

**EFEK TERAPI EKSTRAK DAUN KUMIS KUCING (*Orthosiphon
stamineus B.*) TERHADAP GLOMERULONEFRITIS AKUT
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) HASIL INDUKSI
STREPTOKINASE BERDASARKAN KADAR
SUPEROXIDE DISMUTASE (SOD) DAN
*CREATININE CLEARANCE (Ccr)***

SKRIPSI



Oleh :
ANDREA PUPUT HANDAYANI
135130100111015

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2017**

EFEK TERAPI EKSTRAK DAUN KUMIS KUCING (*Orthosiphon stamineus B.*) TERHADAP GLOMERULONEFRITIS AKUT PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) HASIL INDUKSI STREPTOKINASE BERDASARKAN KADAR *SUPEROXIDE DISMUTASE* (SOD) DAN *CREATININE CLEARANCE* (Ccr)

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :
ANDREA PUPUT HANDAYANI
135130100111015



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2017**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

EFEK TERAPI EKSTRAK DAUN KUMIS KUCING (*Orthosiphon stamineus B.*) TERHADAP GLOMERULONEFRITIS AKUT PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) HASIL INDUKSI STREPTOKINASE BERDASARKAN KADAR *SUPEROXIDE DISMUTASE (SOD)* DAN *CREATININE CLEARANCE (Ccr)*

Oleh :

ANDREA PUPUT HANDAYANI
NIM. 135130100111015

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 8 Juni 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Sri Murwani, Drh., MP.
NIP. 19630101 198903 2 001

drh. Dyah Ayu Oktaviani AP, M.Biotech
NIP. 19841026 200812 2 004

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

HALAMAN PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Andrea Puput Handayani
NIM : 135130100111015
Program studi : Pendidikan Dokter Hewan
Penulis skripsi berjudul :Efek Terapi Ekstrak Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon Stamineus B.*) terhadap Glomerulonefritis Akut pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Hasil Induksi Streptokinase Berdasarkan Kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) dan *Creatinine Clearance* (Ccr)

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 termaksud di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila di kemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, April 2018
Yang menyatakan,

Andrea Puput Handayani
135130100111015

Curriculum Vitae

Nama : Andrea Puput Handayani
Tempat/Tanggal Lahir: Tamban Catur, 12 Mei 1996
Kelas : A-2013
No. HP : 081250549181
Alamat Asal : Jl. A. Yani No.10 Rt. 05 Tamiang Layang, Barito
Timur Kalimantan Tengah
Alamat di Malang :Jl. Ters. Sigura-gura No.04 Malang
E-mail : andreahandayani96@gmail.com
Motto : May regret it, but not for too long because there are still a lot
of things in front of;
in order to respect of others, we must first respect others



A. Riwayat Pendidikan

2013 – Sekarang : Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya
2010 – 2013 : Sekolah Menengah Atas Negeri 1 Tamiang Layang
2007 – 2010 : Sekolah Menengah Pertama Negeri 1 Tamiang Layang
2002 – 2007 : Sekolah Dasar Negeri 4 Tamiang Layang
2001 – 2002 : Sekolah Dasar Negeri 4 Sidomulyo Kapuas Kuala

B. Prestasi

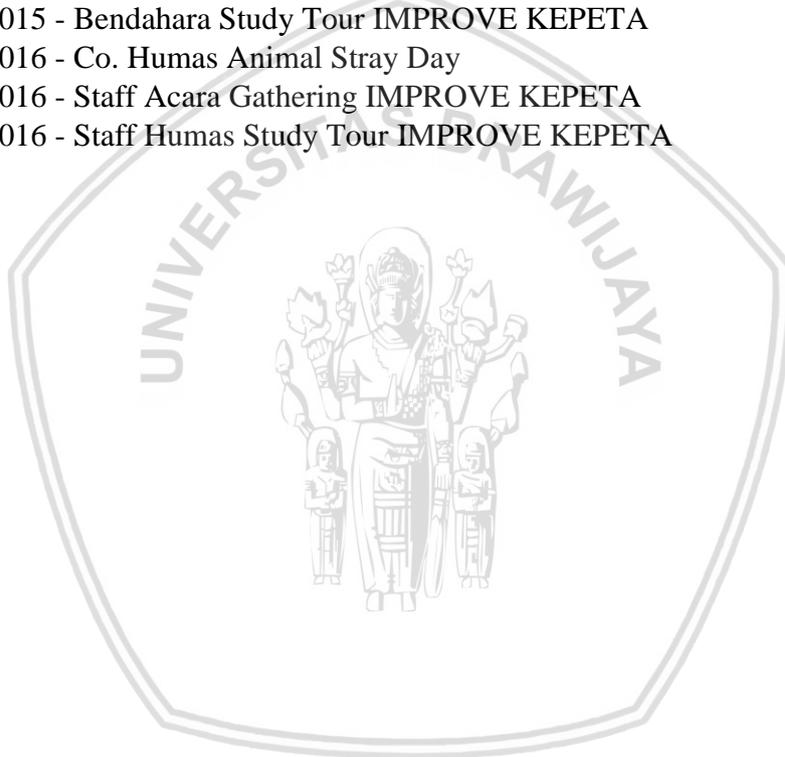
- 2006 – Peserta Paduan Suara SD Tingkat Provinsi
- 2008 – Juara 1 Olimpiade Astronomi Tingkat SMP Se – Kabupaten
- 2008 – Juara 3 Class Meeting Catur Putri
- 2009 – Juara 2 Class Meeting Catur Putri
- 2011 – Juara 1 Olimpiade Ekonomi Tingkat SMA Se – Kabupaten
- 2011 – Peserta Cerdas Cermat Koperasi Tingkat Provinsi
- 2012 – Juara 2 Olimpiade Fisika Tingkat SMA Se- Kabupaten
- 2012 – Peserta Cerdas Cermat MIPA Tingkat SMA Se - Provinsi
- 2013 – Juara 2 Lomba Menulis Cerpen Tingkat SMA se - Kabupaten

C. Riwayat Organisasi

- 2008-2009 Sekretaris OSIS SMP Negeri 1 Tamiang Layang
- 2011-2012 Koordinator Bidang IV OSIS SMA Negeri 1 Tamiang Layang
- 2012-2013 Ketua PIK-R SMA Negeri 1 Tamiang Layang
- 2014-2015 Staff Muda Kementrian Kajian Strategi
- 2015-2016 Divisi Dana Mandiri di Veterinary Harmony Quayer
- 2015-2016 Ketua Komunitas Muda Katolik FKH UB
- 2015-2016 Sekretaris Kementrian kajian Stategi BEM FKH UB
- 2015-2016 Staff. Eksternal IMPROVE KEPETA

D. Riwayat Kepanitian

- 2014 - WaCo. Acara Inagurasi 2013
- 2014 - Co Acara World Veterinary Day
- 2014 - Staff. Acara Seminar Nasional Nutrisi Pet Animal
- 2014 - Sie. Kestari Jambore Rohani Universitas Brawijaya
- 2014 - Co Acara Sekolah Kebijakan Veteriner
- 2014 - WaCo. Acara Animal Welfare Education for Indonesia
- 2015 - Co Acara Animal Stray and Dog Day
- 2015 - Co. Acara Gathering IMPROVE KEPETA
- 2015 - Sekretaris World Veterinary Day
- 2015 - Staff Acara Labs Skill 1 IMPROVE KEPETA
- 2015 - Co Konsumsi DIKLAT Veterinary Harmony Quayer
- 2015 - Co Acara Labs Skill 2 IMPROVE KEPETA
- 2015 - Bendahara Study Tour IMPROVE KEPETA
- 2016 - Co. Humas Animal Stray Day
- 2016 - Staff Acara Gathering IMPROVE KEPETA
- 2016 - Staff Humas Study Tour IMPROVE KEPETA





*Teriring Ucapan Terima Kasih kepada:
Papah dan (Alm) Mamah tercinta
Kakak – kakakku tersayang
Serta Dosen Pembimbing, Teman dan Sahabat*



Efek Terapi Ekstrak Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus B.*) terhadap Glomerulonefritis Akut pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Hasil Induksi Streptokinase Berdasarkan Kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) dan *Creatinine Clearance* (Ccr)

ABSTRAK

Glomerulonefritis akut merupakan salah satu penyakit pada ginjal yang menyebabkan kerusakan dinding sel, meningkatnya permeabilitas membran, dan menurunkan filtrasi pada glomerulus. Salah satu penyebab glomerulonefritis akut yaitu glomerulonefritis akut pasca streptokokus (GNAPS) yang dapat diinduksi oleh streptokinase. Streptokinase diproduksi oleh *Streptococcus β -hemolyticus* yang menyebabkan pembentukan kompleks antigen-antibodi didalam sirkulasi darah dan berdeposit di glomerulus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek terapi ekstrak kumis kucing (*Orthosiphon stamineus B.*) sebagai antiinflamasi dan antioksidan dalam meningkatkan kadar *superoxide dismutase* (SOD) dan menurunkan kadar *creatinine clearance* (Ccr). Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Tikus yang digunakan adalah tikus jantan berumur 8-12 minggu dengan berat 150-200 gram yang dibagi menjadi 5 kelompok yaitu: kelompok kontrol negatif, tikus tidak diberikan perlakuan; kelompok kontrol positif, tikus diinduksi streptokinase dengan dosis 6000 IU; kelompok perlakuan I, II, dan III, tikus diinduksi streptokinase dengan dosis 6000 IU dan pemberian terapi ekstrak kumis kucing dengan masing-masing dosis 250 mg/kg BB, 500 mg/kg BB, dan 750 mg/kg BB secara peroral selama 14 hari. Data yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar SOD organ ginjal dan *creatinine clearance* yang dianalisa menggunakan *one way ANOVA* dengan $\alpha = 0,05$. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa secara signifikan ekstrak daun kumis kucing mampu meningkatkan kadar SOD dan Ccr dengan dosis terapi 500 mg/kg BB. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak daun kumis kucing memiliki efek terapi terhadap glomerulonefritis akut pada tikus putih yang diinduksi streptokinase berdasarkan kadar SOD dan *creatinine clearance*.

Kata Kunci : Glomerulonefritis Akut, Streptokinase, Ekstrak Kumis Kucing, SOD, Ccr

repository.ub.ac.id

Effects of Therapy on Cat's Whiskers Leaf Extract (*Orthosiphon stamineus B.*) on Acute Glomerulonephritis in White Rats (*Rattus Norvegicus*) Streptokinase Induction Results Based on *Superoxide Dismutase (SOD) and Creatinine Clearance (Ccr)*

ABSTRACT

Acute glomerulonephritis is one of the kidney diseases that causes cell wall damage, increased membrane permeability, and decreases filtration of the glomerulus. One of the causes of acute glomerulonephritis is acute post streptococcal glomerulonephritis (GNAPS) induced by streptokinase. Streptokinase is produced by *Streptococcus β-hemolyticus* which causes the formation of antigen-antibody complexes in the blood circulation and deposits in the glomerulus. This study was aimed to determine the therapeutic effect of the extract of cat's whiskers (*Orthosiphon Stamineus B.*) as anti-inflammatory and antioxidant in increasing superoxide dismutase (SOD) levels and decrease creatinine clearance (Ccr) levels. This research done experimentally and use completely randomized design (CRD). Rats used were male rats aged 8-12 weeks with weighing 150-200 grams divided into 5 groups: negative control group, rat were not given any treatment; positive control group, rat induced by streptokinase dose 6000 IU; the first, second, and third treatment group, rat induced by streptokinase dose 6000 IU and treated by extract of cat's whiskers, each group was given a different doses of 250 mg/kg BW, 500 mg/kg BW, and 750 mg/kg BW orally for 14 days. The observed of parameters in this research SOD levels in kidney and creatinine clearance (Ccr) levels and analyzed statistically using one way ANOVA $\alpha = 0,05$. The results of this study indicate that significantly whiskers leaf extract can increase levels of SOD and Ccr with therapeutic dose of 500 mg/kg BW. The conclusion of this research is that the cat's whisker extract has a therapeutic effect on acute glomerulonephritis that cause by streptokinase based on levels of SOD and creatinine clearance.

Keywords : Acute Glomerulonephritis, Streptokinase, Extract of Cat's Whiskers, SOD, Ccr

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena atas karunia dan pertolongan-Nya lah sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Terapi Ekstrak Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon Stamineus B.*) terhadap Glomerulonefritis Akut pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Hasil Induksi Streptokinase Berdasarkan Kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) dan *Creatinine Clearance* (Ccr)” dengan lancar.

Selama proses penulisan dan penyusunan skripsi ini penulis banyak mendapat bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Sri Murwani, Drh., MP, selaku pembimbing I dan drh. Dyah Ayu Oktaviani AP, M.Biotec, selaku pembimbing II yang telah banyak memberikan bimbingan, nasehat, arahan, serta saran kepada penulis.
2. drh. Indah Amalia Amri, M.Sc dan drh. Rahadi Swastomo, M.Biomed, selaku dosen penguji atas saran yang diberikan.
3. Prof. Dr. Aulani'am, drh., DES. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan yang selalu memberikan dukungan tiada henti demi kemajuan FKH UB tercinta.
4. Secara khusus kepada Papah sebagai orangtua tunggal saat ini dan Mamah yang sudah berada ditempat yang lebih indah, serta Mas Tyus, Kak Lisa, Mas Iyas, Kak Yaya, Tutay, Mbak Ati dan keluarga yang tidak bisa disebutkan disini untuk doa, kasih sayang, dukungan, serta pengorbanan baik moril maupun materil selama ini.
5. Teman dalam penelitian ‘CAT MUSTACHE’, Umi Farida dan Elfrida.

6. Sahabat Chocolate (Louise, Joe, Hanny, dan Aghnia), A3 (Arnes dan Ade), Ristanti, Hilda, Dyasti Imas, Elma, Pita, Viary, dan Kontrakan Bawah (Ozy, Aidia, Ima, Luh, Yuni dan Rully) atas semua semangat, waktu, dan tempat yang kalian berikan pada penulis di setiap saat.
7. Seluruh staf dan karyawan FKH, yang telah membantu jalannya proses administrasi dalam pembuatan tugas akhir.
8. Serta kepada semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis sangat menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan adanya saran maupun kritik yang sifatnya membangun atas tulisan ini. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat kiranya baik untuk penulis maupun pembaca.

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan Penelitian	5
1.5 Manfaat	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Ginjal.....	7
2.2 Glomerulonefritis Akut.....	9
2.2.1 Definisi.....	9
2.2.2 Patofisiologi	10
2.2.3 Gejala Klinis.....	14
2.2.4 Diagnosa.....	14
2.2.5 Pengobatan glomerulonefritis Akut	15
2.3 Tikus Putih.....	16
2.4 Streptokinase.....	18
2.5 Tanaman Kumis Kucing	20
2.6 <i>Creatinine Clearance</i>	21
2.7 Antioksidan <i>Superoxide Dismustase</i>	26
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	28
3.1 Kerangka Konsep.....	29
3.2 Hipotesis Penelitian	31

BAB IV METODE PENELITIAN	32
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	32
4.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	32
4.3 Tahapan Penelitian.....	32
4.4 Prosedur Kerja	33
4.4.1 Persiapan Hewan Coba	33
4.4.2 Rancangan Penelitian	33
4.4.3 Variabel Penelitian	36
4.4.4 Pembuatan Streptokinase	36
4.4.5 Pembuatan Hewan Model Glomerulonefritis Akut.....	37
4.4.6 Pembuatan Ekstrak Kumis Kucing.....	37
4.4.7 Terapi Ekstrak Kumis Kucing	38
4.4.8 Perhitune <i>Creatinine Clearance</i>	38
4.4.9 Preparasi dan Isolasi Organ Ginjal.....	39
4.4.10 Perhitungan SOD dengan <i>Spektrofotometer</i>	39
4.5 Analisis Data.....	40
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	41
5.1 Gambaran Klinis Hewan Model Glomerulonefritis Akut.....	41
5.2 Terapi Ekstrak Daun Kumis Kucing (<i>Ortosiphon stamineus</i> B.) terhadap Kadar Superoxide Dismutase (SOD) yang Diinduksi Streptokinase.....	43
5.3 Terapi Ekstrak Daun Kumis Kucing (<i>Ortosiphon stamineus</i> B.) terhadap <i>Creatinine clearance</i> yang Diinduksi Streptokinase	49
BAB VI PENUTUP	55
DAFTAR PUSTAKA	56
DAFTAR LAMPIRAN.....	62

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
<u>Tabel 2.1 Data Biologi Tikus</u>	13
<u>Tabel 2.2 Kegunaan kandungan tanaman kumis kucing</u>	17
<u>Tabel 4.1 Rancangan Penelitian</u>	33
Tabel 5.1 Rata-Rata, Standar Deviasi, dan Hasil Uji <i>Mann Whitney</i> SOD Ginjal.	42
Tabel 5.2 Rata-Rata, Standar Deviasi, dan Hasil Uji <i>Mann Whitney</i> Ccr Ginjal...	50



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Struktur ginjal pada tikus	7
Gambar 2.2 Mekanisme imunopatogenik glomerulonefritis	13
Gambar 2.3 <i>Rattus norvegicus</i>	17
Gambar 2.4 Tumbuhan Kumis Kucing	20
<u>Gambar 3.1 Kerangka Konseptual</u>	28
Gambar 5.1 Perbedaan warna urin kontrol positif dan kontrol negatif.....	41
Gambar 5.2 Histogram nilai <i>mean</i> dan standar deviasi Ccr.....	44
Gambar 5.3 Histogram nilai <i>mean</i> dan standar deviasi SOD.....	49

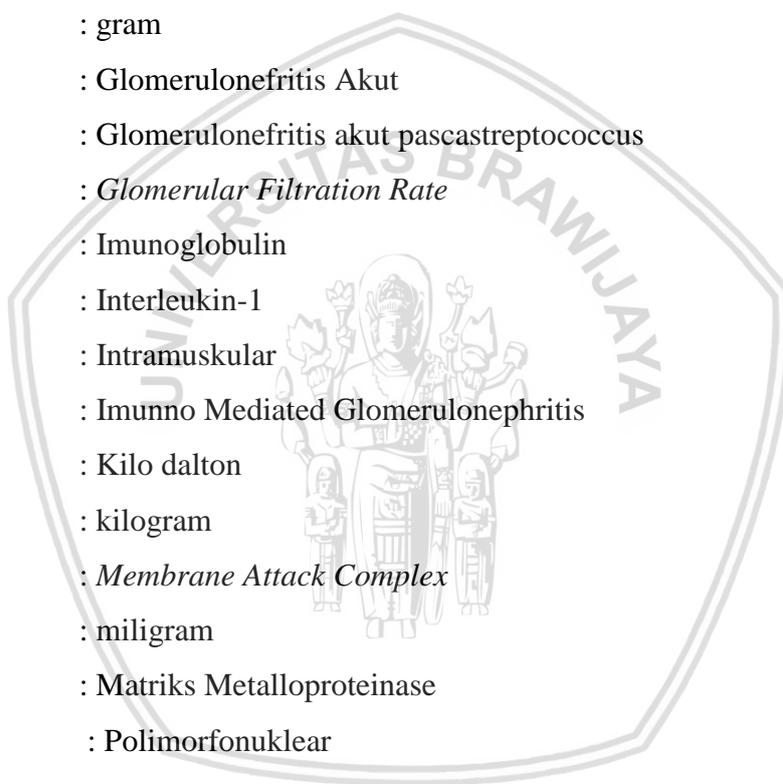


DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
<u>Lampiran 1 Sertifikat Laik Etik</u>	63
<u>Lampiran 2 Determinasi Tanaman Kumis Kucing</u>	64
<u>Lampiran 3 Surat Keterangan Ekstraksi Tanaman Kumis Kucing</u>	65
<u>Lampiran 4 Uji Fitokimia Daun Kumis Kucing</u>	66
<u>Lampiran 5 Perhitungan Dosis Daun Kumis Kucing</u>	68
<u>Lampiran 6 Pembuatan Larutan Streptokinase</u>	69
<u>Lampiran 7 Hasil Uji Kreatinin Urin</u>	70
<u>Lampiran 8 Hasil Uji Kreatinin Serum</u>	71
<u>Lampiran 9 Hasil Perhitungan Kadar SOD</u>	72
<u>Lampiran 10 Hasil Perhitungan <i>Creatinine clearance</i></u>	73
<u>Lampiran 11 Perhitungan Statistik SOD</u>	74
<u>Lampiran 12 Perhitungan Statistik <i>Creatinine clearance</i></u>	83
<u>Lampiran 13 Dokumentasi Penelitian</u>	87
<u>Lampiran 14 Kerangka Operasional</u>	90

DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

ACE	: <i>Angiotensin converting enzym</i>
ANOVA	: <i>Analysis of Variant</i>
BB	: Berat Badan
BW	: Body Wight
Ccr	: <i>Creatinine clearance</i>
cm	: centimeter
ECM	: <i>extraceluler matrix</i>
gr	: gram
GNA	: Glomerulonefritis Akut
GNAPS	: Glomerulonefritis akut pascastreptococcus
GFR	: <i>Glomerular Filtration Rate</i>
Ig	: Immunoglobulin
IL-1	: Interleukin-1
IM	: Intramuskular
IMGN	: Imunno Mediated Glomerulonephritis
kDa	: Kilo dalton
kg	: kilogram
MAC	: <i>Membrane Attack Complex</i>
Mg	: miligram
MMP	: Matriks Metalloproteinase
PMN	: Polimorfonuklear
PO	: Peroral
RAL	: Rancangan acak lengkap
S _{Cr}	: Kreatinin Serum
SK	: Streptokinase
SOD	: <i>Superoxide Dismustase</i>
Sp	: Sub Spesies
t	: Menit
U _{cr}	: Kreatinin Urin



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Glomerulonefritis adalah salah satu penyakit infeksi pada traktus urinarius yang dapat dibagi menjadi glomerulonefritis akut (GNA) dan glomerulonefritis kronik (Albar *and* Rauf, 2005). Salah satu penyebab glomerulonefritis akut yaitu pasca infeksi yang dapat disebabkan oleh agen bakteri, virus, parasit, jamur dan berbagai imunologis lainnya yang menyerang ginjal (Alpers, 2013 ; Pardede, 2009).

Glomerulonefritis merupakan kegagalan organ paling umum terjadi pada anjing dan kucing, yang disebabkan oleh lesi glomerular yaitu glomerulonefritis yang dimediasi oleh sel imun (IMGN) (Littman, 2011). Menurut Brown (2013), angka kejadian penyakit glomerulonefritis akut yang disebabkan oleh kompleks imun di wilayah Amerika Utara lebih tinggi terjadi pada kucing dibandingkan pada anjing. Prevalensi kejadian pada anjing jantan umur 4-8 tahun sebanyak 55% dan tidak bergantung pada ras, sedangkan kucing jantan yang berumur 3-4 tahun sebesar 75% dan tidak bergantung pada ras.

Penyebab dari glomerulonefritis salah satunya yaitu bakteri *Streptococcus* yang dapat menghasilkan eksoprotein ekstraseluler aktif yang bekerja sebagai toksin sistemik atau sebagai enzim invasif lokal yang dikenal sebagai enzim streptokinase (Pardede, 2009). Streptokinase merupakan sebuah protein rantai tunggal yang dihasilkan oleh strain beta-hemolitik *Streptococcus* dan digunakan sebagai terapi infark miokard yang bersifat toksik bagi ginjal (Tjay, 2007).

Streptokinase bekerja dengan cara mengaktifkan plasminogen menjadi plasmin. Proses ini menyebabkan terjadinya sintesis *extraceluler matrix* (ECM) pada sistem peredaran darah dan terakumulasi di ginjal sehingga dapat menyebabkan gagal ginjal (Sacher, 2004).

Tingginya kasus penyakit gagal ginjal menyebabkan kerusakan fungsi glomerulus yang bermanifestasi terhadap penurunan laju filtrasi glomerulus yang mengakibatkan penurunan kadar kreatinin dalam darah (Cho, 2010). Pemeriksaan kreatinin darah dan kreatinin urin dapat digunakan untuk menilai kemampuan laju filtrasi glomerulus, yaitu dengan melakukan pemeriksaan *creatinine clearance* (Ccr). *Creatinine clearance* merupakan pemeriksaan yang mengukur kadar kreatinin yang difiltrasi di glomerulus. Tinggi rendahnya kadar *creatinine clearance* memberikan gambaran tentang berat ringannya kerusakan glomerulus (Levey *at al*, 2003).

Superoxid dimutase (SOD) merupakan suatu antioksidan intrasel yang berperan melindungi sel dari gangguan oksidan dan stress oksidatif yang dapat menyebabkan beberapa gangguan pada tubuh (Wresdiyati and Made, 2004). SOD berperan dalam memecah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen (Desai *et al*, 2010). Stress oksidatif dapat ditimbulkan oleh radikal bebas. Semakin tinggi kadar radikal bebas maka akan mengakibatkan penurunan kadar SOD (Tara, 2016).

Pengobatan alternatif dengan bahan herbal banyak dikembangkan dalam masyarakat, tanaman herbal yang dapat digunakan untuk terapi GNA yaitu daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus B.*) yang memiliki efek diuretik,

antinflamasi, serta spasmodik (Budiman, 2013). Kumis kucing (*Orthosiphon stamineus B.*) memiliki beberapa kandungan zat aktif yaitu flavanoid, tannin, saponin, phenol, serta terpenoid yang memiliki efek nefroprotektif (Kannapan, 2010). Kandungan flavanoid, tannin dan phenol dapat berfungsi sebagai penghambat kerusakan sel dengan cara menghambat akumulasi leukosit di lokasi inflamasi dan menurunkan aktivasi komplemen serta menghambat degranulasi neutrofil, sedangkan efek antioksidan bekerja dengan cara melindungi sel dari peroksidase lipid sehingga menghambat pelepasan mediator inflamasi (Pattanayak *et al*, 2010)

Dari riset diatas dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek pemberian ekstrak kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) terhadap kadar *superoxid dimutase* (SOD) dan kreatinin klirens pada hewan model tikus putih (*Ratus novergicus*) Glomerulus Nefritis Akut.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka rumusan masalah yang diambil yaitu :

1. Apakah terapi ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus B.*) dapat meningkatkan kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) pada hewan model tikus putih (*Ratus novergicus*) Glomerulus Nefritis Akut ?
2. Apakah terapi ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus B.*) dapat meningkatkan kadar *creatinine clearance* pada hewan model tikus putih (*Ratus novergicus*) Glomerulus Nefritis Akut ?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka batasan masalah yang diambil yaitu sebagai berikut:

1. Hewan model yang digunakan adalah tikus jantan yang didapatkan dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Tikus yang digunakan berjumlah 20 ekor berumur 8-12 minggu dengan berat badan 150-200 gram (Kusumawati, 2004). Penggunaan hewan coba telah mendapatkan sertifikat laik etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya dengan No: 822-KEP-UB.
2. Streptokinase yang digunakan adalah streptokinase yang didapatkan dari RSI Aisyiyah. Diinduksikan dengan cara injeksi intravena (IV) pada vena coccygea dengan dosis 6000 IU/ekor tikus dengan interval ulangan induksi 5 hari setelah induksi pertama (Lukito *dkk*, 2013).
3. Ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus B.*) diperoleh dari UPT Materia Medika Batu dengan spesifikasi daun kumis kucing yang digunakan adalah daun yang muda berwarna hijau, berbentuk bulat lonjong ataupun belah ketupat (Budiman, 2013).
4. Dosis ekstrak tanaman kumis kucing (*Orthosiphon stamineus B.*) ditentukan berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Kusuma (2014) dengan modifikasi, sehingga dosis yang digunakan yaitu 250 mg/kg BB, 500 mg/kg BB, dan 1000 mg/kg BB yang diberikan secara per oral (PO) berdasarkan kelompok perlakuan selama 14 hari.

5. *Superoxid dimutase* (SOD) diukur kadarnya dengan menggunakan metode spektrofotometer *shimadzu UV-visible spectrophotometer UV-1601* pada panjang gelombang 560 nm (Destiawan, 2016).
6. *Creatinine clearance* dapat dihitung menggunakan rumus (Bezzano *et al.*, 2015):

$$C_{cr} = \frac{U_{cr} (V_u/t)}{S_{cr}}$$

- Dimana :
- U_{cr} = Kadar kreatinin dalam urin (mg/dL)
 - V_u = Volume urin dieksresikan dalam 24 jam (mL)
 - S_{cr} = kadar kreatinin dalam serum (mg/dL)
 - C_{cr} = *Creatine clearance* (mL/menit)
 - t = waktu (1440 menit)

1.4 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui efek terapi ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus B.*) terhadap peningkatan kadar *Superoxid Dimutase* (SOD) pada hewan model tikus putih (*Ratus novergicus*) Glomerulus Nefritis Akut hasil induksi streptokinase.
2. Mengetahui efek terapi ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus B.*) terhadap penurunan kadar *creatinine clearance* pada hewan model tikus putih (*Ratus novergicus*) Glomerulus Nefritis Akut hasil induksi streptokinase.

1.5 Manfaat Penelitian

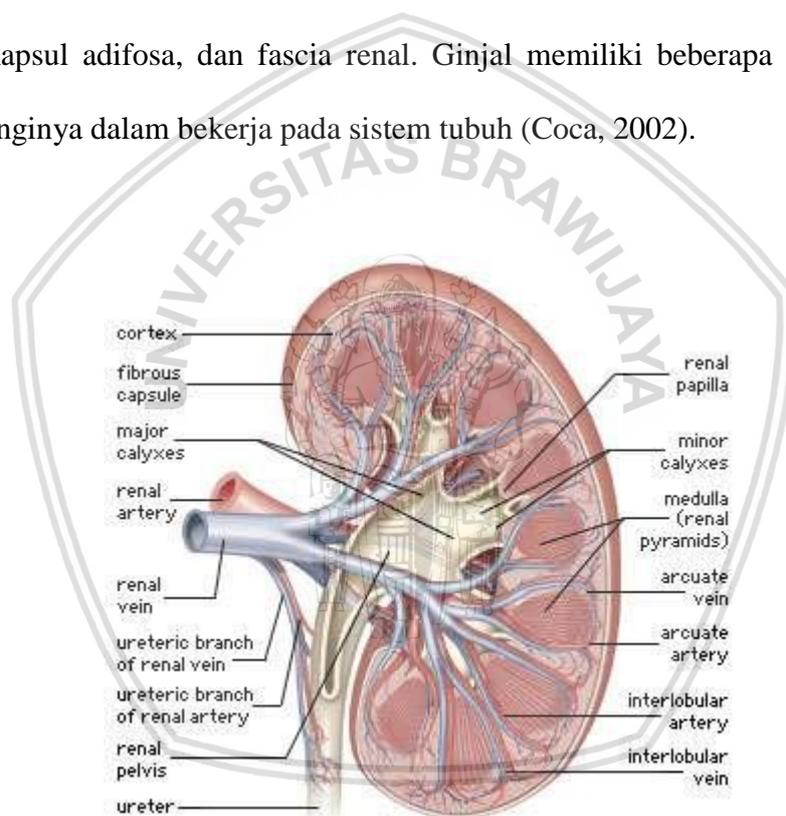
Penelitian ini dapat memberikan informasi ilmiah mengenai efek terapi ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus B.*) pada hewan model tikus putih (*Ratus norvegicus*) Glomerulus Nefritis Akut yang diinduksi streptokinase.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ginjal

Ginjal terletak dalam rongga abdomen retroperitoneal kiri dan kanan kolumna vertebralis yang tertutupi oleh lemak dan jaringan ikat pada tubuh dibelakang peritoneum. Jaringan yang melapisi ginjal bagian luar adalah kapsul ginjal, kapsul adifosa, dan fascia renal. Ginjal memiliki beberapa lapisan yang melindunginya dalam bekerja pada sistem tubuh (Coca, 2002).



Gambar 2.1 Struktur ginjal pada tikus (Eroschenko, 2010)

Satuan fungsional dari ginjal adalah tubuli uriniferus yang terdiri dari nefron duktus koligens. Nefron merupakan unit fungsional ginjal yang berjumlah 1-4 juta untuk setiap organ. Setiap nefron terdiri dari dua bagian yaitu korpus renalis dan tubulus renalis. Korpus renalis merupakan bagian yang berfungsi sebagai tempat memfiltrasi plasma darah. Korpus renalis terdiri dari dua bagian yaitu glomerulus

dan kapsula bowman. Tubulus renalis berfungsi sebagai tempat reabsorpsi dan sekresi cairan tubuh. Korpus renalis dibagi menjadi 3 bagian yaitu tubulus proksimal, lengkung henle, dan tubulus distalis (Dellman *and* Eurell, 2006).

Menurut Eroschenko (2010), bagian tubulus ginjal disebut tubulus kontortus proksimal karena berawal dari korpuskulum ginjal dengan bentuk berlekuk-lekuk dan disertai dengan bentukan *brush border*. Pada awalnya letak tubulus kontortus proksimal berada pada korteks yang kemudian turun ke bagian medula dan berubah menjadi ansa henle. Ansa henle terdiri atas bagian descendens tebal segmen ascendens dan descendens tipis serta ascendens tebal atau disebut dengan kontortus distal. Bagian tubulus kontortus distal tidak memiliki *brush border*, tidak terlalu berkelok dan pendek, serta saluran mengarah keluar mengarah keluar menuju korteks ginjal. Akibat bentuk tubulus kontortus distal lebih pendek daripada tubulus kontortus proksimal menyebabkan tubulus ini lebih sering ditemui dekat dengan korpuskulum dan korteks ginjal (Coca, 2009).

Sirkulasi darah pada ginjal disuplai dari arteri renalis yang bercabang pada hilus kemudian terbagi menjadi segmental yang bercabang menjadi arteri interlobularis. Arteri interlobularis berlanjut ke ginjal diantara piramid ke arah korteks. Pada cabang kortikomedular, arteri interlobularis bercabang menjadi arteri arkuata, yang melengkung dibasis piramid dan bercang kembali ke bentuk arteriol aferen. Arteriol aferen membentuk kapiler di glomerulus pada korpuskulum ginjal. Arteriol aferen meninggalkan korpuskulum ginjal dan membentuk kompleks hilus kapiler peritubular disekitar tubulus pada korteks dan pembuluh kapiler lurus yang panjang atau vasa rekta di medulla yang melengkung balik ke

daerah koerikomedular. Vasa rekta membentuk lengkung yang sejajar dengan ansa henle (Dellman *and* Eurell, 2006).

Ginjal berfungsi untuk sekresi produk sisa metabolisme pengendalian air dan garam, menjaga keseimbangan asam dn basa serta sekresi hormon. Ginjal menjalankan fungsi sebagai pengatur volume dan komposisi kimia darah dan lingkungan dalam tubuh dengan mengekskresikan zat terlarut dan air secara selektif (Baradero *et al.*, 2009). Fungsi utama ginjal terbagi atas 2 yaitu ekresi dan non-ekresi. Fungsi ekresi ginjal yaitu mempertahankan osmolaritas plasma, mempertahankan volume, dan tekanan darah dengan mengatur natrium, mempertahankan pH, mengekskresikan produk akhir nitrogen dari metabolisme protein dan bekerja sebagai jalur ekstetori. Sedangkan fungsi non-ekresi yaitu mensentesis dan mengaktifkan beberapa hormon seperti renin, eritropoitin, dan prostalglandin (Price *and* Wilson, 2005).

2.2 Glomerulonefritis Akut

2.2.1 Definisi

Glomerulonefritis adalah kerusakan yang terjadi pada ginjal yang ditandai dengan adanya inflamasi di glomerulus. Proses inflamasi memicu mekanisme imunologi yang menimbulkan kelainan glomerulus. Glomerulus berfungsi dalam penyaringan sisa metabolisme dan cairan dari darah. Kerusakan yang terjadi menyebabkan darah dan protein masuk ke dalam urin (Madaio *and* Harrington, 2001).

Glomerulonefritis dibagi menjadi dua macam yaitu glomerulonefritis akut dan glomerulonefritis kronis. Salah satu jenis dari glomerulonefritis akut adalah glomerulonefritis akut pasca streptokokus (GNAPS) (Lau *and* Wyatt, 2005). Glomerulonefritis akut pasca streptokokus adalah infeksi yang disebabkan oleh streptokokus β -hemolitik strain nefritogenik kelompok A yang menyerang bagian kulit dan tenggorokan (Bhimma, 2015).

2.2.2 Patofisiologis

Glomerulonefritis akut terjadi karena adanya reaksi ikatan antara antigen dan antibodi (kompleks antigen – antibodi) di dalam membran kapiler glomerulus sesudah terjadinya infeksi oleh bakteri *streptococcus* β *haemolyticus* grup A. Patofisiologi dari glomerulonefritis akut merupakan reaksi hipersensitivitas tipe III (Mayer *dkk*, 2010). Reaksi hipersensitif tipe III terjadi karena adanya antigen terlarut. Patologi ini terjadi akibat penumpukan agregasi kompleks antigen-antibodi yang sering disebut kompleks imun berikatan dengan reseptor Fc sehingga terjadi inflamasi lokal dan peningkatan permeabilitas vaskuler. Cairan dan sel terutama leukosit polimorfonuklear akan masuk pada daerah inflamasi dari pembuluh darah lokal di tempat itu (Prasmono, 2016).

Hipersensitifitas ini terjadi karena adanya reaksi antara antigen dan antibodi yang mengendap dalam jaringan yang dapat berkembang menjadi kerusakan pada jaringan tersebut. Reaksi ini terjadi jika antigen berada dalam bentuk larutan dan dapat terjadi baik pada jaringan atau sirkulasi. Potensi patogenik kompleks imun tergantung pada ukurannya. Ukuran agregat yang besar

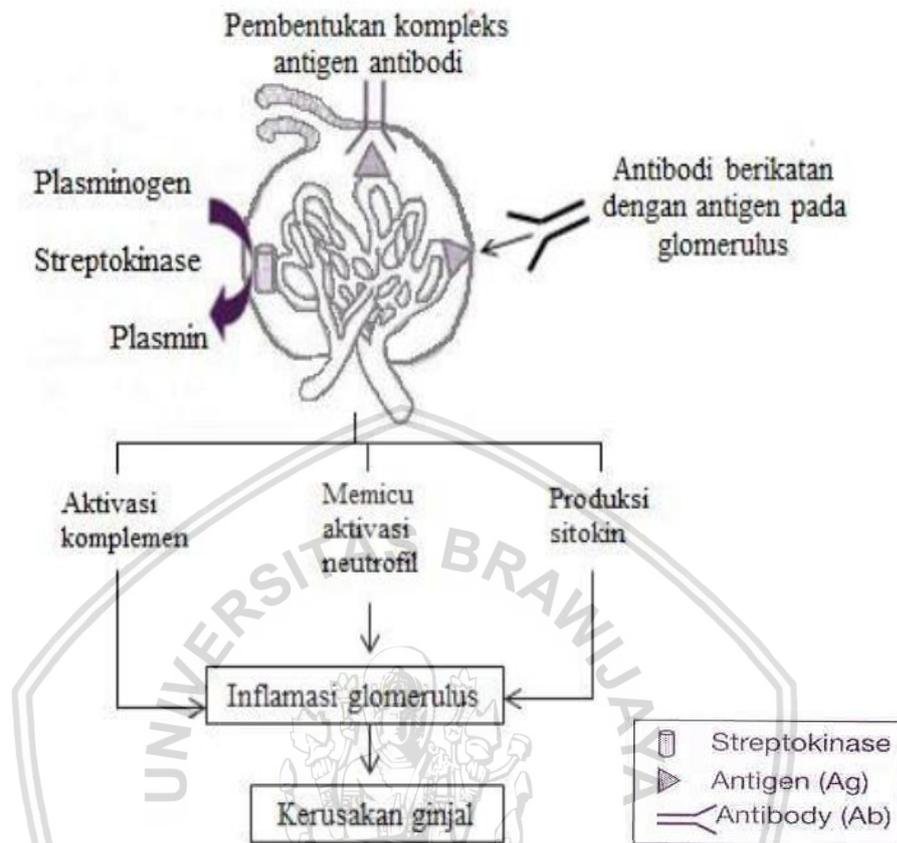
akan mengikat komplemen dan segera dibersihkan dari peredaran darah oleh sistem fagosit mononuklear, sedangkan agregat yang lebih kecil ukurannya cenderung diendapkan pada pembuluh darah. Di sana, terjadi dimulai kerusakan melalui ikatan reseptor Fc dan komponen komplemen pada permukaan endotel yang berakibat pada kerusakan dinding pembuluh darah (Mayer *dkk*, 2010).

Menurut Prasmono (2016), antigen yang membentuk kompleks imun dapat berasal dari luar, seperti protein asing yang diinjeksikan atau dihasilkan mikroba, serta yang berasal dari dalam pada saat tubuh menghasilkan antibodi melawan komponennya sendiri (autoimun). Penyakit yang dimediasi oleh kompleks imun ini dapat bersifat sistemik jika terbentuk di sirkulasi dan terdeposit pada berbagai organ atau terlokalisasi pada organ tertentu seperti ginjal (glomerulonefritis). Reaksi hipersensitifitas tipe III dapat dipicu dalam jaringan kulit individu yang tersensitisasi, yang memiliki antibodi IgG yang spesifik terhadap antigen pemicu sensitisasi tersebut. Apabila antigen disuntikan ke dalam individu tersebut, IgG yang telah berdifusi ke jaringan kulit akan membentuk senyawa kompleks imun setempat. Komplek imun tersebut akan mengikat reseptor Fc pada permukaan sel dan juga mengaktifkan komplemen sehingga C5a yang terbentuk akan memicu respon peradangan setempat disertai peningkatan permeabilitas pembuluh darah setempat. Peningkatan permeabilitas ini memudahkan cairan dan sel-sel darah, khususnya netrofil, masuk ke jaringan ikat setempat di sekitar pembuluh darah tersebut (Mayer *dkk*, 2010).

Mekanisme terjadinya GNAPS diawali suatu proses kompleks imun dimana antibodi dari tubuh akan bereaksi dengan antigen yang beredar dalam darah dan

komplemen untuk membentuk suatu kompleks imun (Horeb, 2005). Glomerulus mengalami kerusakan akibat penimbunan antigen dari gumpalan bakteri streptokokus yang mati dan antibodi yang menetralsirnya. Gumpalan ini kemudian akan membungkus selaput glomeruli dan mempengaruhi fungsinya (Lumbanbatu, 2003). Kompleks imun yang beredar dalam jumlah banyak dalam darah akan melekat pada kapiler-kapiler glomerulus dan terjadi kerusakan mekanis melalui aktivasi sistem komplemen dan reaksi inflamasi (Greetha,2005).

Mekanisme terjadinya inflamasi yang mengakibatkan kerusakan ginjal diawali dari terbentuknya plasmin. Plasmin adalah enzim aktif dari hasil pemecahan plasminogen (proenzim inaktif) oleh streptokinase. Plasmin mengaktivasi reaksi kaskade komplemen 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 (**Gambar 2.1**) (Vinen and Oliveira, 2003). Setelah itu, inflamasi terjadi pada glomerulus dan diikuti kerusakan sel epitel tubulus yang ditandai dengan terbentuknya sel inflamatori (Nurjannah, 2016).



Gambar 2.2 Mekanisme imunopatogenik glomerulonefritis (Smith *et al*, 2003)

Kerusakan pada glomerulus akan diikuti oleh aktivasi komplemen, pembentukan sitokin proinflamasi, dan sistem pembekuan darah. Aktivasi komplemen menimbulkan kemotaksis neutrofil dan membentuk *Membrane Attack Complex* (MAC) yang menyebabkan sel menjadi lisis. Pembentukan sitokin menyebabkan aktivasi dan perubahan sel glomerulus. Hal ini menimbulkan proliferasi sel, pembentukan protease, pembentukan oksidan (radikal bebas) secara berlebihan, serta perubahan pada matriks ekstraseluler (Dwiyanata dan Astrawinata, 2014).

2.2.3 Gejala Klinis

Gejala glomerulonefritis dapat terjadi baik secara akut maupun kronis. Lebih dari 50% kasus glomerulonefritis akut adalah asimtomatik. Kasus ini diawali dengan infeksi saluran pernafasan atas dengan nyeri tenggorokan. Glomeruli mengalami kerusakan akibat penimbunan antigen dari gumpalan bakteri streptokokus yang mati dan antibodi yang menetralsirnya. Gumpalan ini membungkus selaput glomeruli dan mempengaruhi fungsinya (Lumbanbatu, 2003).

Gejala klinis glomerulonefritis sangat bervariasi, yakni ditemukannya kelainan pada urin, oligouria, anuria, edema, hipertensi, uremia, proteinuria, hematuria, albuminuria, anemia, dan meningkatnya kadar kreatinin (Smith *et al*, 2003). Sedangkan gejala klinis yang ditimbulkan pada hewan yang mengalami glomerulonefritis akut yaitu abdomen yang membengkak, nyeri kaki dan sendi, polidipsi, poliuria, berat menurun, letargi, vomit (muntah), penglihatan tiba-tiba menurun, dan kesulitan bernafas (Plotnick 2015).

2.2.4 Diagnosa

Diagnosa dapat ditegakkan dengan melakukan anamnesis, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan penunjang. Anamnesis didapatkan dari infeksi tenggorokan atau infeksi kulit. Pada pemeriksaan fisik akan dilihat adanya gejala hipertensi, edema pada daerah periorbital, *skin rash*, atau kelainan neurologi pada kasus hipertensi malignant. Pada pemeriksaan darah, hemoglobin akan menurun dan terdapat kelainan fungsi ginjal. Pemeriksaan urinalisis, warna urin menjadi gelap,

berat jenis urin meningkat, adanya eritrosit pada urin, dan proteinuria (Todd, 2004). Uji serologi respon imun terhadap antigen didapatkan peningkatan titer antibodi terhadap streptolisin O (Lumbanbatu, 2003).

Menurut Rahcmadi (2010), tes urinalisis merupakan metode yang paling umum dilakukan dalam mendiagnosa adanya penyakit ginjal. Pemeriksaan mikroskopis sedimen urin ditemukan eritrosit dismorfik, cast eritrosit, cast regular, dan hialin., serta dapat ditemukan leukosit. Tes urinalisis dan pemeriksaan darah dapat dilakukan untuk mengetahui rasio kreatini. Apabila kadar kreatinin serum dalam darah meningkat, maka diduga glomerulonefritis akut. Tanda glomerulonefritis yang khas adalah adanya proteinuria. Adanya infeksi *streptococcus* serta laboratoris dan rendahnya kadar komplemen C3 mendukung bukti untuk menegakkan diagnosis.

2.2.5 Pengobatan Glomerulonefritis Akut

Pengobatan terhadap glomerulonefritis dilakukan dengan cara pemberian obat immunosupresif (*cyclophosphamide* atau *cyclosporine*) untuk menekan pembentukan kompleks imun. Pemberian antitrombotik (aspirin) pada anjing dengan dosis rendah untuk mencegah pembekuan darah diglomerulus, tetapi tidak pada kucing. Pada beberapa kasus hewan yang mengalami glomerulonefritis diharuskan mengonsumsi diet protein dan pemberian fosfor dengan dosis rendah (Brown, 2013). Pemberian sodium dosis rendah diberikan pada hewan dengan hipertensi, asam lemak omega 3 untuk membatasi respon inflamasi, atau dengan pemberian *angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor* seperti elapril untuk

mengontrol tekanan darah dan kehilangan protein dalam urin (Plotnick, 2015). Pemberian obat diuretik dapat digunakan untuk mengurangi proteinuria, pemberian *angotensi converting enzyme (ACE) inhibitor* contohnya benazepril pada kucing untuk mengurangi kerusakan glomerulus, dan pemberian antiinflamasi (Brown, 2013)

Keberhasilan penanganan sangat ditentukan oleh identifikasi penyakit penyebab glomerulonefritis akut, identifikasi masalah, dan manajemen medis yang dilakukan. Pengobatan GNA ditentukan dengan mengidentifikasi adanya infeksi atau glomerulonefritis akut yang mempengaruhi sistem imun tubuh (Hilmanto, 2007).

2.3 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih merupakan hewan model dari kelas mamalia yang sering digunakan dalam percobaan laboratorium yang telah diketahui sifat-sifatnya secara sempurna, mudah dipelihara, dan merupakan hewan yang relatif sehat serta cocok dalam berbagai penelitian (Setorini, 2012). Ada tiga macam galur yang biasanya digunakan, yaitu Sprague dawley, Long Evans dan Wistar (Akbar, 2010). Menurut Kusumawati (2004), tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan spesies ideal dalam uji toksikologi dan memiliki fisiologis yang mirip manusia.

Taksonomi Tikus *Rattus novergicus*, nyaitu : (Akbar, 2010)

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia
Family : Muridae
Genus : Rattus
Spesies : *Rattus norvegicus*



Gambar 2.3 *Rattus norvegicus* (Akbar, 2010)

Tikus putih memiliki beberapa sifat yang menguntungkan sebagai hewan uji penelitian di antaranya perkembangbiakan cepat, mempunyai ukuran yang lebih besar dari mencit, mudah dipelihara dalam jumlah yang banyak. Tikus putih juga memiliki ciri-ciri morfologis seperti albino, kepala kecil, dan ekor yang lebih panjang dibandingkan badannya, temperamennya baik, kemampuan laktasi tinggi, dan tahan terhadap arsenik tiroksid (Akbar, 2010). Selain itu, sifat biologis tikus dengan pertumbuhan dan perkembangbiakan yang cepat mampu menjadikannya hewan coba yang ideal untuk segala berat hidup yang dibutuhkan setelah masa sapih. Adapun data biologi dari hewan model tikus putih (*Rattus norvegicus*), yaitu : (Putra, 2013)

Tabel 2.1 Data Biologi Tikus

DATA BIOLOGI	KETERANGAN
Lama hidup	2,3-3,5 tahun
Berat lahir	5-6gr
Berat pubertas	150-200g
Berat dewasa jantan	300-800g
Berat dewasa betina	200-400g
Kematangan seksual	65-110 hari
Siklus estrus	4-5 hari
Gastasi	20-22 hari
Penyapihan	21 hari

Penelitian terhadap glomerulonefritis yang dilakukan pada hewan coba tikus sebelumnya pernah dilakukan. Percobaan tersebut mengacu pada penelitian Lukito *et al* (2013) dan Nurjannah (2016) yang menggunakan tikus untuk mengetahui efek streptokinase sebagai hewan coba model glomerulonefritis dan fibrosis. Tikus digunakan sebagai hewan model glomerulonefritis akut karena mempunyai gejala nefritis yang mirip dengan manusia.

2.4 Streptokinase

Streptokinase adalah protein ekstraselluler dengan berat molekul 46-kDa yang terdiri dari 414 asam amino dan diproduksi oleh semua strain *Streptococcus sp* (Pardede, 2009). *Streptococcus* merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat yang secara khas membentuk pasangan atau rantai selama masa pertumbuhannya. Lebih dari 90% infeksi *Streptococcus* disebabkan oleh *Streptococcus β-hemolyticus* group A dan C (Todd, 2004).

Streptokokus grup A diduga berperan penting dalam GNAPS (Glomerulonefritis Akut Pasca Streptococcus). Hingga saat ini telah dikenal sembilan genotipe streptokinase yang berkaitan dengan GNAPS seperti sak-1, -2, -6, dan -9. Terdapat 2 jenis jenis streptokinase imunogenik yang dihasilkan oleh Streptokokus grup A yaitu streptokinase yang dapat mengubah plasminogen menjadi plasmin dan streptokinase yang dapat mengubah C3 menjadi C3a yang merupakan suatu faktor kemotaktik (C5a) (Pardede, 2009).

Sediaan streptokinase yang umum digunakan berasal dari *Streptococcus β -hemolyticus* strain C yang tersusun atas 25mg *cross-linked gelatin polypeptide*, 25mg *sodium L-glutamat*, *sodium hydroxide*, dan 100mg albumin yang dapat diaplikasikan secara intravena *intracoronary* (Sacher, 2004). Pemberian streptokinase melalui injeksi intramuskular (IM) memberikan efek sistemik dan interval pemberian pertama dan kedua yaitu 4 hari. Apabila lebih dari lima hari akan menyebabkan reaksi alergi (Beacon pharmaceuticals, 2009).

Streptokinase memiliki efek negatif terhadap tubuh, yaitu dapat menyebabkan efek toksik pada ginjal. *Streptococcus nefritogen* pada membran basalis glomerulus mempunyai komponen antigen yang sama, sehingga membentuk zat anti yang langsung merusak membran basalis ginjal (Hu *et al*, 2008). Selain itu, streptokinase yang terdapat dalam plasma akan membentuk ikatan dengan plasminogen. Ikatan ini akan mengaktifasi molekul plasminogen menjadi plasmin. Ikatan plasminogen resisten terhadap inhibitor proteinase di dalam sirkulasi dan berikatan dengan fibrin yang dapat menimbulkan keadaan

systemic lytic state yang ditandai dengan penurunan degradasi fibrinogen dan α 2-Antiflasmin (α 2-AP) didalam sirkulasi) (Collen, 2001).

2.5 Tanaman Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus B.*)

Orthosiphon stamineus Benth atau yang dikenal dengan nama kumis kucing merupakan tumbuhan khas dari Pulau Jawa yang populer dalam pengobatan herbal yang berasal dari kindom Plantae (Pratiwi, 2010). Tumbuhan dari genus *Orthosiphon* ini memiliki banyak sinonim yaitu *O. aristatus*, *O. longiflorum Ham.*, *O. grandiflorum et aristatum Bl.*, *O. spiralis Merr.*, *O. grandiflorus Bold.*, *Clerodenranthus spicatus (Thumb.)*, dan *Trichostemma spiralis LourI* (Budiman, 2013). Di Indonesia, tanaman kumis kucing dimanfaatkan sebagai obat diuretik, sedangkan di India digunakan sebagai obat rematik. Tanaman ini juga bermanfaat untuk pengobatan radang ginjal, batu ginjal, kencing manis, albuminuria dan penyakit syphilis (Siska, 2012).



Gambar 2.4 Tumbuhan kumis kucing (Sumber: Budiman, 2013)

Berikut ini adalah tata nama *Orthosiphon aristatus* menurut taksonomi: (Budiman, 2013)

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Tubiflorae
Famili : Laminaceae
Genus : *Orthosiphon*
Spesies : *Orthosiphon stamineus Benth*

Tanaman kumis kucing memiliki tinggi mencapai dua meter dengan daun yang berbentuk bulat lonjong seperti telur ataupun belah ketupat. Tanaman ini memiliki bunga berbentuk tandan yang keluar diujung cabang dengan mahkota berwarna putih atau ungu pucat yang memiliki panjang 13-27 mm. Pada bagian atas mahkota ditutupi bagian yang menyerupai rambut pendek seperti kumis kucing berwarna putih atau ungu. Kumis kucing memiliki buah berwarna coklat gelap dengan panjang 1,75- 2 mm dan biji berbentuk bulat panjang dengan warna putih kehitaman yang akan menjadi coklat kehitaman ketika matang (Mun'im dan Hanani, 2011).

Daun kumis kucing memiliki kandungan mineral hingga 12% yang komponen utamanya adalah kalium (Budiman, 2013). Selain itu, daun kumis kucing mengandung saponin, polifenol, flavonoid, alkaloid, myoinositol, orthosiphon glikosida, dan minyak atsiri (Astuti, 2012). Adapun fungsi-fungsi dari tiap kandungan disajikan dalam **Tabel 2.1**

Tabel 2.2 Kegunaan kandungan tanaman kumis kucing

Zat	Kegunaan
Minyak Atsiri	<ul style="list-style-type: none"> • Antiradang • Antiinflamasi • Antibakteri
Flavanoid	<ul style="list-style-type: none"> • Melindungi struktur sel • Meningkatkan efektivitas vitamin C • Antiinflamasi • Mencegah osteoforosis • Antibiotik dan antivirus • Menghambat penyerapan glukosa di usus
Orthosiphon glukosida	<ul style="list-style-type: none"> • Diuretik • Antiinflamasi
Alkaloid	<ul style="list-style-type: none"> • Antioksidan • Antiinflamasi • Antimikroba
Saponin	<ul style="list-style-type: none"> • Antiseptik • Antioksidan • Antikarsiogenik
Garam Kalium	<ul style="list-style-type: none"> • Metabolisme energi • Katalisator sintesis glikogen dan protein
Myoinositol	<ul style="list-style-type: none"> • Aktivitas lipotropik • Mengatur respon sel terhadap rangsangan • Transmisi saraf • Pengaturan aktivitas enzim

Sumber: Astuti (2012)

Flavanoid merupakan senyawa sekunder yang merupakan antioksidan golongan phenol yang terdiri dari empat golongan utama *flavon*, *flavonones*, dan *anthocyanin*. Flavanoid sebagai antioksidan digunakan untuk mencegah kerusakan jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas. Pencegahan tersebut dilakukan dengan cara flavanoid menstabilkan senyawa oksigen reaktif dan

radikal bebas sehingga menghasilkan radikal yang stabil dan kurang efektif (Nidjveidt *et al.*, 2001).

Diantara kelas flavanoid, antosianin adalah sekelompok pigmen yang larut dalam air yang terdapat dalam buah dan sayur (Toufeksian *et al.*, 2008). Antosianin merupakan senyawa turunan flavanoid yang memiliki antioksidan yang sangat kuat. Antosianin akan berikatan dengan molekul radikal bebas yaitu $O^{\cdot-}$, OH , $ROO^{\cdot-}$, dan asam nitrat oksida serta dapat menghambat terjadinya peroksidase lipid yang diinduksi oleh Cu, asam askorbat yang ditambah dengan Fe^{2+} , *doxorubicin*, dan radiasi ultraviolet (Cao *et al.*, 2001).

2.6 *Creatinine clearance (Ccr)*

Kreatinin adalah hasil konversi keratin yang merupakan produk pemecahan fosfokeratin di otot secara non enzimatis dan dilepaskan ke dalam darah dalam jumlah konstan dalam waktu 24 jam. Kreatinin pada keadaan normal tidak disekresikan maupun diserap kembali oleh tubulus tetapi difiltrasi oleh glomerulus dan dieksresikan dalam waktu 24 jam (Mentari, 2016). Kreatinin dapat diukur dari plasma, serum, atau urin (Verdiansyah, 2016).

Menurut Prasmono (2016), dalam proses sintesis kreatinin secara langsung arginin yang merupakan asam amino esensial dan diproduksi di ginjal juga dilibatkan. Tahap awal pembentukan sintesis kreatinin adalah pembentukan guanidinioasetat dan ornitin dari arginin bersama glisin yang diperantarai oleh glisin amidinotransferase (arginin-glisin transaminase), glisin amidinotransferase tersebut dihasilkan oleh mitokondria glomerulus.

Guadinoasetat bersama S-adenosil-metionin di dalam hepar akan membentuk kreatin dan S-adenosil-hemoistein dengan dibantu oleh kerja guadinoasetat metil transferaase. Kreatinin dari hepar akan menuju muskulus sebagai fosfokreatin yang *irreversible* maupun dalam bentuk bebas. Kreatin sebagian besar dibuat dalam muskulus melalui proses dehidrasi non-enzimatik dan fosfokreatin melepaskan fosfor anorganik. Hasil kreatinin akan menuju ginjal bagian glomerulus untuk difiltrasi dan direabsorpsi oleh tubulus menuju aliran darah, serta diekskresi bersama urin. Kecepatan produksi kreatinin dipengaruhi masa otot, temperatur, dan juga keasaman (Verdianyah, 2013).

Klirens merupakan volume plasma yang mengandung semua zat yang larut melalui glomerulus serta dibersihkan dari plasma dan disekresikan ke dalam urin (Fenty, 2010).

Kreatinin klirens yaitu pemeriksaan yang mengukur kadar kreatinin yang difiltrasi di ginjal dengan satuan mL/menit. Kreatinin klirens sering diartikan sebagai Glomerular Filtration Rate (GFR) atau laju filtrasi glomerulus yang tidak absolut karena sebagian kecil kreatinin diabsorpsi oleh tubulus ginjal dan sekitar 10% kreatinin urin disekresikan oleh tubulus. Pengukuran kreatinin klirens memberikan informasi mengenai perkiraan nilai GFR yang bergantung pada kadar kreatinin serum dibandingkan dengan kadar kreatinin urin yang diekskresikan dalam 24 jam (Verdiansyah, 2013).

Pemeriksaan *creatinine clearance* (Ccr) merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mengetahui kerusakan ginjal. Kadar Ccr dapat dihitung melalui kadar kreatinin serum, kreatinin urin, dan volume urin (Mentari, 2016). Nilai

kreatinin urin normal pada tikus yaitu 11,45-13,83 mg/hari, sedangkan kreatinin serum normal yaitu 0,38-0,8mg/hari (Pasma, 2016). Creatinine clearance (Ccr) dapat dihitung menggunakan rumus: (Mentari, 2016)

$$C_{cr} = \frac{U_{cr} (V_u/t)}{S_{cr}}$$

Keterangan : U_{cr} = Kadar kreatinin dalam urin (mg/dL)

V_u = Volume urin dieksresikan dalam 24 jam (mL)

S_{cr} = kadar kreatinin dalam serum (mg/dL)

C_{cr} = *Creatine clearance* (mL/menit)

t = waktu (1440 menit)

Menurut Doloksaribu (2008) hubungan GNA dan *creatinine clearance* terjadi saat kadar Ccr dalam tubuh terjadi penurunan. Laju filtrasi glomerulus dalam keadaan GNA akan menyebabkan penurunan secara mendadak dan cepat (hitungan jam-minggu) yang mengakibatkan terjadinya retensi produk sisa seperti kreatinin. Apabila fungsi ginjal menurun, kadar kreatinin dalam serum akan meningkat. Kreatinin merupakan zat ideal untuk mengukur fungsi ginjal karena merupakan hasil metabolisme tubuh yang diproduksi secara konstan, difiltrasi oleh ginjal, tidak direabsorpsi, dan disekresikan oleh tubulus proksimal (Verdiansah, 2016).

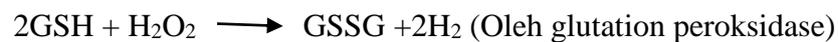
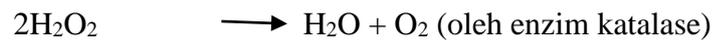
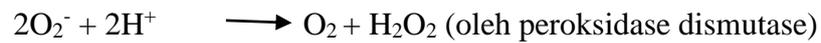
2.7 Antioksidan *Superoxid Dismutase* (SOD)

Antioksidan merupakan suatu zat yang dapat menghambat atau memperlambat proses oksidasi. Oksidasi adalah jenis reaksi kimia yang melibatkan pengikatan oksigen, pelepasan hidrogen atau pelepasan elektron. Antioksidan sebagai perlindungan tubuh dapat dibedakan atas antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen meliputi superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksida. Sedangkan antioksidan eksogen diperoleh dari bagian-bagian tumbuhan yang mengandung flavanoid sebagai pengganti yang berfungsi sebagai antioksidan endogen dan detoksikasi radikal bebas (Pradana, 2013).

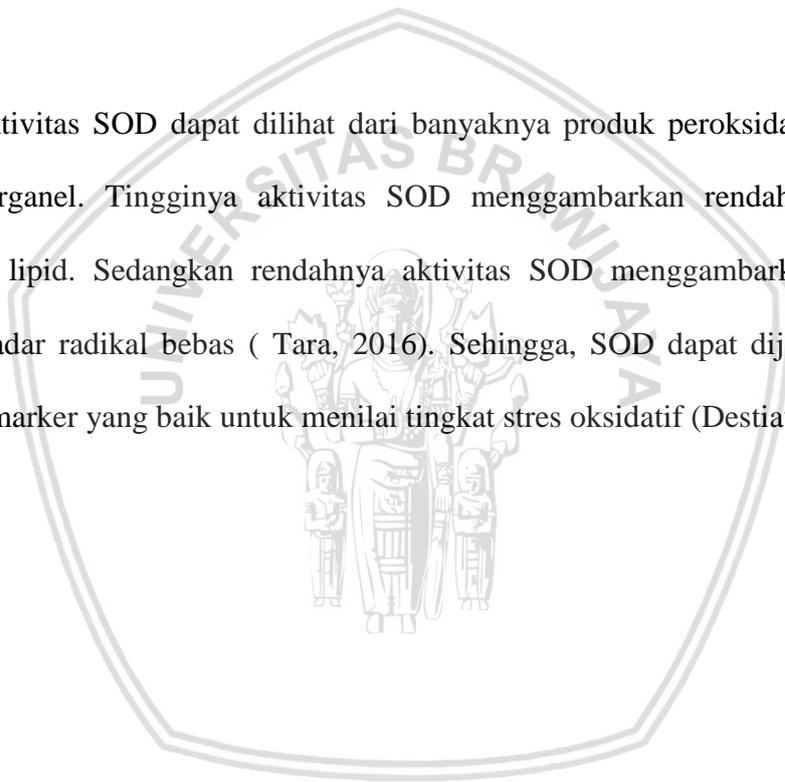
Superoxid dismutase (SOD) merupakan enzim intrinsik yang mengkatalis radikal superoksida menjadi oksigen dan hidrogen peroksida. Fungsi enzim ini yaitu melindungi jaringan dan sel dari stres oksidatif dan radikal bebas (Ratliff *et al*, 2016). Terdapat beberapa jenis SOD, yaitu Cu-Zn-SOD (Copper-Zinc-SOD) yang terdapat didalam sitosol terutama di lisosom dan nukleus, Mn-SOD (Mangan-SOD) yang terdapat di dalam mitokondria, ekstraseluler SOD (EC-SOD) dan Fe-SOD (besi-SOD) yang hanya ditemukan pada tumbuhan (Destiawan, 2016).

Enzim SOD terdapat dalam organisme aerob dan sebagian besar berada di intraseluler, yang berfungsi sebagai penangkal *Reactive Oxygen Species* (ROS), khususnya senyawa anion superoksida (O_2^-) (Pradana, 2013). Secara umum, semua jenis enzim SOD dan ion metal dapat mengkatalisa dismutase O_2^- melalui mekanisme oksidasi reduksi. Superoksida dismutase menetralsir O_2^- menjadi

oksigen dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Selanjutnya H_2O_2 diubah menjadi molekul air (H_2O) oleh enzim katalase dan glutathion peroxidase (Destiawan, 2016).

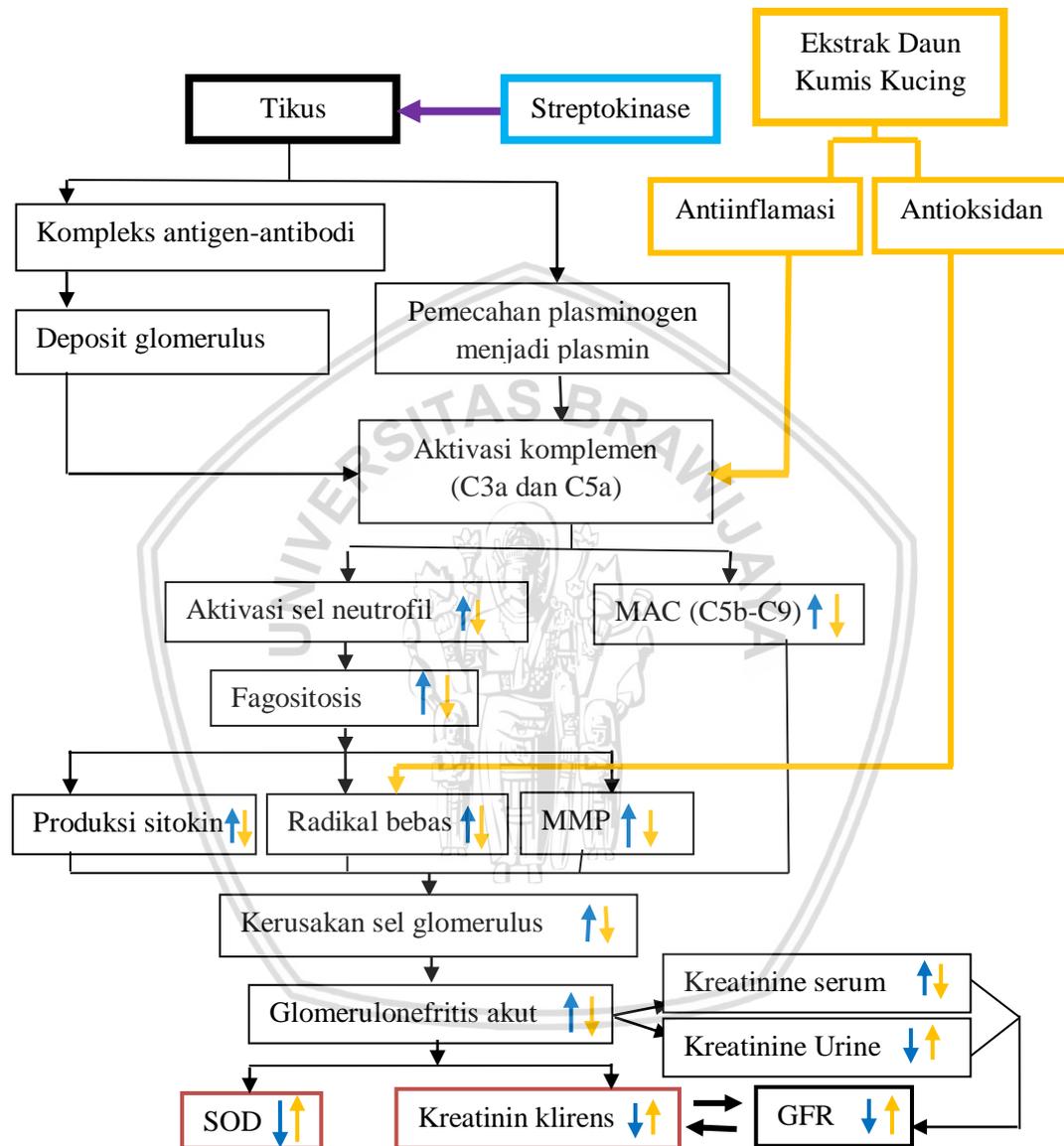


Aktivitas SOD dapat dilihat dari banyaknya produk peroksidasi lipid dari setiap organel. Tingginya aktivitas SOD menggambarkan rendahnya produk oksidasi lipid. Sedangkan rendahnya aktivitas SOD menggambarkan semakin tinggi kadar radikal bebas (Tara, 2016). Sehingga, SOD dapat dijadikan salah satu biomarker yang baik untuk menilai tingkat stres oksidatif (Destiawan, 2016).



BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka konseptual

Keterangan :

Variabel Bebas

Efek induksi streptokinase

Efek pemberian ekstrak kumis Kucing

Variabel yang diamati

Streptokinase merusak jaringan ginjal melalui dua mekanisme. Pertama, streptokinase yang diinjeksi pada hewan model akan membentuk kompleks antigen-antibodi didalam darah dan bersirkulasi ke dalam glomerulus. Kompleks tersebut kemudian terperangkap dalam membran basalis dan mengaktifkan pembentukan zat kemotaktik (C3a dan C5a) (Kumar *et al.*, 2013). Kedua, streptokinase akan membentuk kompleks dengan plasminogen (proenzim inaktif). Kompleks streptokinas-plasminogen tersebut mengubah plasminogen bebas menjadi plasmin (enzim aktif) dengan memutus rantai peptida. Plasmin akan mengikat didalam pembuluh darah dan mendegradasi polimer fibrin menjadi fragmen kecil. Produk degradasi fibrin dapat meningkatkan permeabilitas vaskuler. Peristiwa ini menyebabkan kerusakan ginjal dan mengaktivasi komplemen (C3a dan C5a) (Mentari, 2016).

Aktivasi komplemen dapat merusak glomerulus yang menyebabkan terjadinya infiltrasi sel-sel mononuklear dan polimorfonuklear. Makrofag dan neutrofil tertarik oleh kemokin menuju kedalam berkas glomerulus yang menyebabkan aktivitas fagositosis, sehingga menghasilkan lebih banyak sitokin. Aktivasi komplemen juga akan menyebabkan terbentuknya *membran attack kompleks* (MAC) C5b-9. MAC adalah *lipophilic membrane insert* yang membentuk pori-pori pada membran dipermukaan sel atau mikroba sehingga menyebabkan terjadinya lisis (Destiawan, 2016). Aktivitas fagositosis menyebabkan teraktivasinya *Matrix Metalloproteinase* (MMP). MMP adalah enzim yang dapat merusak dinding sel glomerulus sehingga menyebabkan kerusakan matriks ekstraseluler yang dapat mempengaruhi aliran darah dalam

tubuh, sehingga dapat menyebabkan destruksi glomerulus yang dapat menyebabkan terjadinya glomerulonefritis akut (GNA).

Aktivitas fagositosis yang semakin tinggi dari sel fagosit menyebabkan radikal bebas meningkat. Molekul radikal bebas yang meningkat akan menyebabkan reaksi molekul yang semakin reaktif, sehingga menghasilkan stress oksidatif. Stress oksidatif akan menyebabkan proses peroksidasi menjadi peroksida lipid sehingga menyebabkan destruksi glomerulus sehingga terjadi GNA yang ditandai oleh menurunnya kadar antioksidan endogen enzim superoksida dismutase (SOD). Selain itu, pada pemeriksaan urin akan didapatkan kadar kreatinin urin menurun dan kadar kreatinin serum meningkat yang mempengaruhi laju filtrasi glomerulus.

Ekstrak kumis kucing memiliki kandungan antinflamasi dan antioksidan yang diperankan oleh zat aktif flavanoid. Mekanisme aksi flavanoid sebagai antiinflamasi melalui dua mekanisme. Pertama, flavanoid akan menghambat aktivasi komplemen C3a dan C5a yang akan menghasilkan penurunan aktivitas sel netrofil dalam mengurangi fagositosis sehingga mengurangi inflamasi dan MAC. Kedua, flavanoid memiliki cincin bensofiron yang akan berikatan dengan enzim siklooksigenase dan enzim lipooksigenase dimana berperan dalam menurunkan prostaglandin dan leukotrin sehingga menghentikan inflamasi dan mengurangi kerusakan sel glomerulus. Kerusakan sel glomerulus yang terminimalisir akan meningkatkan kadar *creatinin clearance* (Ccr).

Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan dalam menangkal radikal bebas yaitu dengan menghambat kerja enzim yang terlibat dalam reaksi produksi anion

superoksida dan melepaskan atom hidrogen dari gugus hidroksil yang akan mengikat radikal bebas sehingga kerusakan jaringan dapat terminimalisir. Selain flavanoid, terdapat kandungan tanin, saponin dan alkaloid juga memiliki fungsi sebagai antioksidan yang mampu membantu dalam menghambat radikal bebas (Astuti, 2012). Menurut Shelkea *et al* (2011) alkaloid terbukti memiliki efek inhibisi yang kuat terhadap peroksidasi lipid pada isolasi jaringan dengan cara meningkatkan enzim superoksida dismutase (SOD), sedangkan tanin bekerja dengan cara menghambat pelepasan mediator inflamasi dan memiliki kemampuan dalam menghentikan reaksi rantai radikal bebas secara efisien.

3.2 Hipotesis Penelitian

Ekstrak kumis kucing (*Orthosiphon stamineus B.*) dapat memberikan efek terapi glomerulonefritis akut pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi streptokinase, ditandai dengan peningkatan kadar enzim *superoxida dismutase* (SOD) dan peningkatan kadar *creatinine clearance* (Ccr).

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2017 – Februari 2018, terdiri atas beberapa tahapan meliputi pembuatan ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus B.*) di Laboratorium Materia Medika, Batu Malang, tahapan perawatan, perlakuan hewan coba dan nekropsis di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, pengukuran kadar SOD dan kreatinin klirens di Laboratorium Faal Fakultas kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.2 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu kandang pemeliharaan, tutup kandang, kandang metabolit, tempat pakan, tempat minum, timbangan tikus, spuit 1cc, spuit 3 cc, sonde lambung, *glove*, masker, *mikrohematokrit*, *mikropipet*, spektrofotometer, pot organ, *disetting set*, jarum pentol, sterofom, aluminium foil, sentrifus, *vortex*, *effendorf*, tabung vacutainer, plastik clip, *yellow tip*, *blue tip*, kandang jepit, spidol, kertas label, dan *trashbag*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian meliputi hewan coba tikus putih jantan usia 8-12 minggu dengan berat badan 150-200 gram, ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus B.*), alkohol 70%, streptokinase, *ringer laktat*, aquades, NaCl fisologis, sekam, pakan, kapas, tisu, dan air minum hewan coba.

4.3 Tahapan Penelitian

Beberapa tahapan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Persiapan hewan coba
2. Rancangan penelitian
3. Variabel penelitian
4. Preparasi streptokinase
5. Pembuatan hewan model glomerulonefritis akut (GNA) dengan induksi streptokinase
6. Pembuatan ekstrak kumis kucing
7. Pemberian terapi ekstrak kumis kucing
8. Perhitungan *creatinine clearance* (CCr)
9. Preparasi dan isolasi organ ginjal
10. Perhitungan SOD dengan *spectofotometer*

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Persiapan Hewan coba

Pada persiapan hewan coba, tikus yang digunakan diadaptasikan terhadap lingkungan selama tujuh hari (Jenova, 2009) didalam Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. Tikus dibagi dalam lima kelompok perlakuan. Setiap kelompok perlakuan terdiri dari minimal empat ekor tikus. Tikus dikandangkan dalam kandang bak plastik yang dilengkapi dengan penutup bak yang terbuat dari kawat dengan jumlah maksimal dalam satu kandang

tujuh ekor. Kandang tikus yang digunakan pada tempat yang bebas dan terjaga dari asap industri serta polutan lainnya (Lamanepa, 2005).

4.4.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan coba dibagi menjadi lima kelompok perlakuan yaitu kelompok A sebagai kontrol negatif, kelompok B sebagai kontrol positif, kelompok C dengan dosis 250 mg/kg BB, kelompok D dengan dosis 500 mg/kg BB, dan E dengan dosis 750 mg/kg BB. Kelompok kontrol negatif merupakan tikus yang hanya diberikan pakan normal dan kontrol positif merupakan tikus yang diinduksi streptokinase tanpa diberikan terapi. **Tabel 4.1**

Tabel 4.1 Rancangan Penelitian

Kelompok Tikus	Perlakuan	Keterangan
Kontrol Negatif	Tikus kontrol negatif (Sehat)	Kelompok tikus tanpa diberikan perlakuan induksi streptokinase dan terapi ekstrak kumis kucing
Kontrol Positif	Tikus kontrol positif (Sakit)	Kelompok tikus yang diinduksi streptokinase 6000 IU/ekor pada hari ke-1, ke-6, dan ke-11 melalui injeksi vena coccygea dan tanpa diberikan terapi ekstrak kumis kucing
Perlakuan 1	Pemberian ekstrak kumis kucing 250 mg/kg BB pada tikus	Kelompok tikus yang diinduksi streptokinase 6000 IU/ekor pada hari ke-1, ke-6, dan ke-11 melalui injeksi vena coccygea dan diberikan terapi ekstrak kumis kucing 250 mg/kg BB

		menggunakan sonde lambung selama 14 hari
Perlakuan 2	Pemberian ekstrak kumis kucing 500 mg/kg BB pada tikus	Kelompok tikus yang diinduksi streptokinase 6000 IU/ekor pada hari ke-1, ke-6, dan ke-11 melalui injeksi vena coccygea dan diberikan terapi ekstrak kumis kucing 500 mg/kg BB menggunakan sonde lambung selama 14 hari
Perlakuan 3	Pemberian ekstrak kumis kucing 1000 mg/kg BB pada tikus	Kelompok tikus yang diinduksi streptokinase 6000 IU/ekor pada hari ke-1, ke-6, dan ke-11 melalui injeksi vena coccygea dan diberikan terapi ekstrak kumis kucing 1000 mg/kg BB menggunakan sonde lambung selama 14 hari

Sampel penelitian yang digunakan adalah hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan berumur 8-12 minggu, dengan berat badan tikus 150-200 gram. Hewan coba diadaptasikan dengan cara diaklimatisasi selama tujuh hari. Aklimatisasi ini bertujuan untuk mengkondisikan hewan dengan suasana, temperatur, dan suhu laboratorium serta menghilangkan stres akibat transportasi (Jenova, 2009). Estimasi besar sampel dihitung berdasarkan rumus: (Kusningrum, 2008)

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

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

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 20/5$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

t : Jumlah kelompok perlakuan

n : jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan diatas, maka untuk lima kelompok perlakuan diperlukan jumlah ulangan empat kali dalam setiap kelompok, sehingga diperlukan 20 ekor hewan coba.

4.4.3 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah:

1. Variabel bebas : Ekstrak kumis kucing (*Orthosiphon stamineus B.*) dan Streptokinase
2. Variabel terikat : *Creatinine clearance* (Ccr) dan SOD
3. Variabel kontrol : homogenitas tikus jantan (umur 8-12 minggu, berat badan 150-200 gram), pakan, dan kandang

4.4.4 Pembuatan Streptokinase

Dosis streptokinase yang digunakan pada hewan coba tikus adalah 6000 IU/ekor. Streptokinase dalam sediaan memiliki kandungan sebanyak 1.500.000 IU yang akan diencerkan terlebih dahulu dengan cara dilarutkan dengan *ringer laktat* sebanyak 2 mL kemudian dihomogenkan (Stock I). Setelah itu, diambil 1 mL dari stock I (mengandung 750.000 IU) dan dilarutkan dengan *ringer laktat* sampai 5 mL untuk dijadikan stock II. Selanjutnya, diambil 1 mL dari stock II (mengandung 150.000 IU) untuk dijadikan stock III untuk memperoleh sediaan 6000 IU dengan rumus perbandingan senilai sebagai berikut :

$$\begin{aligned} \text{Stock awal} &= 1.500.000 / 2\text{mL} = 750.000 \text{ mL} \\ &= 750.000 / 5 \text{ mL} = 150.000 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\
 V_1 \times 150.000 &= 6000 \times 1 \text{ mL} \\
 V_1 &= 6000 / 150.000 \\
 V_1 &= 0,04 \text{ mL} = 40\mu\text{L}
 \end{aligned}$$

Selanjutnya diambil 40 μ dari larutan stock III sesuai dengan perhitungan larutan dan ditambahkan hingga 100 μ L atau 0,1 mL untuk memudahkan injeksi vena coccygea (Lukito *dkk*, 2013).

4.4.5 Pembuatan Hewan Coba Model Glomerulonefritis Akut (GNA) dengan Induksi Streptokinase

Streptokinase diinjeksikan secara intravena pada vena coccygea (ekor) sebanyak 3 kali dengan interval lima hari (hari ke-1, hari ke-6, dan hari ke-11) dengan dosis 6000 IU/ekor sebanyak 0,1 mL pada kelompok kontrol positif, perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3 (Lukito *et al*, 2013). Hewan model dipastikan mengalami gagal ginjal akibat streptokinase melalui pengujian BUN dan kreatinin darah. Bun dan kreatinin diperiksa dari serum tikus. Kadar normal BUN pada tikus (*Rattus norvegicus*) sebesar 15-21 mg/dL dan kreatinin sebesar 0,2-0,8 mg/dL (Laksmi *et al*, 2014).

4.4.6 Pembuatan Ekstrak Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus B.*)

Tanaman kumis kucing diambil bagian daun dan dikeringkan dalam almari pengering, dibuat serbuk dengan menggunakan blender atau mesin penyerbuk. Timbang serbuk kumis kucing sebanyak 175 gram. Lakukan pembasahan dengan

pelarut etanol 70% sebanyak 1000 mL. Dimasukkan serbuk yang telah dibasahi dengan pelarut ke dalam toples dengan rapat selama 24 jam dan di shaker diatas *shaker rotator* dengan kecepatan 50 rpm. Ditampung ekstrak dalam erlenmayer, biarkan selama 24 jam diatas shaker 50 rpm. Hasil ekstrak cair diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* (proses evaporasi selama 3 jam) (Materia Medica).

4.4.7 Terapi Ekstrak Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus B.*)

Pemberian terapi dimulai pada hari ke-16 secara peroral menggunakan sonde lambung. Terapi ekstrak kumis kucing diberikan pada kelompok P1, P2, dan P3. Pemberian terapi diberikan secara rutin satu kali per hari selama 14 hari. Dosis ekstrak kumis kucing untuk setiap perlakuan yaitu 250 mg/kg BB untuk kelompok P1, 500 mg/kg BB untuk kelompok P2, dan 1000 mg/kg BB untuk kelompok perlakuan P3.

4.4.8 Perhitungan *creatinine clearance* (Ccr)

Perhitungan *creatinine clearance* (Ccr) menggunakan kadar kreatinin serum, kadar kreatinin urin, dan volume urin. Sebelum menghitung *creatinine clearance*, terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan kadar kreatinin serum dan pemeriksaan kadar kreatinin urin dengan metode kolometri dengan alat *Autoanalyzer Biosystem*. Sampel urin didapatkan dengan cara menampung urin dalam 24 jam menggunakan kandang metabolit.

Creatine clearance dapat dihitung menggunakan rumus (Bazzano *et al.*, 2015):

$$C_{cr} = \frac{U_{cr} (V_u/t)}{S_{cr}}$$

Dimana :

- U_{cr} = Kadar kreatinin dalam urin (mg/dL)
- V_u = Volume urin dieksresikan dalam 24 jam (mL)
- S_{cr} = kadar kreatinin dalam serum (mg/dL)
- C_{cr} = *Creatine clearance* (mL/menit)
- t = waktu (1440 menit)

4.4.9 Preparasi dan isolasi organ ginjal

Preparasi dan isolasi hewan coba dilakukan pada hari ke-29 setelah seluruh terapi diselesaikan. Pembedahan dilakukan dengan mengisolasi organ ginjal tikus yang berada di dalam rongga abdomen retroperitoneal primer kiri dan kanan kolumna vertebralis. Tikus dieuthanasi dengan cara dislokasi *cervicali vertebrae*, kemudian di bedah menggunakan *dissecting set* untuk mengisolasi ginjal. Organ ginjal dicuci menggunakan PBS kemudian diletakkan di tempat sampel (Wati, 2013). Pengambilan organ ginjal dilakukan untuk pemeriksaan aktivitas SOD.

4.4.10 Perhitungan SOD dengan Spektrofotometer

Pengukuran aktivitas SOD yaitu dengan memasukkan 100 mg organ ginjal ke dalam mortal dan ditambahkan 1 ml PBS, kemudian dihomogenasi dengan cara menggeruk organ ginjal. Diambil 100 μ l yang sudah dihomogenasi ke dalam

tabung *ependorf* ukuran 15 ml, dan ditambahkan xantine 100 μL , xantine oxidase 100 μL , NBT 100 μL , dan PBS sebanyak 1600 μL kemudian divorteks. Inkubasi selama 30 menit pada suhu 30 °C. Setelah diinkubasi, disentrifus dengan kecepatan 3500rpm selama 10 menit, setelah selesai, ambil supernatan sebanyak 1 mL letakkan pada kuvet, kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer *shimadzu UV-visible spectrophotometer UV-1601* pada panjang gelombang 560 nm (Destiawan, 2016).

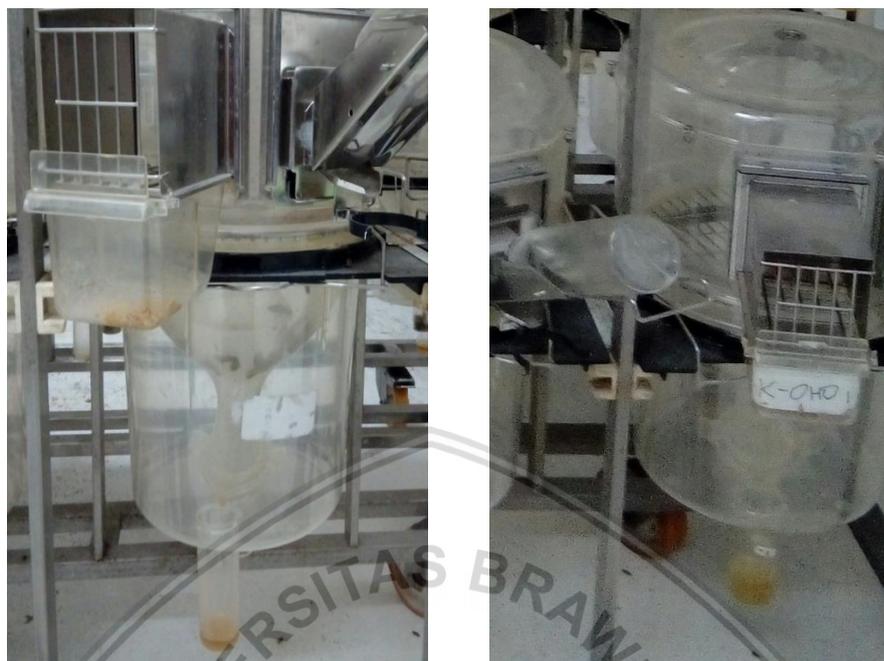
4.5 Analisa Data

Analisa data yang digunakan dalam penelitian berupa data kuantitatif aktifitas SOD dan *creatine clearance* (Ccr). Data-data ini dilakukan uji *one way ANOVA* (*Analysis of variance*) dan apabila hasil signifikan dilanjutkan dengan uji BNJ (Beda Nyata Jujur) dengan taraf kepercayaan $\alpha=0,05$.

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Gambaran Klinis Hewan Model Glomerulonefritis Akut

Gambaran klinis dari hewan model glomerulonefritis menunjukkan terjadinya oligouria. Oligouria merupakan pertanda awal terjadinya kerusakan ginjal, dimana volume urin 24 jam pada mencit kontrol positif lebih rendah dibandingkan kontrol negatif. Oligouria merupakan output urin yang kurang dari nilai volume normal dan merupakan tanda cedera ginjal akut yang ditandai dengan peningkatan kreatinin serum (McMahon *et al*, 2010). Volume urin tikus putih pada kontrol positif memiliki rata-rata mencapai 4,37 ml/24 jam yang lebih rendah dari kontrol negatif yang memiliki rata-rata mencapai 6,875 ml/24 jam. Menurut National BioResource Project, volume urin normal tikus putih galur wistar rata-rata mencapai 1,7-1,9 ml/6 jam, yang artinya dalam 24 jam volume urin tikus putih galur wistar mencapai 6,8-7,6 ml, sedangkan menurut Animal Care and Use Committee Johns Hopkins University volume urin tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar rata-rata mencapai 3,3 ml/100 gr/hari. Tikus putih yang digunakan dalam penelitian ini memiliki berat kisaran 150-200 gr, artinya volume urin rata-rata mencapai 4,95-6,6 ml/hari. Selain itu, terdapat perbedaan warna urin, dimana urin kontrol positif berwarna kuning kecoklatan yang lebih pekat dibandingkan kontrol negatif (**Gambar 5.1**). Warna pada urin dipengaruhi oleh jumlah cairan yang masuk ke dalam tubuh. Urin normal biasanya berwarna kuning bening. Semakin sedikit cairan yang masuk ke dalam tubuh maka semakin pekat warna urin (McMahon *et al*, 2010)



Gambar 5.1 Perbedaan warna urin kontrol positif (kiri) dan kontrol negatif (kanan)

Pada pemeriksaan BUN dan Kreatinin, tampak terjadi penurunan dimana pada kontrol positif nilai BUN rata-rata mencapai 23,4 mg/dl lebih tinggi dibandingkan nilai BUN kontrol negatif dengan rata-rata mencapai 17,25 mg/dl dan kreatinin kontrol positif rata-rata 1,0 mg/dl lebih tinggi dibandingkan nilai kreatinin kontrol negatif dengan rata-rata 0,55 mg/dl. Nilai normal BUN dan kreatinin masing-masing yaitu 12-22 mg/dl dan 0,38-0,8 mg/dl (Pasma, 2016). BUN (Blood Urea Nitrogen) dan kreatinin merupakan produk akhir nitrogen dari metabolisme protein yang normalnya diekskresi dalam urin yang berfungsi menentukan kegagalan fungsi ginjal (Anshar, 2015).

5.2 Pengaruh Terapi Ekstrak Daun Kumis Kucing (*Ortosiphon stamineus B.*) terhadap Kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) yang Diinduksi Streptokinase

Hewan coba untuk dapat mengalami Glomerulonefritis Akut, dapat diinduksi dengan streptokinase yang merupakan bagian antigenik dari bakteri *streptococcus sp.* Streptokinase merupakan sekret protein yang mampu mengubah plasminogen menjadi plasmin. Plasmin akan mengaktifkan sistem komplemen sehingga akan terjadi reaksi komplemen C3 yang memicu pengeluaran monosit dan neutrofil yang membentuk makrofag (Pardede, 2009).

Sistem komplemen yang teraktivasi adalah C3 dan C5a yang berperan sebagai respon antiinflamasi. Aktifitas C3 akan menghasilkan anafilatoksin yang menstimulasi protein kontraktile dalam pembuluh darah dan meningkatkan permeabilitas vaskuler, sedangkan aktifitas C5a akan menginduksi pelepasan neutrofil yang berperan meningkatkan permeabilitas kapiler ginjal dan memicu kenaikan IL-1. Interleukin-1 berperan dalam kemotaktik neutrofil yang mengakibatkan keluarnya neutrofil yang diikuti migrasi dari basofil, eosinofil dan makrofag ke tempat terjadinya aktivasi komplemen (Collen, 2008). Selain itu, terjadi juga aktivasi jalur komplemen terminal dan pembentukan C5-9 terminal. Kompleks komplemen terminal menggambarkan kemampuan untuk menstimulasi produksi substansi vasoaktif, enzim proteolitik, dan radikal bebas yang semuanya akan merusak integritas membran kapiler ginjal (Pardede, 2009).

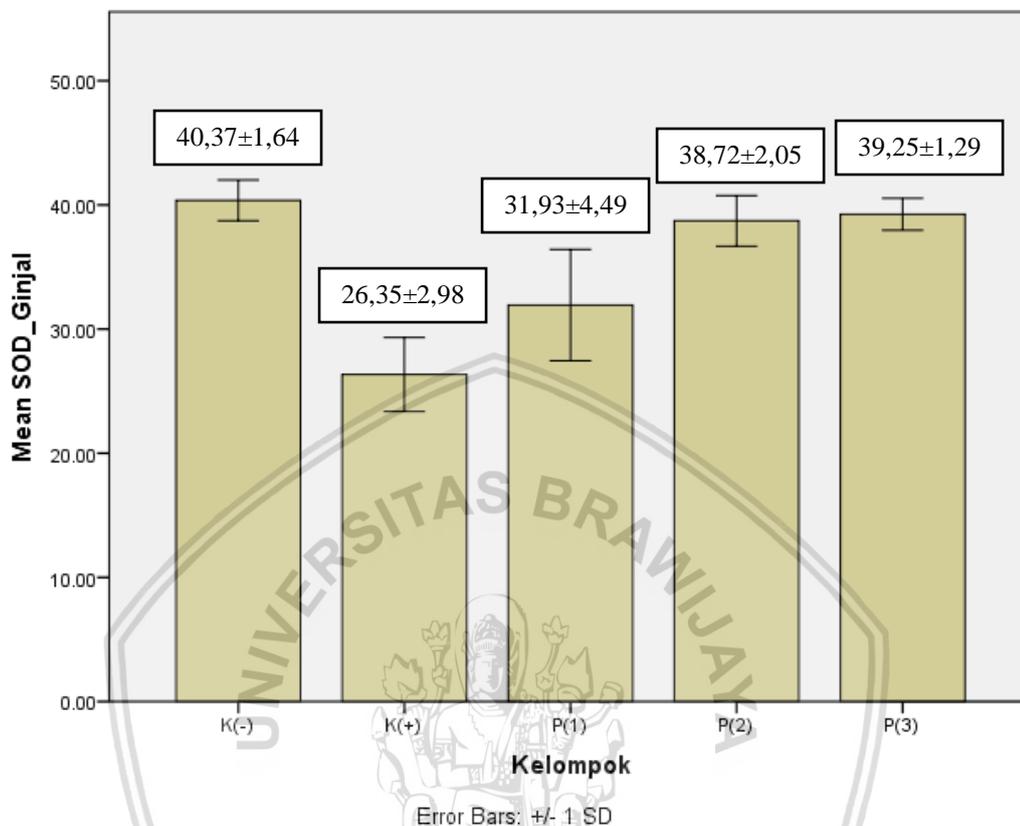
Superoxid dismutase (SOD) merupakan enzim intrinsik yang mengkatalis radikal superoksida menjadi oksigen dan hidrogen peroksida. Fungsi enzim ini yaitu melindungi jaringan dan sel dari stres oksidatif dan radikal bebas (Ratllif *et al.*, 2016). Analisa kadar SOD dilakukan berdasarkan pada penghambatan reduksi

ferisitokrom c oleh anion superoksida yang berasal dari oksidasi *xantin* atau *xantin oksidase*. Reduksi ferisitokrom c menjadi sitokrom C, diamati berdasarkan nilai absorbansi pada panjang gelombang 550 nm (Rahmawati, 2014).

Data yang diperoleh dari hasil perhitungan kadar SOD pada ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinduksi streptokinase dan diberi perlakuan ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus B.*) dengan dosis 250 mg/kg BB, 500 mg/kg BB, dan 1000 mg/kg BB dapat dilihat pada **lampiran 9**.

Pada penelitian ini, hasil pengukuran kadar SOD tikus putih yang mengalami GNA berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas dibuktikan bahwa data terdistribusi tidak normal ($<0,05$) namun homogen ($>0,05$) (**Lampiran 11**) sehingga tidak dapat dilanjutkan dengan uji *OneWay* ANNOVA. Dalam hal ini, uji lanjutan digantikan dengan menggunakan uji Kruskal Wallis. Setelah diuji Kruskal wallis, hasil menunjukkan bahwa ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon staineus .B*) yang diberikan pada tikus putih hasil induksi streptokinase dapat meningkatkan kadar SOD secara signifikan ($p>0,05$) (**Lampiran 9**). Secara statistik dapat dinyatakan bahwa H_0 ditolak dan H_1 diterima, sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh terapi ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon staineus .B*) yang diberikan pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) hasil induksi streptokinase ditinjau dari kadar *superoxide dismutase* (SOD) dimana semua kelompok perlakuan menunjukkan nilai standar deviasi yang lebih rendah dibandingkan *mean*. Hal ini mencerminkan penyimpangan data yang rendah. Nilai *mean* dan standar deviasi kadar SOD dapat dilihat pada **gambar 5.2**.

N4



Gambar 5.2 Histogram nilai *mean* dan standar deviasi *Superoxide Dismustase* (SOD) Ginjal

Keterangan: K(-) = kontrol negatif, K(+) = kontrol positif, P(1) = Terapi dengan dosis 250 mg/kg BB, P(2) = Terapi dengan dosis 500 mg/kg BB, P(3) = Terapi dengan dosis 1000 mg/kg BB.

Berdasarkan hasil uji *Mann withney* didapatkan hasil antar kelompok terapi P1 (250 mg/kg BB), P2 (500 mg/kg BB), dan P3 (1000 mg/kg BB) memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (K+) ($p < 0,05$) (**Lampiran 11**). Berikut ini rata-rata dan standar deviasi SOD dapat dilihat pada **Tabel 5.2**.

Tabel 5.1 Rata-Rata, Standar Deviasi, dan Hasil Uji *Mann Whitney* SOD Ginjal

Perlakuan	Rata-Rata SOD \pm SD	Penurunan Terhadap Kontrol Positif (%)	Peningkatan Terhadap Kontrol Positif (%)
Kontrol negatif (K-)	40,37 \pm 1,64 ^c	53,21%	-
Kontrol positif (K+)	26,35 \pm 2,98 ^a	-	-
Dosis terapi 250 mg/kg BB (P1)	31,93 \pm 4,49 ^b	-	21,18%
Dosis terapi 500 mg/kg BB (P2)	38,72 \pm 2,05 ^c	-	46,94%
Dosis terapi 1000 mg/kg BB (P3)	39,25 \pm 1,29 ^c	-	48,96%

Keterangan= notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan antar perlakuan ($p < 0,05$).

Pada nilai kontrol negatif (K-) menunjukkan berbeda nyata (tidak signifikan) terhadap kontrol positif (K+) dimana kadar SOD mengalami penurunan sebesar 53,21%. Penurunan ini dapat terjadi diakibatkan oleh jumlah radikal bebas yang meningkat sehingga mengurangi efektifitas pemanfaatan antioksidan didalam tubuh. Menurut Maslachah *dkk* (2008), ketidakseimbangan antara pembentukan radikal bebas dan antioksidan dapat menimbulkan keadaan stress oksidatif yang menyebabkan kerusakan sel.

Penurunan kadar SOD dalam tubuh terjadi karena peroksidasi lipid mengakibatkan hilangnya integritas dan permeabilitas membran. Hilangnya permeabilitas mengakibatkan terjadinya penangkatan kalsium intraseluler. Kalsium intraseluler berlebih yang mengaktifkan enzim fosfolipase yang menguraikan fosfolipid membran menjadi asam arakhidonat (Kumar dan Abbas, 2006). Asam arakhidonat akan dikonversi oleh 2 enzim yaitu enzim

siklooksigenase-2 yang menghasilkan prostaglandin dan lipooksigenase leukotrin, dimana dalam proses tersebut akan terbentuk radikal bebas (Prayoga, 2008).

Pada nilai rata-rata P1 terdapat perbedaan yang signifikan baik pada kontrol positif (K+) maupun kontrol negatif (K-). Perbedaan tersebut memperlihatkan bahwa P1 terjadi peningkatan kadar SOD sebesar 21,18%, namun tidak dapat mendekati kontrol negatif. Hal ini dapat disebabkan oleh dosis yang digunakan masih rendah, sehingga dosis tersebut kurang mampu memberikan efek nyata. Pernyataan ini sesuai dengan Destiawan (2016) bahwa untuk mendapatkan hasil yang sesuai dibutuhkan dosis yang tepat.

Pada nilai rata-rata P2 dan P3 menghasilkan perbedaan signifikan terhadap kontrol positif (K+). Besaran presentase peningkatan P2 dan P3 terhadap kontrol negatif (K-) yaitu masing-masing 46,94% dan 48,96% yang secara statistik tidak berbeda nyata dengan kontrol negatif (signifikan). Hal ini disebabkan oleh adanya senyawa flavanoid yang terdapat pada ekstrak daun kumis kucing yang memiliki fungsi sebagai antioksidan yang bekerjasama dengan enzim SOD untuk menurunkan dan menghambat radikal bebas yang berada didalam tubuh. Menurut Widyastuti dan Nyoman (2012) menyatakan bahwa flavanoid memiliki kemampuan untuk melindungi sel dari serangan stress oksidatif sehingga tidak terbentuk peroksida lipid yang berkepanjangan. Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan dalam menangkal radikal bebas yaitu dengan menghambat kerja enzim yang terlibat dalam reaksi produksi anion superoksida dan melepaskan

atom hidrogen dari gugus hidroksil yang akan mengikat radikal bebas sehingga kerusakan jaringan dapat terminimalisir (Prayoga, 2010).

Selain flavanoid, saponin dan alkaloid juga memiliki fungsi sebagai antioksidan yang mampu membantu dalam menghambat radikal bebas (Astuti, 2012). Menurut Shelkea *et al* (2011) alkaloid terbukti memiliki efek inhibisi yang kuat terhadap peroksidasi lipid pada isolasi jaringan dengan cara meningkatkan enzim superoksida dismutase (SOD).

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa Perlakuan P2 dengan dosis 500 mg/kg BB dan Perlakuan P3 dengan dosis 1000 mg/kg BB dari ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus B.*) memiliki efek terapi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dalam peningkatan kadar SOD dan dapat digunakan sebagai terapi GNA yang ditandai dengan peningkatan kadar SOD.

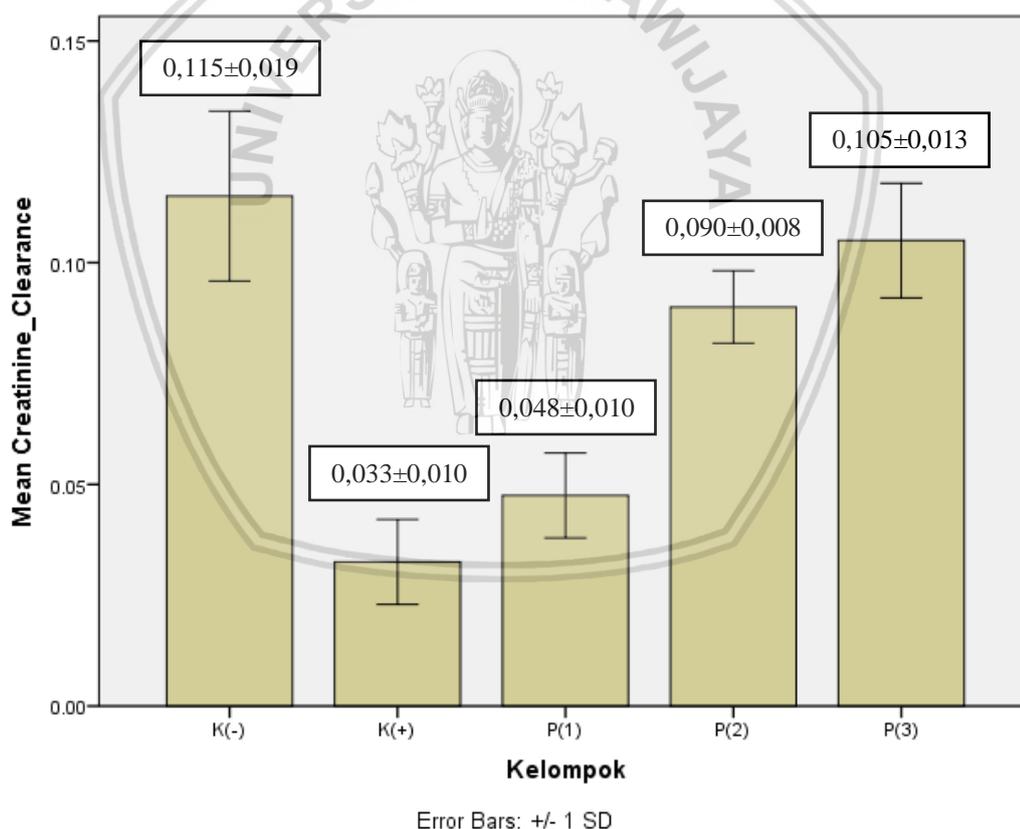
Efek antiinflamasi dan antioksidan dari senyawa daun kumis kucing juga dapat menekan reaksi inflamasi, sehingga dapat menurunkan kompleks antigen-antibodi didalam membran kapiler glomerulus. Penurunan kompleks antigen-antibodi dapat menurunkan aktivasi pembentukan C3 dan C5a. Selain itu, dapat menyebabkan aktivasi komplemen tahap akhir yang menghasilkan C5b-C9 (MAC) dan menurunkan aktifitas radikal bebas dan enzim matrix metalloproteinase (Pardede, 2009). Kondisi ini dapat memperbaiki matriks ekstraseluler glomerulus.

5.3 Pengaruh Terapi Ekstrak Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus B.*) terhadap *Creatinine Clearance* (Ccr) yang Diinduksi Streptokinase

Creatinine clearance (Ccr) merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mengukur kadar kreatinin yang difiltrasi di glomerulus yang secara tidak langsung dapat mengukur laju filtrasi glomerulus. Tinggi rendahnya kadar *creatinine clearance* memberikan gambaran tentang berat ringannya kerusakan glomerulus (Levey *et al*, 2008). Bezzano *et al* (2015) menyatakan bahwa kadar Ccr dapat diukur melalui kadar kreatinin serum, kreatinin urin, dan volume urin tampung selama 24 jam. Hal ini berkaitan dengan kreatinin yang merupakan hasil konversi keratin dari produk pemecahan fosfokeratin di otot secara non enzimatik dan dilepaskan ke dalam darah dalam jumlah konstan dalam waktu 24 jam. Kreatinin pada keadaan normal tidak disekresikan maupun diserap kembali oleh tubulus tetapi difiltrasi oleh glomerulus dan dieksresikan dalam waktu 24 jam (Mentari, 2016). Setelah melakukan pengukuran terhadap kadar kreatinin serum, kreatinin urin, dan volume urin, maka Ccr dapat dihitung menggunakan rumus $Ccr = \frac{\text{kreatinin urin} \times (\text{volume urin/waktu})}{\text{kreatinin serum}}$ (Bezzano *et al*, 2015). *Creatinine clearance* dilaporkan dalam mL/menit (Verdiansah, 2016).

Pada penelitian ini, hasil pengukuran Ccr tikus putih yang mengalami GNA berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas dibuktikan bahwa data terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$) (**Lampiran 12**) sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *OneWay* ANNOVA. Uji *OneWay* ANNOVA menunjukkan bahwa ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus B.*) yang diberikan pada tikus putih hasil induksi streptokinase dapat meningkatkan kadar Ccr secara

signifikan ($p > 0,05$) (**Lampiran 12**). Secara statistik dapat dinyatakan bahwa H_0 ditolak dan H_1 diterima, sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh terapi ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus .B*) yang diberikan pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) hasil induksi streptokinase ditinjau dari kadar *creatinine clearance* (Ccr) dimana semua kelompok perlakuan menunjukkan nilai standar deviasi yang lebih rendah dibandingkan *mean*. Hal ini mencerminkan penyimpangan data yang rendah. Nilai *mean* dan standar deviasi kadar Ccr dapat dilihat pada **gambar 5.3**.



Gambar 5.3 Histogram nilai *mean* dan standar deviasi *Creatinine Clearance* (Ccr)

Keterangan: K(-) = kontrol negatif, K(+) = kontrol positif, P(1) = Terapi dengan dosis 250 mg/kg BB, P(2) = Terapi dengan dosis 500 mg/kg BB, P(3) = Terapi dengan dengan dosis 1000 mg/kg BB.

Berdasarkan hasil *Post Hoc* dengan uji Tukey didapatkan hasil bahwa kelompok terapi P1 (250 mg/kg BB), P2 (500 mg/kg BB), dan P3 (1000 mg/kg BB) memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol positif (K+) ($p < 0,05$) (**Lampiran 12**). Berikut ini rata-rata dan standar deviasi *creatinine clearance* dapat dilihat pada **Tabel 5.2**.

Tabel 5.2 Rata-Rata, Standar Deviasi, dan Hasil Uji *Tukey Creatinine Clearance*

Perlakuan	Rata-Rata Ccr \pm SD	Penurunan Terhadap Kontrol Positif (%)	Peningkatan Terhadap Kontrol Positif (%)
Kontrol negatif (K-)	0,115 \pm 0,019 ^b	248,48%	-
Kontrol positif (K+)	0,033 \pm 0,010 ^a	-	-
Dosis terapi 250 mg/kg BB (P1)	0,048 \pm 0,010 ^a	-	45,45%
Dosis terapi 500 mg/kg BB (P2)	0,090 \pm 0,008 ^b	-	172,73%
Dosis terapi 1000 mg/kg BB (P3)	0,105 \pm 0,013 ^b	-	218,18%

Keterangan= notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan antar perlakuan ($p < 0,05$).

Nilai kontrol positif (K+) memiliki nilai rata-rata Ccr lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrol negatif (K-), dimana Ccr mengalami penurunan sebesar 248,48%. Hal ini sesuai dengan studi *The kidney Disiese Education Program* yang menyatakan penurunan *creatinine clearance* dapat terjadi dalam keadaan glomerulonefritis yang disebabkan kegagalan fungsi sekresi kreatinin, sehingga aliran darah ke ginjal menurun dan semakin sedikit kreatinin yang dapat difiltrasi oleh ginjal (Chadban, 2009). Kreatinin merupakan hasil katabolisme dari keratin yang merupakan produk pemecahan fosfokeratin di otot secara non

enzimatik. Produksi harian keratin bergantung terhadap massa otot dengan nilai yang relatif sedikit perubahannya dan akan dilepaskan ke dalam darah dalam jumlah konstan tanpa perubahan yang signifikan (Pasma, 2016).

Pada nilai P1 terdapat perbedaan signifikan dimana terjadi peningkatan kadar Ccr sebesar 45,45% terhadap kontrol positif (K+), namun peningkatan belum mampu mendekati kontrol negatif. Hal ini dapat disebabkan oleh dosis yang digunakan masih rendah, sehingga dosis tersebut kurang mampu memberikan efek nyata. Pernyataan ini sesuai dengan Destiawan (2016) bahwa untuk mendapatkan hasil yang sesuai dibutuhkan dosis yang tepat.

Pada nilai P2 dan P3 menghasilkan perbedaan yang signifikan terhadap kontrol positif (K+) dimana terdapat peningkatan kadar Ccr masing-masing sebesar 172,73% dan 218,18% yang tidak berbeda nyata dengan kontrol negatif (K-). Hal ini disebabkan oleh adanya kandungan senyawa terpenoid yang memiliki efek nefroprotektif (Kannapan, 2010). Menurut Shelkea *et al* (2011) mekanisme efek nefroprotektif daun kumis kucing diduga saling terikat dengan mekanisme flavonoid. Pemberian flavonoid dapat meningkatkan glomerular filtration rate (GFR). Peningkatan GFR pada ginjal akan meningkatkan ekskresi terhadap ureum dan kreatinin sehingga kadar ureum dan kreatinin darah menurun (Jouad *et al*, 2008).

Menurut Rita *dkk* (2013) flavonoid merangsang aktivitas enzim detoksifikasi fase 2 yang mengkatalisis proses untuk mengeluarkan senyawa-senyawa kimia yang berpotensi toksik atau karsinogenik. Flavonoid juga dapat menurunkan proses inflamasi dan menjaga regulasi siklus sel normal dengan

menghentikan siklus dari sel yang rusak sehingga tubuh memiliki waktu untuk memperbaiki atau menghancurkan sel rusak tersebut sebelum berproliferasi (Jouad *et al*, 2008).

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa Perlakuan P2 dengan dosis 500 mg/kg BB dan Perlakuan P3 dengan dosis 1000 mg/kg BB dari ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus B.*) memiliki efek terapi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dalam peningkatan Ccr dan dapat digunakan sebagai terapi GNA yang ditandai dengan peningkatan *Creatinine clearance*.

Penelitian ini juga membuktikan bahwa streptokinase dapat menyebabkan kerusakan pada glomerulus yang berakhir pada terjadinya Glomerulonefritis. Binjol (2011) menyatakan bahwa kerusakan sel akibat glomerulonefritis akut sering menyebabkan kerusakan pada sel glomerulus, sedangkan sel lain seperti sel tubulus jarang terjadi kerusakan. Kerusakan sel pada glomerulus disebabkan efek streptokinase yang bersifat nefrotoksik (Chen, 2012). Kerusakan glomerulus juga dapat disebabkan karena adanya mekanisme imunologis didalam glomerulus (Trihono *dkk.*, 2008). Mekanisme imunologis tersebut membentuk kompleks antigen-antibodi akibat induksi streptokinase yang merupakan bagian antigenik dari bakteri *Streptococcus sp.* yang bersirkulasi dan mengendap disepanjang membran basal glomerulus yang menyebabkan kerusakan glomerulus sehingga mengganggu fungsi glomerulus (Pardede, 2009). Glomerulus berfungsi dalam penyaringan sisa metabolisme dan cairan dari darah. Penumpukan kompleks imun yang terjadi dikapiler glomerulus mengakibatkan tekanan darah diglomerulus

meningkat empat kali lebih tinggi daripada tekanan darah dikapiler tempat lain, sehingga darah dan protein masuk ke dalam urin (Madaio and Harrington, 2008).

Terjadinya peningkatan *Creatinine clearance* diakibatkan kreatinin yang seharusnya pada keadaan normal tidak disekresikan maupun diserap kembali terdapat dalam darah. Glomerulus yang mengalami kerusakan tidak dapat menjalankan fungsinya dalam memfiltrasi dan mereabsorpsi sehingga terjadi ketidakseimbangan kreatinin dalam darah dan urin.



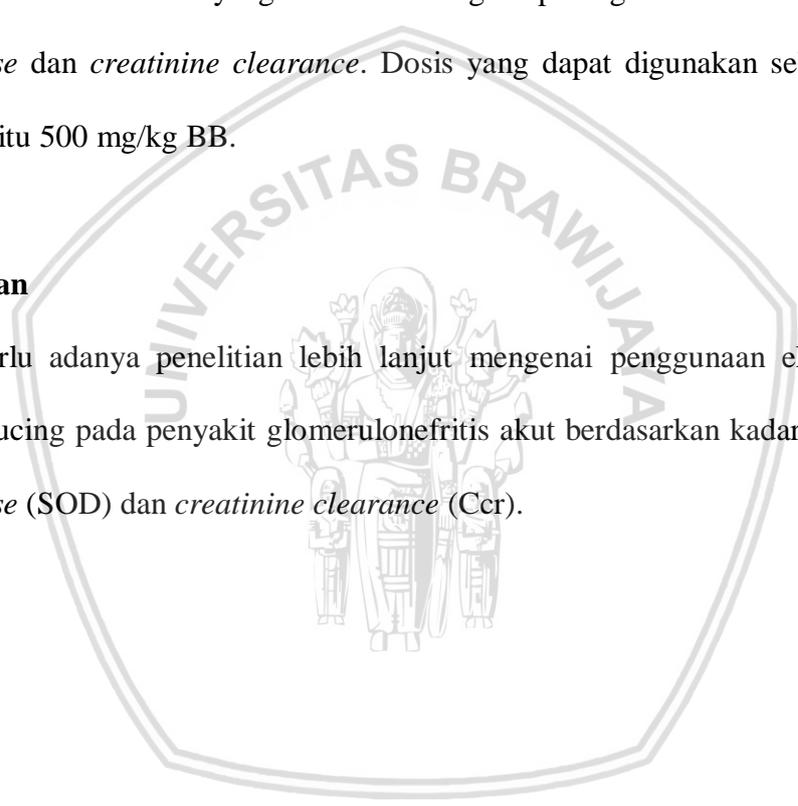
BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus B.*) dapat digunakan sebagai terapi glomerulonefritis akut yang ditandai dengan peningkatan kadar *superoxide dismutase* dan *creatinine clearance*. Dosis yang dapat digunakan sebagai terapi GNA yaitu 500 mg/kg BB.

6.2 Saran

Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan ekstrak daun kumis kucing pada penyakit glomerulonefritis akut berdasarkan kadar *superoxide dismutase* (SOD) dan *creatinine clearance* (Ccr).



DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi sebagai Bahan Antifertilitas*. Adabia Press, Jakarta. 4-5.
- Albar, H., and S. Rauf. 2005. The profile of acute glomerulonephritis among Indonesian children. *Paediatrica Indonesiana*. 45(11) : 264–269.
- Alpers, A. 2013. *Buku Ajar Pediatri Rudolp*. Edisi 20. Jakarta: EGC
- Anshar, A.R. 2015. Pengaruh Pemberian Jus Buah Alpukat Terhadap Gambaran Kadar *Blood Urea Nitrogen* (Bun) dan Serum Kreatinin pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) yang Diinduksi Meloxicam Dosis Toksik Tesis]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Hasannudin.
- Astuti, V.C.Y. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus*) Terhadap Penurunan Glukosa Darah Tikus Wistar yang Di Induksi Aloksan. *Dalam : Karya Tulis Ilmiah*. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro.
- Baradero, M., W.D Mary., Siswadi. 2009. *Klien Gangguan ginjal: Seri Asuhan Keperawatan*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Beacon Pharmaceuticals. 2009. *Streptokinase*. <http://www.medicines.org.uk/emcmobile/medicine/26903/spc>. [Diakses Pada Tanggal 18 September 2017].
- Bazzano, T., Tamy, I.R., Leni, C.P., Albert S.S., Iandara, S.S. 2015. Renal Biomarkers of Male and Female Wistar Rats (*Rattus Norvegicus*) Undergoing Renal Ischemia and Reperfusion. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 30 (4): 277-288.
- Bhimma, R. 2015. *Acute Poststreptococcal Glomerulonephritis*. <http://www.emedicine.medscape.com>. [Diakses Pada Tanggal 16 September 2017].
- Bijol, V. 2011. *Postinfectious Glomerulonephritis acute diffuse proliferative*. http://www.renaldigest.com/cgi-bin/nephrology/preview?ADD=0&LESION_ID=20&BOOK_ID=1&POST=toe [Diakses Pada Tanggal 13 Meret 2018].
- Brown, S.C. 2013. Glomerular Disease in Small Animals; Noninfectious Diseases of the Urinary System in Small Animals. *Review: Merck Veterinary Manual*
- Chen, J. 2012. EGFR Signaling Promotes TGFb-Dependent Renal Fibrosis. *J Am Soc Nephrol*. 23:215-224

- Cho, M.H. 2010. Renal fibrosis. *Korean journal nephrology*, 207:737-740
- Coca, S.G., B. Yusuf., M.G. Shlipak., A.X. Gary., and C.R Parikh. 2009. Long Term Risk of Mortality and Other adverse Outcomes After Acute Kidney Injury: a Systemic Review and Meta-Analysis. *Journal Kidney*. 53: 961-973
- Collen, D. 2001. Role of The Plasminogen System in Fibrin-homeostasis and Tissues Remodeling. *Hematology*: 1-9
- Dellman, H.D. and J.A. Eurel. 2006. *Textbook of Veterinary Histology*. 6th Edition. USA: Blackwell Publishing
- Desai, P.B., S. Manjunath, S. Kadi., K. Chetana, and J. Vanisheree. 2010. Oxidative Stress and Enzymatic Oxidation Status in Rheumatoid Arthritis: A Case Control Study. *European Review for Medical and Pharmacological Science*, 14:950-967
- Destiawan, R.A. 2016. Pemberian Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) pada Mendit (*Mus musculus*) Model Glomerulonefritis Akut Hipersensitif Tipe III Terhadap Kadar Malonaldehid (MDA) dan Aktifitas Superoksida Dismutase (SOD) [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.
- Dwiyana, Y. dan D.A.W. Astrawinata. 2014. Perubahan Bentuk Eritrosit di Glomerulonefritis. Departemen Patologi Klinik, FKUI-RSCM. *J Clinical Pathology and Medical Laboratory*. 242-248
- Eroschenko, V.P. 2010. *Atlas Histologi Difiore dengan Korelasi Fungsional*. EGC: Jakarta.
- Fenty. 2010. Laju Filtrasi Glomerulus Pada Lansia Berdasarkan Tes Klirens Kreatinin dengan Formula Cockcroft-Gault, Cockcroft-Gault Standarisasi, dan Modification Renal Disease. *Jurnal Penelitian*. 13 (2): 217-225
- Greetha, D. 2005. *Postreptococcal Glomerulonephritis*. <http://emedicine.medscape.com/artikel/240337-overview#a5>. [Diakses Pada Tanggal 28 Oktober 2017]
- Jenova, R. 2009. Uji toksisitas Akut yang Diukur dengan Penentuan LD50 Ekstrak Herbal Putri Malu (*Mimosa pudica L.*) Terhadap mencit BALB/C [Tesis]. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang.. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang.

- Jouad, H., M.A Lacaille-Dubois, B. Lyoussi, and M. Eddouks. 2001. Effects Of The Flavanoids Extracted From *Spergularia Purpurea* Pers. On Arterial Blood Pressure and Renal Function in Normal And Hypertensive Rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 72(2): 159-163.
- Hilmanto, D. 2007. Pandangan Baru Pengobatan Glomerulonefritis. *Sari Pediatri*, 9(1).
- Horeb, M. 2005. Etiopatogenesis Glomerulonefritis Akut Pasca Streptococcus [Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Kristen Maranata
- Hu, K.M.M. and L. Youhua. 2008. Novel Action of Tissue-Type Plasminogen Activatir in Chronic Kidney disease. *Journal Frontilers in Biosciens*, 13:5174-5186).
- Kumar, M. Dan F. Abbas. 2006. *Kerusakan Seluler: Dasar Patologi Penyakit*. EGC. Jakarta
- Kumar, V., R.S.. Cotran, S.L. Robbins. 2013. *Buku Ajar Patologi Robbins Ed 7*. Vol 1. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Kusningrum. 2008. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Kusuma, A.F. 2014. Efek ekstrak Etanol Daun Kumis Kucing (*Orthossiphon stamineus*) terhadap Ginjal Mencit (*Mus musculus*) yang Terpapar Logam *Plambum* (Pb) [Skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret.
- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Universitas Gadjah Mada: Yogyakarta. 12-13
- Lamanepa, M.E.L. 2005. Perbandingan Profil Lipid dan Perkembangan Lesi Asterosklerosis pada Tikus Wistar yang Diberi Diet Perasan Pare dan Statin [Tesis]. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Laksmi, N.L.G.M.C., I.K.A. Dada., dan I.M. Damriyasa. 2014. Bioaktivitas Ekstrak daun tapakdara (*Cathanthus roseus*) terhadap Kadar Kreatinin dan Kadar Ureum darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Buletin Veteriner Udaya*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Udayana, Bali.
- Lau, K.K. and R.J. Wyatt. 2005. Glomerulonephritis. Division of Pediatric Neprology, Departement of Pediatrics. University of Tennessee Health Sciences Center. USA. Elsevier Saunders. *Journal of Adolescent Medicine Clinics*. 16:16-85

- Levey, A.S., Coresh, J., Balk, E., Kausz, A., and Steffes, M.W. 2003. National Kidney Foundation practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification, and Stratification. Jakarta : EGC 139: 137-147
- Lumbanbatu, S.M. 2003. Glomerulonefritis Akut Pasca Steptokokus pada Anak. *J Sari Pediatri*, 5(2): 58-63
- Lukito, P.F., Aullani'am, dan D. Winarso. 2013. Studi Ekstpresi *E-Cadherin* dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus (*Rattus norvegicus*) Fibrosis Ginjal Pasca Induksi Streptokinase. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 1-10
- Madaio, M.P. and J.T. Harrington. 2001. The Diagnosis of Glomerular Disease: Acute Glomerulonefritis and Nephrotic Syndrome. *Arch Intern Med.*, 161 (1): 25-34
- Maslachah, L., S. Rahmi, K. Rahma. 2008. Hambatan Produksi Reactive Oxygen Species radikal Superoksida (O₂⁻) oleh Antioksidan Vitamin E (α -tocopherol) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Menerima Stressor Renjatan Listrik. *Media kedokteran Hewan* 24 (1).
- Mayer , Welsh And Kowalak. 2011. *Buku Ajar Patofisiologi*. Jakarta: EGC.
- McMahon, B.A., D. Phelan., P.T. Murray. 2010. *Oligourian and Anuria Acute Kidney Injury*. European Society of Intensive Care Medicine. Belgia.
- Mentari, D.U. 2016. Efek Terapi Ekstrak Etanol Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) pada Mendit (*Mus musculus*) Model Glomerulonefritis Akut Hipersensitif Tipe III Terhadap *Creatinine Clearance* (Ccr) dan Histopatologi Glomerulus [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.
- Mun'im, A., and E. Hanani. 2011. *Fitoterapi Dasar*. Jakarta : Dian Rakyat.
- Nidjveidt, R.J., Nood, E., Hoorn, D.E. 2001. Flavanoids: a Review of Probable Mechanisms of and Potential Applications. *Am J Clin Nutr.* 74: 418-425.
- Nurjannah, S. 2016. Pengaruh Terapi Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana*) Terhadap Ekspresi iNOS dan Gambaran Histopatologi Glomerulus Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Glomerulonefritis Hasil Induksi Streptokinase [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.
- Pardede, S.O. 2004. Struktur Sel Streptolulus dan patogenesis Glomerulonefritis Akut Pascastreptokokus. *Sari Pediatri*, 11(1): 56-65
- Pasma, A.F.N. 2016. Pengaruh Minuman Berenergi terhadap terjadinya Penyakit Ginjal Kronis pada Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) dengan

Marker Imunohistokimia α -Smooth Muscle Actin [Skripsi]. Fakultas Farmasi. Universitas Airlangga.

Pattanayak, P., P. Behera., D. Das., and S.K. Panda. 2010. Ocimum Sanctum Linn a Reservoir Plant for theurapeutic Applications: An Overview. *Journal Pharmacol Rev*, 4(7):95-105

Plotnick, A. 2015. Glomerulonephritis in Cat. <http://www.petplace.com>. [Diakses tanggal 16 September 2017]

Prasmono, D.I.M., 2016. *Studi Efikasi Ekstrak Buah Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa) terhadap Produksi TNF- α dan TGF- β pada Mendit (Mus musculus) Glomerulonefritis Akut Hipersensitif Tipe III Induksi Streptokinase* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.

Price, S.A. and L. M. Wilson. 2002. *Pathophysiology Clinical Concepts of Disease Procedure*. Penerjemah: Anugrah P. Jakarta:EGC.

Putra, K.W.N. 2013. Pengaruh Pemberian Ekstrak Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa*) Terhadap Gambaran Makroskopis Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jalur *Sprague Dawley* yang Diinduksi Rimfampisin [Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Lampung.

Rahmadi, D. 2010. Diagnosis dan Penatalaksanaan Glomerulonefritis Akut. Fakultas Kedokteran. Universitas padjajaran.

Rahmawati, G., F.N Rachmawati., dan H. Winarsi. 2014. Aktivitas Superoksida Dismutase Tikus Diabetes yang Diberi Ekstrak Batang Kapulaga dan Glibenklamid. *Scripta Biologica*. 3(1):197-201.

Reynetson, K.A. 2007. Phytochemical Analysys of Bioactive Constituens from Edible myrtaceae Fruit, Dissertation. The City of New York. New York.

Rita., Indri, K., Sri, W. 2013. Uji Aktivitas Nefroprotektif Fraksi Metanol Daun Kesum (*Polygonum Minus* Huds.) Pada Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi *Cisplatin*. *Jurnal Farmasi*. 1-10.

Sacher, A. 2004. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium Edisi ke-11*. Buku Ajar Kedokteran EGC. Jakarta

Setorini, Y. 2012. Deteksi Secara Imunohistokimia Imunoglobulin A (Ig A) pada Usus Halus yang Diberi Bakteri Asam Laktat (BAL) dan Enteropatogenik *Escherichia coli* (EPEC) [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.

- Setyawan, W.E. 2015. Terapi Ekstrak etanol Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) Terhadap Kadar Malonaldehid dan Histopatologi Ginjal Tikus (*Rattus norvegicus*) Hasil Induksi Streptokinase [Skripsi]. Fakultas kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.
- Shelkea, T.T., Bhaskarb, V.H., Adkara, P.P., Jhaa, U., Oswala, R.J. 2011. Nephroprotective Activity Of Ethanolic Extract Of Stem Barks Of Crataeva Nurvala Buch Ham. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2(10): 2712-2717.
- Siska., H. Sunaryo., dan Jamaliah. 2012. Pemanfaatan Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon spicatus* B.B.S) sebagai Antiglaukoma. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. 17(1):16-20
- Smith, J.M., M.K. Faizan, and A.A. Eddy. 2003. *The Child with Acute Nephritic Syndrome*. In: Webb NAJ, Postlethwaite RJ, penyunting. *Clinical Paediatric Nephrology*, edition 3th. Oxford: Oxford University Press. h. 367-79.
- Tara, A.T. 2016. Studi Kadar high Density Lipoprotein (HDL) dan Aktifitas Superoxid Dismutase (SOD) Hewan Model Tikus (*Rattus Novergicus*) Hiperlipidemia hasil Induksi Dexamethasone yang Diterapi Dengan Ekstrak Krokot (*Partulaca oleracea*) [Skripsi]. Universitas Brawijaya
- Tjay, T. H., dan Rahardja, K. 2007. *Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya*. Edisi ke VI. Jakarta: PT Elex Media Komputindo: hal. 193
- Todd, J.K. 2004. Streptococcal Infection. Dalam: Avner, E.D., W.E. Katz S.L. *Krugman's infection disease of children*. 11st Edition. Philadelphia: Mosby Inc. 641-654
- Toufeksian, M.C., Lorngeril, M., Nagy, N., Salen, O., Donati, M.B., Giordano, L., Mocl, H.P., Peterek, S., Matrol, A., Petroni, K., Pilu, R., Rptoliu, D., Torelliu, C., Leiris, J., Boucher, F., Martin, C. 2008. Chronic Dietary Intake of Plants-Derived Anthocyanins Protects the Rat Heart Against Ischemia. *Journal Nurt*. 138: 747-752.
- Trihino P.P., A. Latas, T. Tambunan. S.O. Pardede. 2008. *Konsensus Tatalaksana Sindroma Nefrotik Pada Anak*. Edisi ke-2. Jakarta: UKK Nefrologi IDAI. Halaman 1-21
- Vinen C.S. and D.B.G Oliveira. 2003. Acute Glomerulonefritis. *Postgrad Medicine Journal*, 79:206-213
- Verdiansah. 2016. Pemeriksaan Fungsi Ginjal. *Cermin Dunia Kedokteran*, 43 (2):148-152

Yam, M.F., L.F. Ang, R. Basir, I.M. salman O.Z. Ameer, and M.Z. Asmawi. 2009. Evaluation of the Antipyretic Potential of *Orthosiphon stamineus benth.* Standadized Extract. *J Inflammopharmacol*, 17:50-54

