasi oleh epitel kubus selapis dengan apeks sel menghadap lumen tubulus memiliki banyak mikrovili membentuk *brush border* (Eroschenko, 2010). Tubulus kontortus distal lebih pendek dengan tubulus kontortus proksimal dan tidak begitu berkelok dibandingkan dengan epitel kuboid.

Pengamatan histopatologi pada kelompok kontrol positif yaitu induksi streptokinase tanpa perlakuan (terapi) (**Gambar 5.2**), terlihat tubulus mengalami nekrosis pada tingkat piknosis ( ↓ ), dan kariolisis ( ↓ ), adanya penyempitan pada kapsula bowman ( ↓ ) akibat adanya infiltrasi sel radang ( ↓ ) berupa neutrofil sesuai dengan pendapat Bijol (2011) yaitu perubahan yang paling khas pada glomerulonefritis adalah bertambahnya sel-sel glomerulus yang disebabkan oleh pembengkakan sel dan sebagian karena penambahan sel-sel endotel dan sel epitel dalam glomerulus. Pembesaran glomerulus akan membuat glomerulus dan kapsula

bowman menyempit. Kerusakan sel glomerulus akibat induksi streptokinase sesuai dengan pendapat Pardede (2009) bahwa streptokinase memiliki kemampuan untuk memecah plasminogen menjadi plasmin yang akan mengaktifasi reaksi kaskade komplemen yang ditandai dengan pengendapan kompleks antigen-antibodi didalam glomerulus dan memecah C3 menjadi C3a dan C3b. Endapan kompleks imun, plasmin, serta hasil pemecahan C3 akan mengaktifkan komplemen jalur alternatif, seperti anafilatoksin (C3a dan C5b), yang berfungsi sebagai faktor kemotaktik. Anafilatoksin C3a dan C3b pada permukaan antigen berperan dalam menarik neutrofil, makrofag, dan eosinofil (Erwin, 2008). Neutrofil akan melepaskan enzim lisosom yang merupakan faktor responsif untuk merusak glomerulus (Lumbanbatu, 2003).

Hasil pengamatan histopatologi pada kelompok perlakuan 1 yaitu terapi 16,8 mg/ekor pewarnaan HE perbesaran 400 x terlihat gambaran kapsula bowman lebih lebar dibandingkan dengan gambaran kelompok positif glomerulonefritis akut. Nekrosis tubulus baik itu piknosis maupun kariolisis masih ada namun dalam jumlah yang sedikit. Piknosis merupakan tahap pertama dari nekrosis yaitu perubahan inti sel dimana kromosom di dalam inti sel mengalami perubahan warna yaitu lebih gelap, mengecil dan menyusut. Kariolisis merupakan tahap akhir nekrosis yaitu inti sel tidak terwarnai dan menghilang, hal tersebut sesuai dengan pendapat Atika, dkk., (2015) bahwa tahapan nekrosis diawali dengan perubahan morfologi inti sel yaitu piknosis. Tahap berikutnya inti pecah (karioreksis) dan inti menghilang (kariolisis) (Atika, dkk., 2015).

Terdapat sel radang berupa neutrofil (↓) (**Gambar 5.3**). Sel radang berupa neutrofil merupakan sel radang yang muncul pertama kali pada inflamasi glomerulus sesuai dengan pendapat Bijol (2011) inflamasi di glomerulus ditandai oleh infiltrasi sel radang dimana neutrofil merupakan leukosit yang pertama kali memasuki wilayah inflamasi dan mengeluarkan protease yang menyebabkan membrane glomerulus basal terurai sehingga menyebabkan kerusakan sel glomerulus (Kumar *et al.*, 2007).

Hasil pengamatan histopatologi ginjal pada kelompok perlakuan 2 (**Gambar 5.4**) yaitu terapi 25,2 mg/ekor menggunakan pewarnaan HE dengan perbesaran 400 x terlihat adanya infiltrasi sel radang, nekrosis pada tubulus baik itu piknosis maupun kariolisis mulai berkurang, tampak adanya perbaikan dari ruang kapsula bowman, Kandungan flavonoid pada ekstrak daun sukun flavonoid juga dapat menghambat degranulasi netrofil, sehingga secara langsung mengurangi pelepasan asam arakhidonat oleh netrofil dimana asam arakhidonat merupakan mediator radang yang utama (Maharani dan Mukaromah 2010).

Hasil pengamatan histopatologi ginjal pada kelompok perlakuan 3 (**Gambar 5.5**) yaitu terapi 33,6 mg/ekor menggunakan pewarnaan HE terlihat adanya perbaikan ruang kapsula bowman sehingga ruang kapsula bowman lebar jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, sel radang berupa neutrofil masih terlihat, perbaikan sel tubulus sehingga nekrosis pada tubulus berkurang. Nekrosis pada tubulus disebabkan oleh penggunaan streptokinase yang dapat menyebabkan hipotensi atau *low cardiac output* yang dapat menginduksi azotemia dan menyebabkan terjadinya nekrosis tubulus, jika terjadi hipotensi pada tubulus maka

menyebabkan ischemia pada ginjal. Proses nekrosis terjadi karena ischemia. Jika terjadi ischemia pada ginjal maka menyebabkan kurangnya adenosine trifosfat (ATP) sebagai sumber energi sel sehingga menyebabkan terjadinya nekrosis. Pemberian bahan bersifat nefrotoksik dimana streptokinase bersifat nefrototoksik yang mengakibatkan terjadinya nekrosis pada tubulus ginjal, karena tubulus ginjal berfungsi sebagai reabsorpsi sehingga kemungkinan besar terjadi kerusakan akibat toksin yang tinggi (Asrini, dkk., 2011).

Gambaran histopatologi ginjal pada hewan coba yang mengalami glomerulonefritis akut menurut Ferrario dan Restaldi (2004) yaitu pada pengamatan preparat histopatologi ditemukan proliferasi dari *endocapillary* (sel endotel dan sel mesangial) serta adanya akumulasi dari sel radang terutama neutrofil yang menyebabkan glomerulus membesar dan ruang kapsula bowman menyempit. Gambaran histopatologi pada perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3 yang diberikan terapi ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) tampak adanya perbaikan gambaran histopatologi ginjal yaitu pada ruang kapsula bowman, perbaikan tubulus yaitu penurunan nekrosis pada epitel tubulus jika dibandingkan dengan kontrol positif glomerulonefritis akut. Perbaikan tersebut tidak terlepas dari terapi ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) sebagai antiinflamasi. Kandungan daun sukun (*Artocarpus altilis*) yaitu flavonoid, asam hidrosianat, asetilcolin, tannin, riboflavin, saponin, phenol, quercetin, champerol dan kalium. Aktivitas farmakologi flavonoid adalah sebagai anti-inflamasi, analgesi, antioksidan (Maharani, dan Mukaromah 2010).

## BAB VI PENUTUP

### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dapat digunakan sebagai terapi pada glomerulonefritis akut berdasarkan penurunan kadar MDA (Malanodialdehid) dengan dosis terbaik yaitu 16,8 mg/ekor.
2. Ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dapat digunakan sebagai terapi glomerulonefritis akut berdasarkan perbaikan gambaran histopatologi ginjal mencit dengan menurunkan infiltrasi sel radang, perbaikan tubulus dengan penurunan nekrosis pada epitel tubulus, serta perbaikan ukuran kapsula bowman dengan dosis terbaik yaitu 16,8 mg/ekor.

### 6.2 Saran

Diharapkan pada penelitian selanjutnya dilakukan dokumentasi pada setiap perlakuan sebagai bahan pendukung untuk mengerjakan hasil.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adleend, 2015. *Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Setelah Pemberian Meloxicam Dosis Toksik [Skripsi]*. Program Studi Kedokteran Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
- Agnes, R, Y, Aulanni'am dan P. Sasangka. 2013. *Kadar Malanodialdehid (MDA) dan Gambaran Histologi Pada Ginjal Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Pasca Induksi Cylosporine –A.1*. Kimia Student Journal. (2) : 222-228.
- Albar H. S, Rauf. 2005. *The Profile of Acute Glomerulonephritis Among Indonesian Children*. Paediatrica Indonesian, 2005 ; 45 : 264- 69.
- Asrini, R., Aulania'am, dan Dyah, K.W. 2011. *Aktivitas Enzim Protease Dan Gambaran Histopatologi Ginjal Pada Tikus (Rattus Norvegicus) Fibrosis Ginjal Hasil Induksi Streptokinase*. Program Studi Pendidikan Dokter Hewan, Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya. Malang.
- Atika, R, H. M, N Salim. A, Harris. H, Budiman, Zainuddin dan Sugito, 2015. *Pengaruh Pemberian Kacang Panjang (Vigna Unguiculata) Terhadap Struktur Mikroskopis Ginjal Mencit (Mus Musculus) Yang Diinduksi Aloksan*. Jurnal Medika Veterinaria. Vol. 9 No. 1
- Baqarizky Fiizhda, 2015. *Studi Awal : Gambaran Histopatologik Pankreas, Hepar dan Ginjal Tikus Diabetes Mellitus yang di Induksi STZ Dengan Pewarnaan Hematoksin Eosin [Skripsi]*. Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Baratawidjaja, K. G. dan I. Rengganis. 2010. *Imunologi Dasar Edisi 9*. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Biji, T.K., N.E. Everda., R.H. Scofield. 2004. *Experimental Animal Urine Collection*. Department of Medicine University of Oklahoma Health Sciences Center. Review: Laboratory Animal. 38: 333-361.
- Bijol, V, 2011. *Postinfectious glomerulonephritis Accute Diffuse Proliferative*. [http://www.renaldigest.com/egi-bin/nephrology/preview?ADD=0&LES\\_ION\\_ID=1&POST=toc](http://www.renaldigest.com/egi-bin/nephrology/preview?ADD=0&LES_ION_ID=1&POST=toc)[15 September 2015].
- Brown, S. A. 2013. *Glomerular Disease in Small Animals*. Merck Veterinary Manual. [http://www.merckmanuals.com/vet/urinary\\_system/noninfection\\_diseases\\_of\\_the\\_urinary\\_system\\_in\\_small\\_animals/glomerular\\_disease\\_in\\_small\\_animals.html](http://www.merckmanuals.com/vet/urinary_system/noninfection_diseases_of_the_urinary_system_in_small_animals/glomerular_disease_in_small_animals.html) [2 Mei 2016].
- Chatziantoniou, 2005. *Insights into the mechanisms of renal fibrosis: is it possible to achieve regression*, Am J Physiol Renal Physiol. 2005 Aug; 289(2): F227-34
- Chatterje, P.K and C. Thiemermann. 2004. *Superoxide Dismutase Mietics and Acute Renal Failure*, <Eureka.com>[12 September 2015].
- Dalimartha, S. 2003. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia jilid 3*. Puspa Swara. Jakarta
- Dewoto, H. R. 2008. *Antikoagulan, Antitrombotik, Trombolitik, dan Hemostatik In Farmakologi dan Terapi. Edisi V*. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.

- Doloksaribu, Bernike, 2008. *Pengaruh Proteksi Vitamin C Terhadap Kadar Ureum, Kreatinin, dan Gambaran Histopatologis Ginjal Mencit yang Dipapar Plumbum* [Tesis]. Program Pasca Sarjana, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Erwin. 2008. *Kadar Komplemen C3 pada Penderita Demam Berdarah Dengue* [Tesis]. Departemen Patologi Klinik. Fakultas Kedokteran. Universitas Sumatera Utara/ RSUP Haji Adam Malik. Medan.
- Eroschenko, V.P. 2010. *Atlas Histologi diFiore Dengan Korelasi Fungsional*. EGC.Jakarta.
- Ferrario , F and M, P. Rastaldi. 2004. *Histopathological Atlas Of Renal Disease : Acute Post Streptococcal Glomerulonephritis*. Journal Nephrol 17 : 747 - 748.
- Francey T. and S. Ariane. 2008. *Clinical Epidemiology Of Kidney Disease In The Cat* 2. Veterinary Focus, 18 (2) 2008.
- Grant, D. C and S, D. Forrester. 2001. *Glomerulonephritis in Dogs and Cats : Glomerular Function, Pathophysiology, and Clinical Sign*. Journal Vol. 23, No. 8.
- Haribi, R., S., Darmawati, T., dan Hartiti. 2009. *Kelainan Fungsi Hati dan Ginjal Tikus Putih (Ratus norvegicus, L.) Akibat Suplementasi Tawas dalam Pakan*. Jurnal Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang 2 (2): 11-19.
- Hu, Kebin, M.M. Wendy and L. Youhua. 2008. *Novel Action of Tissue –Type Plasminogen Activator In Chronic Kidney Disease*. Frontier in Bioscience, 13 : 5174-5186.
- Jennete, J. C. 2012. The Kidney, dalam : Rubin R, and Strayer, D. S. editor. Rubin's pathology : *Clinical Apathologic Foundation of Medicine*. Edition 6. Lippincot Wiliams and Wilkins. Philadelphia.
- Kartika, N. K dan H, A. Adinugraha, 2003. *Teknik Persamaan dan Informasi Benih Sukun Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan*. Purwobinangun. Yogyakarta.
- Khotimah, S.N dan M. Ahmad, 2009. *Tumbuhan Yang Mengandung Senyawa Aktif Antiinflamasi*. Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran. Volume 4 No. 4.
- Kumar, V., R.S. Cotran , S. L. Robbins. 2013. *Buku Ajar Patologi Robbins Ed. 7*. Vol 1. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Kurnia, H, N. Permatasari, dan Subandi. 2011. *Pengaruh Ekstrak Jintan Hitam terhadap MDA dan Sel Sprematogonium Tikus yang Dipapar Asap Rokok Subakut*. Jurnal Kedokteran Brawijaya. 3(26).
- Kusriningrum, 2008. *Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Latifa, K. I. 2015. *Profil Kadar MDA (Malanodialdehide) pada Tikus yang Diberikan Ekstrak Herba Thymi (Thymus vulgaris [L.]*. [Skripsi]. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.

- Lubis, N. 2013. *Pengaruh Variasi Konsentrasi Ekstrak Buah Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa) sebagai Antiseptik pada Sabun Mandi Cair (Body Foam)*. Fakultas Pertanian. Universitas Pembangunan Panca Budi. Medan.
- Lumban, B dan S. Maniur. 2003. *Glomerulonefritis Akut Pasca Streptococcus*. Sari Pediatri 5 (2) : 58-63.
- Madaio M. P. and J. T. 2001. *The Diagnosis Glomerular Disease Acute Glomerulonephritis and Nephrotic Syndrome*. Arch Intern Med. 161 (1): 25-34
- Maharani, H. 2012. *Uji potensi nefroprotektif senyawa dimer dari isoeugenol terhadap histologi ginjal mencit Jantan Galur DDY [Skripsi]*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Program Studi Biologi, Universitas Indonesia.
- Maharani, E.T.W dan A.H. Mukaromah., M.F. Farabi, 2010. *Uji Fitokimia Ekstrak Daun Sukun Kering (Artocarpus altilis) [Skripsi]*. Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Malole, M. B. M. dan C. S. Pramono. 2000. *Pengantar Hewan – Hewan Percobaan di Laboratorium Bogor* : Pusat Antara Universitas Bioteknologi IPB.
- Mangkoewidjojo, S. 2006. *Hewan Laboratorium Dalam Penelitian Biomedik*. UI Press. Depok
- Marline, A, A, S. Sri, dan J. hendrayana. 2009. *Formulasi Ekstrak Daun Sukun (Artocarpus altilis (Parkins) Fosberg) dengan Basis Gel Sebagai Antiinflamasi*. Jurnal Farmasi Indonesia 4 (4): 199-209.
- Mayer, Weslh, dan Kowalak. 2011. *Buku Ajar Patologi*. EGC. Jakarta.
- Mills, S. 2007. *Histology for Pathologist, 3 rd Edition*. United States; Lippicott Williams and Wilkins.
- Moore , K. E., N. Morris ., N. Dhupa ., R. J. Murlaugh and J. E. Rush. 2007. *Retrospective Study Of Streptokinase Administration in 46 Cats With Arterial Thromboembolism* *Jornal Of Veterinary Emergency and Critical Care*, 10 : 245-257.
- Mitruka, B.M. 1981. *Clinical Biochemical and Hematological Reference Value in Normal Experimental Animal and Normal Humans*. 2<sup>nd</sup> Ed. Masson Publishing USA.Inc. New York.
- Muliani, H. 2011. *Pertumbuhan Mencit (Mus musculus) Setelah Pemberian Biji Jarak Pagar (Jatropha curcas)*. Buletin Anatomi dan Fisiologi, 19 (1).
- Muntiha, M. 2001. *Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Penggunaan Hematoksilin dan Eosin (H&E)*. Balai Penelitian Veteriner : Bogor.
- Murwani, S, G. Chtiyane, A, K. Primaden, L. Z. G. Manterio, M. R. Ramadhani, dan H. M. Ahmad.,. 2014. *Hewan Model Glomerulonefritis Akut ( Hipersensitivitas tipe III)*. Program Studi Pendidikan Dokter Hewan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Nelson, E. D. Wahab, and A. Samik.2000. Ed 15, *Glomerulonefritis Akut Pascastreptokokus*, 3: 1813 – 1814. Jakarta. EGC.

- Ngatidjan. 2006. Metode Laboratorium dalam Toksikologi. Metode Uji Toksisitas.86-135
- Nijveldt, R. J.,E. Nood, D.E.C. Hororn., P. G. Boelens, K. Norren, and P.A.M. Leewen. 2001. *Flavonoids: A Review of Probable Mechanism of Action and Potencial*.
- Noguchi, Nokio and N. Estuo.1999. *Chemistry of Active Oxygen Species And Antioxidants*. Andreas M Papas (ed.) *Antioxidants Status , Diet, Nutrition, and Helath*. CRC Press. USA.
- Nostrand , A, M, Norgren ., J, J. Ferreti and S. E. Holm . 2000. *Allele Substution of The Streptokinase Gene Reduced The Nephritogenic Capacity of Group A Streptococcal Strain NZ131*. *Infect and Immune* 2000; 68: 1019-25.
- Pardede, S. O. 2009. *Struktur Sel Streptococcus dan Patogenesis Glomerulonefrithis Akut Pascastreptokokus*. Departemen Ilmu Kesehatan Anak FKUI – RSCM. Jakarta.
- Pattanayak, P., P. Bahera, D, and S, K. Panda. *Ocimum sanctum Linn A Reservoir Plant For Theurapetic Application : An Overview*. 2010. *Journal Pharmacougen Rev*, 4(7) : 95-105.
- Pernefri. 2011. *4<sup>th</sup> Report Of Indonesian Renal Registry*. Perkumpulan Nefrologi Indonesia.
- Rahmadi, 2010. *Diagnosis dan Penatalaksanaan Glomerulonephritis Akut*. Fakultas Kedokteran. Universitas Padjajaran RS. DR Hasan Sadikin. Bandung.
- Repetto, M., J. semprine And A. Boveris. 2012. Lipid Peroxidation Chemical Mechanism, Niological Implication And Analytical Determination. Dalam *Lipid peroxidation*, Angel Catala (Ed), InTech, DOI: 10.5772/45943.
- Riliani, M, 2015. *Krim Ekstrak Etanol Daun Sukun (Artocarpus Altilis) Sama Efektifnya Dengan Krim Hidrokuinon Dalam Mencegah Peningkatan Jumlah Melanin Kulit Marmut (Cavia Porcellus) Yang Dipapar Sinar Ultraviolet B* [Tesis]. Program Pascasarjana Universitas Udayana Denpasar.
- Robertson, J. and M, A. Seguin. 2006. *Renal Disease –Case-Based Approach to Acute Renal Failure, Cronic Renal Failure and Protein –Losing Nepropathy*. Idexx Laboratories. USA.
- Sadewo, V. D. 2015. *Uji Potensi Ekstrak Daun Sukun Artocarpus altilis Sebagai Pestisida Nabati Terhadap Hama Lalat Buah Bactrocera spp*. Fakultas Teknobiologi. Universitas Atma Jaya Yogyakarta. Yogyakarta
- Safitri, D., E.Y. Sukandar dan S.R. Maryam. 2016. *Effect Of Ethanolic Extract Of Breadfruit (Artocarpus Altilis [Parkinson] Fosberg) Leaves On Ameliorating Renal Function Of Rat*. ISSN - 0974-2441. Vol 9 Issue 1.
- Shendy, M., I. Windarti, Muharton, Sutyarso. 2014. *Effect of Ethanol Extract of Mahkota Dewa Fruit In Histopathology Of Breast Tissue Of Female White Rats (Rattus Norvegicus) Sprague Dawley Strain Induced 7,12-Dimethylbenz (A) Antracene (Dmba)*. Medical Faculty Of lampung Univversity Jukeunila 20 : 124-132. ISSN 2337-3776.

- Sholikhatin, S., Aulanni'am, dan D. K. Wuragil. 2012. *Perubahan Kadar Malanodialdehid (MDA) dan Gambaran Histopatologi Pankreas pada Tikus (Rattus norvegicus) AITD Hasil Induksi Capra hircus Tiroglobulin (cTg)*. Program Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya. Malang. 1-8
- Sikarwar, M, S. Boey, J, H. Kumutha, S. Bavani, D, V. Ling, K, Y, and Kaveti Balaji, 2014. *A Review on Artocarpus altilis (Parkinson) Fosberg (breadfruit)*. Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol. 4 (08), pp. 091-097.
- Smith J.M ., M. K. Faizan, and A.A. Eddy. 2003. *The Child With Acute Nephritis Syndrome*. dalam : Webb N, Posthletwaite R, penyunting. Clinical Paediatric Nephrology . Edisi ke – 3. New York. Oxford : 367-80.
- Suryohudoyo, P. 2000. Oksidan, Antioksidan, dan Radikal Bebas. Ilmu Kedokteran Molekuler. Sagung Seto. Jakarta. 31-46.
- Syah, Y, M, S. A. Achmad, E, Bachtiar, E, H. Hakim, L. D. Juliawaty dan J. Latip. 2006. *Dua Flavonoid Tergeranilasi dari Daun Sukun (Artocarpus altilis)* . Jurnal Matematika dan Sains. 11(3) : 100-104.
- Ulilalbab, 2014. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Kelopak Rosella Terhadap Malondialdehid Dan Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Wistar Yang Dipapar Asap Rokok [Tesis]*. Fakultas Kesehatan Masyarakat. Universitas Airlangga.
- Umar, A, Jenie, L. B. S. Kardono, T. Mozef, C. Jiaan, Z. Xiaoxiang dan P. Yuanjiang. 2007. *Ekstrak Total Flavonoid dan Fitosterol Daun Sukun (Artocarpus altilis) sebagai Obat Kardiovaskular dan Teknik Produksinya*. Paten Indonesia terdaftar No. P00200700707.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius. Yogyakarta.
- Yunus, M. 2001. *Pengaruh Antioksidan Vitamin C terhadap MDA Eritrosit Tikus Wistar Akibat Latihan Anaerobik*. Jurnal Pendidikan Jasmani, 9 (1): 9-16.