

Pemberian Hidrolisat Protein Kacang Polong Terhadap Kadar Superoksida Dismutase dan Perbaikan Kerusakan Ginjal Tikus Laboratorium

Jeanny E Ladi, David Kristiadi Herjanto, Roro Wahyudianingsih, Meilinah Hidayat

Universitas Kristen Maranatha, Bandung, Indonesia
 Alamat Korespondensi: mellahidayat@yahoo.com

Abstrak

Antioksidan merupakan substansi yang dapat mencegah kerusakan sel akibat stres oksidatif. Hidrolisat protein dari kacang polong hijau (*Pisum sativum*) dengan bromelain (HPPHB) diharapkan meningkatkan kadar antioksidan *superoxide dismutase* (SOD) dan mampu mencegah kerusakan ginjal. Tujuan penelitian untuk mengetahui pengaruh HPPHB terhadap kadar SOD, kadar kreatinin plasma dan histopatologis ginjal tikus yang diinduksi Cisplatin. Penelitian dilakukan dalam dua tahap, pemberian HPPHB dosis 100, 200 dan 400 mg/kgBB/h selama 28 hari terhadap kadar SOD tikus jantan dan betina *Sprague Dawley* (SD) tanpa induksi dan terhadap kadar kreatinin plasma dan histopatologis ginjal dengan pewarnaan Hematoksin Eosin (HE) tikus yang diinduksi Cisplatin. Hasil menunjukkan kadar SOD kelompok tikus kontrol berbeda bermakna dan sangat bermakna dengan kelompok perlakuan HPPHB. Hasil pemeriksaan kreatinin plasma menunjukkan terdapat perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,01$) antara kontrol positif dengan kelompok dosis 400 mg/kgBB. Hasil analisis mikroskopis histopatologis parameter nekrosis: kelompok perlakuan dosis 200 menunjukkan paling sedikit nekrosis di antara ke tiga dosis, berbeda bermakna dengan kontrol positif, maupun kontrol negatif ($p < 0,05$). Parameter densitas sel mesangium, semua kelompok dosis perlakuan tidak berbeda bermakna dengan kontrol negatif maupun kontrol positif. Simpulan, HPPHB meningkatkan kadar SOD, memperbaiki kadar kreatinin plasma dan nekrosis sel tubulus ginjal tikus laboratorium.

Kata Kunci: hidrolisat protein, histopatologis, kacang polong, kreatinin, SOD

Effect of Green Pea Protein Hydrolysate on the Superoxide Dismutase Level and Improvement of Kidney Damage in Rats

Abstract

Antioxidants in protein hydrolysate from green peas with bromelain (PHGPB) is expected to increase levels of superoxide dismutase (SOD) antioxidant to prevent kidney damage. This study aimed to determine the effect of HPPHB on SOD levels, plasma creatinine levels and kidney histopathology of cisplatin-induced rats. Male and female *Sprague Dawley* (SD) rats were treated with HPPHB (100, 200, and 400 mg/kg BW/h), 28 days). The SOD levels were evaluated and compared between groups with or without induction with cisplatin. Creatinine level parameters and renal histopathological with hematoxylin eosin (HE) staining were also evaluated. The results showed that the SOD levels of the control group were significantly different from the treatment groups. The results of plasma creatinine examination showed a significant difference ($p < 0.01$) between the positive control and the 400 mg/kg BW dose group. Histopathological analysis of necrosis parameters showed that the 200 dose of treatment group exhibited the least amount of necrosis among the three doses, significantly different from positive control and negative control ($p < 0.05$). In conclusion, HPPHB increases SOD levels and improves plasma creatinine levels and histopathological necrosis of renal tubular cells of SD laboratory rats.

Keywords: protein hydrolysate; histopathology; green pea; creatinine; SOD

How to Cite :

Ladi, J. E., Herjanto, D. K., Wahyudianingsih, R., & Hidayat, M. Pemberian Hidrolisat Protein Kacang Polong Terhadap Kadar Superoksida Dismutase dan Perbaikan Kerusakan Ginjal Tikus Laboratorium. *J Kdokt Meditek*. 2022. 28(1), 8–16. Available from: <http://ejournal.ukrida.ac.id/ojs/index.php/Meditek/article/view/2282> DOI: <https://doi.org/10.36452/jkdoktmeditek.v28i1.2282>

Pendahuluan

Penyakit ginjal kronis (PGK) merupakan kondisi kerusakan ginjal dengan penyebab multifaktorial, dan akibat kerusakan tersebut fungsinya menurun secara bertahap. Secara medis, PGK didefinisikan sebagai disfungsi struktur dengan disertai penurunan laju penyaringan ginjal selama 3 bulan atau lebih.¹ Berdasarkan data RISKESDAS tahun 2018, prevalensi PGK di Indonesia adalah 3,8/mil penduduk meningkat hampir dua kali lipat dibandingkan data 5 tahun yang lalu yang hanya sebesar 2 per mil.² Pada penderita PGK kondisi peradangan kronis yang tidak terkontrol akan menyebabkan progresivitas serta terjadi kerusakan struktur sel ginjal, seperti fibrosis yang dapat disebabkan oleh stres oksidatif dalam jangka waktu lama.³

Stres oksidatif merupakan kondisi akibat ketidakseimbangan produksi dan akumulasi radikal bebas pada sel dan jaringan dengan kemampuan biologis tubuh dalam mengeliminasi produk reaktif tersebut. Saat radikal bebas terbentuk dalam jumlah berlebihan, zat tersebut dapat menyebabkan efek negatif pada komponen seluler seperti protein, lemak, dan asam nukleat. Keadaan stres oksidatif dapat memperberat kondisi penyakit ginjal kronis.³

Pengaruh buruk stres oksidatif atau *Radical Oxygen species* (ROS) dapat diredam oleh antioksidan eksogen dan endogen. Optimalisasi antioksidan eksogen didapat melalui suplemen atau nutrisi makanan dapat membantu mencegah efek buruk ROS pada penderita PGK. Penderita PGK perlu mengonsumsi makanan bergizi yang menyehatkan sekaligus mengandung antioksidan. Diketahui bahwa kacang-kacangan memiliki kandungan gizi yang bermanfaat bagi kesehatan.⁵ Kacang polong hijau (*Pisum sativum* L.) mengandung tinggi serat, protein (terutama asam amino esensial berupa triptofan dan lisin), karbohidrat kompleks, vitamin B, mineral (berupa kalsium, zat besi, dan kalium), serta rendah kandungan sodium dan lemak. Hasil beberapa penelitian menunjukkan bahwa kacang polong efektif menurunkan insidensi diabetes mellitus tipe 2, penyakit jantung, serta menurunkan kadar kolesterol LDL.⁶ Protein hidrolisat kacang polong diketahui mengandung peptida bioaktif yang memiliki efek antioksidan, antihipertensi, antimikroba, dan antikarsinogenik.⁷

Penelitian Hidayat (2018) tentang pemberian hidrolisat protein dari kacang polong hijau yang dihidrolisis menggunakan bromelain (HPPHB)

(dosis 50, 100, dan 200 mg/kgBB/h) pada tikus yang diinduksi *gentamicin* menunjukkan bahwa HPPHB dosis 200 mg/kgBB merupakan dosis efektif dalam memperbaiki parameter fungsi ginjal serta meningkatkan kadar antioksidan superoksida dismutase.⁸ Pada proses hidrolisis terjadi penguraian protein kacang polong hijau oleh enzim pemecah protein menjadi peptida yang aktif. Kacang polong dalam bentuk alami tidak memiliki efek sebaik bentuk hidrolisatnya dan bersifat inaktif karena peptida masih berikatan dengan protein utamanya.⁹ Melalui proses hidrolisis akan didapatkan hidrolisat protein dengan peptida bioaktif dengan berat molekul kecil yang memiliki efek lebih baik dibandingkan dengan efek bentuk alaminya dalam mengatasi berbagai penyakit kronis dan menjaga kesehatan agar tetap optimal.¹⁰

Penelitian Pownall *et al.* (2010), menunjukkan aktivitas antioksidan dari derivat peptida yang terdapat dalam kacang polong yang dihidrolisis secara enzimatik menggunakan thermolisin. Peptida tersebut memiliki efek antioksidan dengan mekanisme pemerangkapan radikal bebas dan menghambat oksidasi lemak. Hasil penelitian menyatakan hidrolisat kacang polong sebagai sumber antioksidan memiliki efek potensial terhadap penyakit kronis akibat stres oksidatif.⁷

Banyak kandidat obat terapeutik telah dipelajari untuk memperbaiki kerusakan ginjal akibat stres oksidatif melalui mekanisme antioksidan. Beberapa zat alami telah menunjukkan hasil yang menjanjikan seperti *Quercetin*, suatu senyawa diet dan herbal alami lainnya, seperti *cryptotanshinone*, *resveratrol*, *oxymatine*, *ligustrazine*, *osthole*, *codonolactone*, betanin, asam tanat, *gentiopicroside*, curcumin, genistein, paeoniflorin, asam *gambogic* dan *Cinnamomum cassia*.^{11,12} Tujuan artikel penelitian ini adalah mengetahui pengaruh HPPHB terhadap kadar superoksida dismutase (SOD) pada tikus tanpa induksi, kadar kreatinin plasma dan histopatologis ginjal pada tikus yang diinduksi Cisplatin.

Metodologi

Persiapan Pembuatan Hidrolisat Protein Polong Hijau Bromelain (HPPHB)

Kacang polong hijau (*Pisum sativum*) yang diperoleh dari *Trinidad Benham Corp. Denver, Co 80237 USA 20016* dihidrolisis menggunakan metode hidrolisis sederhana.⁵ Sebanyak 500 g biji kering kacang polong hijau dihaluskan, lalu diayak menggunakan saringan *mesh* 120, selanjutnya

dilarutkan dalam 2000 mL air. Sepuluh persen bromelain yang didapat dari jus nanas yang diperoleh dari Subang (b/v) ditambahkan ke dalam larutan, kemudian dibiarkan selama 72 jam di atas pengaduk pada suhu kamar (25°C–30°C). Larutan kemudian dipindahkan ke dalam tabung dan disentrifugasi pada 2500g (*Tomy Portable Refrigerated Centrifuge MX-201*) pada suhu 4°C selama 10 menit. Supernatan disaring menggunakan kertas saring *Whitmann*. Berat molekul dari hidrolisat protein yang dihasilkan diperiksa menggunakan SDS-PAGE *Low-Molecular-Weight-Protein-Ladders* (mybiosource.com/355494) dengan konsentrasi gel 15%, Tegangan 90V dan waktu 120 menit. Kandungan protein total dalam PHGPB dihitung menggunakan metode Bradford.^{8, 13, 14}

Persiapan Hewan Coba

Tikus diperoleh dari *iRATco Veterinary Laboratory Services*. Pelet makanan untuk hewan percobaan disiapkan di *iRATco Veterinary Laboratory Services* dengan kandungan protein kasar 18%. Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komite Etik Universitas Kristen Maranatha dengan Surat Keputusan No. 497/II/S.Kep/2021.

Penelitian dilakukan dalam 2 tahap. Pertama, pemberian HPPHB dosis 100, 200 dan 400 mg/kgBB/h selama 28 hari terhadap kadar superoksida dismutase (SOD) pada tikus jantan dan betina *Sprague Dawley* (SD) tanpa induksi apapun. Pemberian dilakukan pada tikus jantan dan betina dengan maksud untuk perbedaan efek HPPHB pada jenis kelamin. Tahap kedua adalah pemberian HPPHB dosis 100, 200 dan 400 mg/kgBB/h selama 28 hari terhadap kadar kreatinin dan gambaran histopatologis pewarnaan HE ginjal tikus jantan SD yang diinduksi zat nefrotoksik atau Cisplatin dengan parameter persentase sel nekrosis dalam epitel tubulus ginjal dan densitas atau kepadatan sel mesangium glomerulus ginjal.

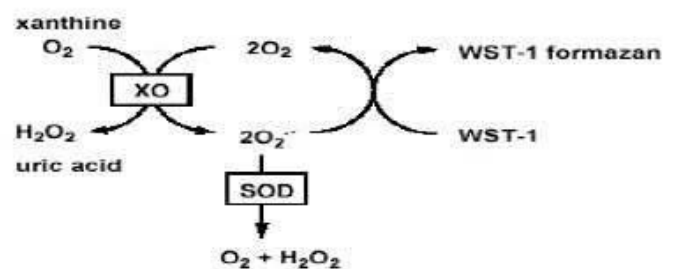
Prosedur Penelitian

1. Empat puluh ekor tikus *Sprague Dawley* (SD) (20 jantan, 20 betina), umur 6-8 minggu, berat antara 160-200 g, dibagi menjadi 4 kelompok masing-masing 5 ekor tikus jantan dan 5 ekor tikus betina. Satu kelompok kontrol negatif, dan tiga kelompok dosis perlakuan dosis 100, 200 dan 400 mg/kgBB/h selama 28 hari.

2. Dua puluh lima ekor tikus *Sprague Dawley* (SD) jantan, umur 6-8 minggu, berat antara 160-182 g, dibagi menjadi 5 kelompok. Satu kelompok kontrol negatif, satu kelompok kontrol positif yang diinduksi Cisplatin 2 mg/kgBB/minggu selama 4 minggu dan tiga kelompok dosis perlakuan dosis 100, 200 dan 400 mg/kgBB/h selama 28 hari.

Pemeriksaan Kadar Superoksida Dismutase (SOD)

Aktivitas enzim SOD diukur dengan metode kolorimetri melalui pengukuran besarnya inhibisi pembentukan anion superoksida (O_2^-) oleh SOD. Anion superoksida dibentuk oleh aktivitas xantin oksidase dalam merubah *xantin* menjadi asam urat. Anion superoksida bekerja pada WST-1 untuk menghasilkan pewarna formazan yang larut dalam air dan dapat dideteksi dengan adanya peningkatan absorbansi pada panjang gelombang 450 nm. Enzim SOD dapat mengkatalisis reaksi dismutasi anion superoksida menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen (O_2). Semakin besar aktivitas enzim SOD dalam sampel, maka semakin sedikit pewarna formazan yang diproduksi.¹⁵



Gambar 1 Pemeriksaan aktivitas SOD Metode Kolorimetri¹⁵

Prosedur Persiapan Reagen

Pemeriksaan dilakukan menggunakan *SOD Assay Kit-WST (Abcam ab65354)*. Pertama dilakukan persiapan larutan WST-1 (2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulphophenyl)-2H-tetrazolium, monosodium salt), sebanyak 1 mL larutan WST diencerkan dengan 19 mL *SOD Assay Buffer*. *SOD Assay Buffer* dapat langsung digunakan namun dibiarkan dalam suhu kamar sebelum digunakan. Selanjutnya larutan enzim SOD disiapkan dengan cara disentrifugasi selama 5 detik dan dicampur dengan pipet, hal ini penting dilakukan karena larutan enzim memiliki 2 lapisan dan harus dicampur dengan baik sebelum pengenceran. Selanjutnya sebanyak 15 µL larutan enzim diencerkan dengan 2,5 mL *dilution buffer*.

SOD Dilution Buffer dapat langsung digunakan namun dibiarkan dalam suhu kamar sebelum digunakan. Larutan enzim yang didapat disimpan pada suhu 4°C hingga 3 minggu.¹⁵

Prosedur Pemeriksaan

Semua bahan dan reagen dari *Superoxide Dismutase Activity Assay Kit (Colorimetric)*(ab65354) dipersiapkan pada suhu kamar sebelum digunakan. Pada *reaction well* disiapkan *sample well* sebanyak 20 µL sampel, pada *Blank 1* 20 µL ddH₂O (*double distilled water*), *Blank 2* : 20 µL sampel, *Blank 3* : 20 µL ddH₂O. Ke dalam setiap well ditambahkan 200 µL *WST working solution*, lalu ditambahkan 20 µL *Dilution buffer* ke *Blank 2* dan *Blank 3*. Selanjutnya ditambahkan 20 µL *Enzyme working solution* ke *sample well* dan *Blank 1*. Larutan dalam setiap well dicampur dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 menit. Dilakukan pengukuran nilai (*Optical Density* setiap well pada panjang gelombang 450 nm) dengan *microplate reader*.¹⁵

Penghitungan Aktivitas SOD

Dilakukan penghitungan aktivitas SOD (*inhibition rate*/tingkat penghambatan %) menggunakan persamaan berikut:

Aktivitas SOD (*inhibition rate* %) =

$$\frac{(A_{blank1} - A_{blank3}) - (A_{sample} - A_{blank2})}{(A_{blank1} - A_{blank3})} \times 100$$

Keterangan: A : absorbansi.¹⁵

Pembuatan Preparat Histopatologis Dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin¹⁴

Masing-masing ginjal kanan tikus ditimbang, direndam dalam larutan formalin 1%, dan dilakukan pembedahan organ menjadi *slide* menggunakan mikrometer, selanjutnya diwarnai dengan metode pewarnaan rutin hematoksilin eosin (HE).

Analisis *slide* mikroskopik dilakukan dengan menghitung persentase sel nekrosis dalam epitel tubulus ginjal dan menghitung densitas atau kepadatan sel mesangium glomerulus ginjal dari 5 lapang pandang. Pengukuran dilakukan secara kuantitatif dengan bantuan *software* ImageJ (NIH).

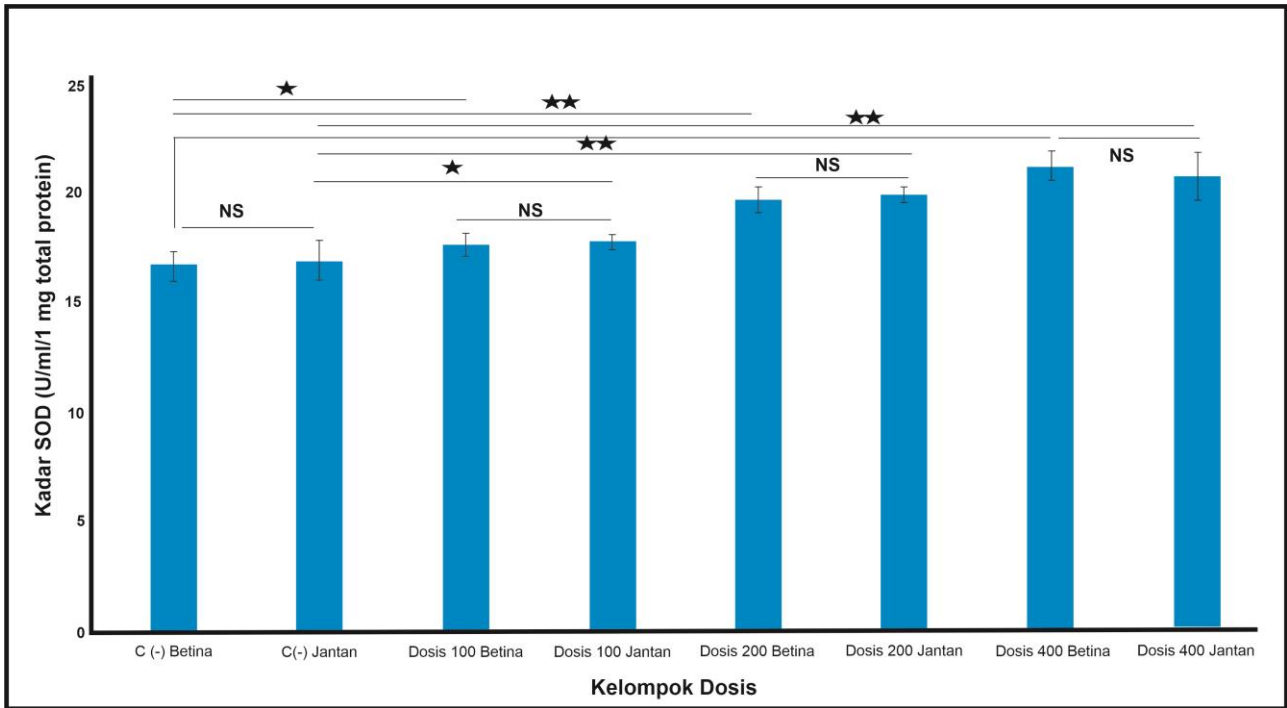
Hasil dan Pembahasan

Pemeriksaan Kadar SOD

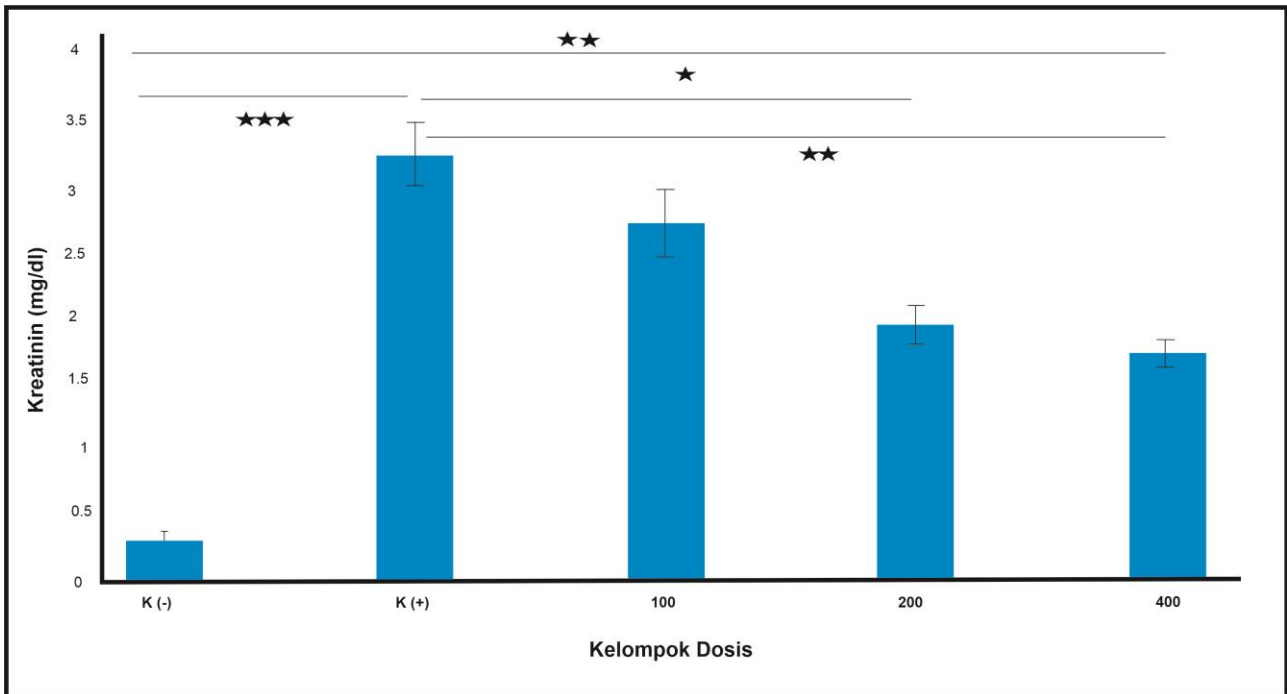
Kelompok kontrol betina menunjukkan hasil yang berbeda bermakna dengan kelompok perlakuan betina dosis 100 mg/kgBB, dan berbeda sangat bermakna dengan kelompok betina dosis 200 dan 400 mg/kgBB. (Gambar 1). Kontrol jantan juga berbeda bermakna dengan semua kelompok perlakuan jantan dosis 100 mg/kgBB, dan berbeda sangat bermakna dengan kelompok dosis 200 dan 400 mg/kgBB. Antara kelompok betina dan jantan semua dosis tidak berbeda bermakna (NS). Dari Gambar 1 didapat bahwa analisis kadar SOD kelompok tikus kontrol berbeda bermakna dan sangat bermakna dengan kelompok perlakuan.

Pemeriksaan Kadar Kreatinin Plasma Tikus yang Diinduksi Cisplatin

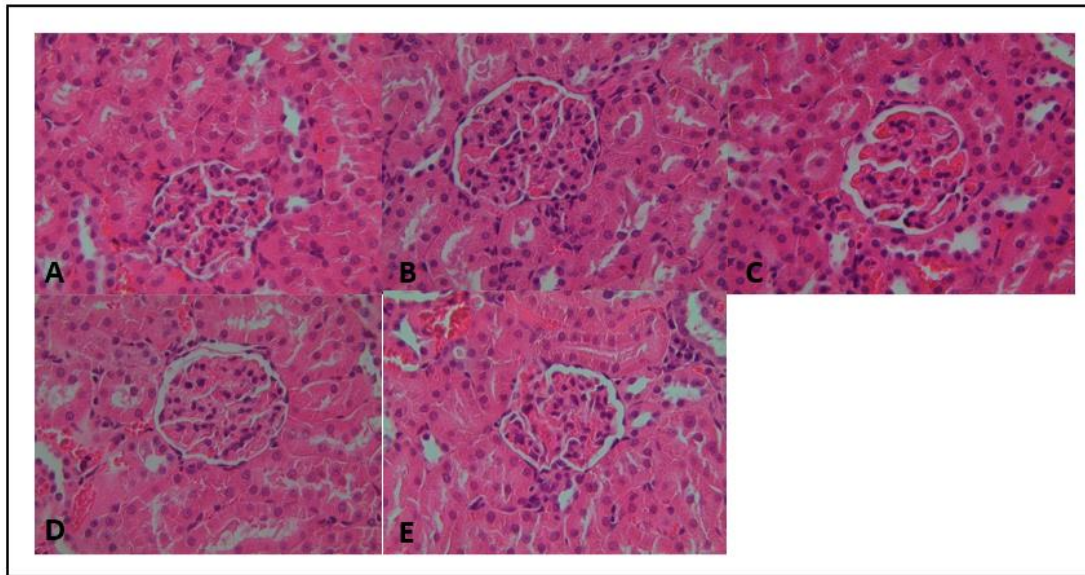
Kontrol negatif berbeda sangat bermakna dengan kontrol positif menandakan induksi Cisplatin menyebabkan peningkatan kadar kreatinin plasma tikus (Gambar 2). Semua kelompok dosis perlakuan berbeda bermakna dengan kontrol negatif dan kontrol positif, kelompok dosis 400 mg/kgBB menunjukkan kadar kreatinin yang paling rendah di antara ketiga dosis menunjukkan bahwa HPPHB dosis 400 mg/kgBB paling baik dalam memperbaiki parameter fungsi ginjal kreatinin. Hasil analisis kadar kreatinin plasma menunjukkan antara kontrol positif dengan kelompok dosis 400 mg/kgBB terdapat perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,01$).



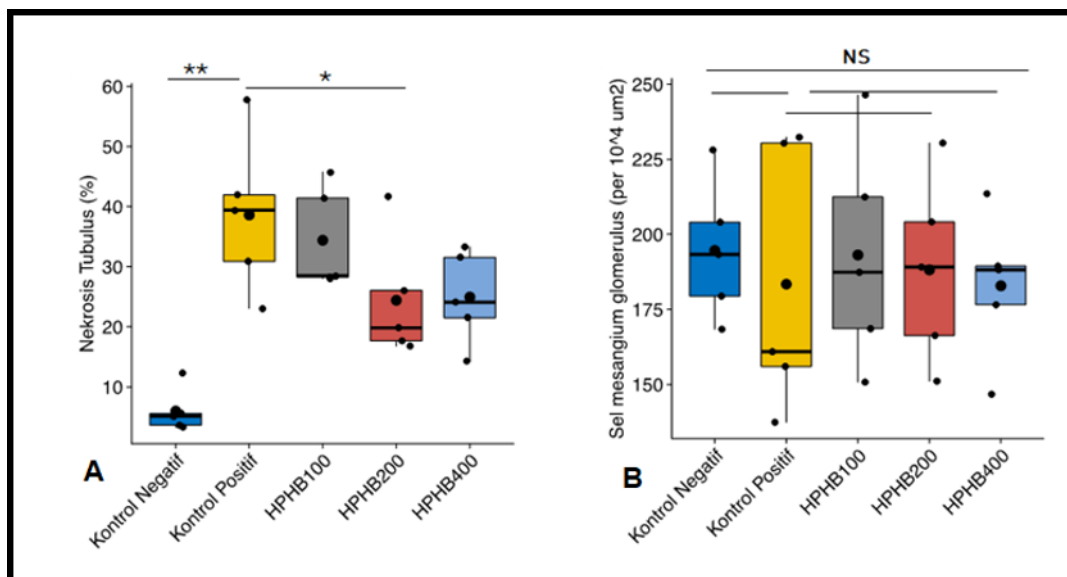
Gambar 2. Hasil Analisis Rerata Kadar SOD Tikus *Sprague Dawley* Tanpa Induksi Setelah Pemberian HPPHB 28 Hari



Gambar 3. Hasil Analisis Rerata Kadar Kreatinin Tikus *Sprague Dawley* yang Diinduksi Cisplatin Setelah Pemberian HPPHB 28 Hari



Gambar 4. Gambaran Histopatologis Ginjal Tikus Setelah Perlakuan. A. Kontrol negatif. B. Kontrol Cisplatin. C. Cisplatin+HPPHB 100 mg/kgBB. D. Cisplatin+HPPHB 200 mg/kgBB. E. Cisplatin+HPPHB 400 mg/kgBB. Perbesaran 300X. Warna biru gelap menunjukkan sel yang mengalami nekrosis



Gambar 5. Rerata Hasil Pengamatan Histopatologis Ginjal, Pewarnaan HE Setelah Perlakuan Cisplatin dan HPPHB. A. Persentase sel nekrosis dalam epitel tubulus ginjal. B. Densitas atau kepadatan sel mesangium glomerulus ginjal

Pemeriksaan Histopatologis Ginjal Tikus yang Diwarnai HE

Pada bagian yang terwarnai HE, sel-sel apoptosis tampak memiliki hiperkromatin terpisah atau terkondensasi. Sel nekrosis terlihat sebagai sel yang berwarna biru gelap (Gambar 3).

Analisis Mikroskopis Histopatologis Pewarnaan HE

Hasil analisis statistik dari mikroskopis histopatologis parameter nekrosis menunjukkan

bahwa persentase sel yang mengalami nekrosis dalam epitel tubulus ginjal dari kelompok kontrol negatif berbeda sangat bermakna dengan kontrol positif menandakan induksi Cisplatin menyebabkan nekrosis sel pada epitel tubulus ginjal. Semua kelompok dosis perlakuan berbeda bermakna dengan kontrol negatif, Kelompok dosis 200 mg/kgBB menunjukkan paling sedikit nekrosis di antara ketiga dosis dan hasil analisis menunjukkan berbeda bermakna dengan kontrol positif ($p < 0,05$), sementara kelompok 100 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB menunjukkan hasil

tidak berbeda dibandingkan kelompok kontrol positif (Gambar 4A).

Pada parameter densitas sel mesangium: kontrol negatif tidak berbeda bermakna dengan kontrol positif. Semua kelompok dosis perlakuan tidak berbeda bermakna dengan kontrol negatif dan kontrol positif. Induksi Cisplatin dengan dosis 2 mg/kgBB/minggu selama 28 hari ternyata belum menyebabkan perubahan densitas sel mesangium dalam glomerulus baik pada kelompok kontrol maupun pada kelompok perlakuan (Gambar 4B).

Pemberian semua dosis HPPHB meningkatkan kadar SOD tikus SD baik jantan maupun betina dan berbeda bermakna dengan kontrol negatif ($p < 0,05$). Efek pemberian HPPHB terhadap kedua jenis kelamin tidak menunjukkan perbedaan. Semakin tinggi dosis HPPHB yang diberikan semakin tinggi kadar SOD. Dari hasil penelitian ini diketahui HPPHB menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi, yang sesuai dengan hasil penelitian terdahulu.^{7,9}

Penelitian Ajibola *et al.* (2011) menunjukkan bahwa semakin kecil ukuran peptida, aktivitasnya sebagai antioksidan semakin baik. Peptida dengan berat molekul < 1 kDa menunjukkan daya reduksi besi, difenil-1-pikrihidradzil (DPPH) dan aktivitas penangkapan radikal hidroksil lebih baik secara bermakna ($p < 0,05$) bila dibandingkan dengan fraksi peptida dengan berat molekul lebih tinggi.¹⁶ Hasil analisis SDS PAGE berat molekul HPPHB menunjukkan pita-pita di bawah 14,4 kDa dan tergolong peptida bermolekul kecil.⁸

Antioksidan yang berasal dari makanan atau suplemen terbukti memperlambat perkembangan penyakit ginjal pada berbagai model hewan. Sebuah studi di University of Alabama, menunjukkan efek menguntungkan dari antioksidan dalam perlindungan fungsi ginjal. Pemberian *bardoxolone methyl* suatu antioksidan sintetik baru selama 24 minggu menunjukkan peningkatan eGFR sebanyak 30% pada pasien dengan PGK stadium lanjut dan Diabetes Mellitus tipe 2. Perbaikan bertahan selama 52 minggu, menunjukkan bahwa antioksidan merupakan terapi yang menjanjikan untuk pengobatan PGK, namun tetap diperlukan penelitian lebih lanjut.¹⁷

Pemberian HPPHB pada tikus SD yang diinduksi Cisplatin menunjukkan perbaikan kadar kreatinin plasma. Hasil semua kelompok dosis perlakuan berbeda bermakna dengan kontrol negatif dan kontrol positif, Kelompok dosis 400 mg/kgBB menunjukkan kadar kreatinin yang paling rendah di antara ke tiga dosis. Semakin tinggi dosis HPPHB yang diberikan semakin besar penurunan kadar kreatinin. Hasil ini sejalan dengan

hasil pemeriksaan antioksidan HPPHB.

Pada pemeriksaan histopatologis ginjal tikus SD yang diinduksi Cisplatin, menunjukkan bahwa parameter jumlah sel mesangium belum terpengaruh. Hal ini kemungkinan dosis dan lama pemberian Cisplatin belum menurunkan jumlah sel mesangium. Penggunaan analisis histopatologis ginjal sebagai prediktor gagal ginjal sebenarnya belum ditetapkan dan tidak praktis walaupun baku emas untuk menegakkan fibrosis ginjal adalah biopsi dengan teknik histologis.^{18,19}

Pada pemeriksaan parameter nekrosis, kelompok dosis 200 mg/kgBB menunjukkan hasil paling sedikit nekrosis di antara ke tiga dosis dan analisis statistik menunjukkan berbeda bermakna dengan kontrol positif, sementara kelompok dosis rendah dan tinggi menunjukkan hasil tidak berbeda dibandingkan kelompok kontrol positif. Pada penelitian uji toksisitas subronis selama 28 hari hasil menunjukkan bahwa semua dosis HPPHB (100, 200 dan 400 mg/kgBB/hr) tidak menunjukkan tanda-tanda toksisitas yang nyata. Dosis dari HPPHB dengan efek samping yang tidak teramati atau *no-observed adverse effect level* (NOAEL) dalam uji toksisitas subkronis tersebut adalah dosis 200 mg/kg BB. Terdapat fakta menarik dari penelitian tersebut bahwa skor histopatologis hati kelompok tikus betina pada dosis 200 mg/kg BB tidak menunjukkan inflamasi lobular sama sekali. Kelompok tikus jantan dosis 200 mg/kg BB malah menunjukkan skor inflamasi yang lebih rendah dibandingkan kelompok dosis 100 mg/kg BB /hari. Hasil penelitian sebelumnya memang menunjukkan bahwa HPPHB dosis 200 mg/kg BB merupakan dosis yang paling efektif dalam memperbaiki profil lipid tikus yang diinduksi Gentamicin dan fungsi ginjal (urea dan kreatinin).²⁰

Beberapa sumber pangan fungsional terbukti memiliki efek sebagai antioksidan. Zheng *et al.* (2014) meneliti efek antioksidan pada teh untuk meredam efek buruk pemberian Cisplatin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bubuk teh *Pu-erh* memiliki efek perlindungan terhadap kerusakan hati tikus yang diinduksi Cisplatin dosis 3 mg/kg BB *i.p.*²¹ Tatli Seven *et al.* (2020) menemukan bahwa propolis dan Nano Propolis (NP) memiliki potensi untuk mengurangi efek negatif pemberian Cisplatin sekaligus mengatasi efek samping yang serius seperti kerusakan hati dan ginjal berdasarkan parameter biokimia, dan stres oksidatif.²² HPPHB sebagai makanan fungsional menunjukkan potensi yang menjanjikan sebagai sumber antioksidan SOD untuk memperbaiki kerusakan ginjal pada kondisi stres oksidatif.

Simpulan

HPPHB meningkatkan kadar SOD tikus yang tidak diinduksi, memperbaiki kadar kreatinin plasma dan nekrosis sel tubulus ginjal tikus SD yang diinduksi Cisplatin.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didanai Hibah Penelitian dari Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) Universitas Kristen Maranatha 2020. Juga dukungan dari Drh. Mawar Subangkit di Laboratorium iRatCo, Dramaga Bogor; Laboratorium Dr. Adrian Suhendra SpPK Purwakarta, Bandung- Indonesia dan Dr. Ronny Lesmana PhD., AIFO dari Departemen Fisiologi Universitas Padjadjaran Bandung Indonesia.

Daftar Pustaka

1. Levey AS, Coresh J. Chronic kidney disease. *The Lancet*. 2012;379(9811): 165-80.
2. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. Hasil utama riset kesehatan dasar (RISKESDAS). Jakarta: Balitbangkes; 2018. p. 74-6.
3. Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, et al. Oxidative stress: Harms and benefits for human health. *Hindawi J*. 2017;2017:1-13.
4. Réus GZ, Carlessi AS, Silva RH, Ceretta LB, Quevedo J. Relationship of oxidative stress as a link between diabetes mellitus and major depressive disorder. *Hindawi J*. 2019;2019(Mdd):1-6.
5. Dahl WJ, Foster LM, Tyler RT. Review of the health benefits of peas (*Pisum sativum* L.). *Br J Nutr*. 2012;108(SUPPL. 1):3-10.
6. Roy F, Boye JL, Simpson BK. Bioactive proteins and peptides in pulse crops: Pea, chickpea and lentil. *Food Res Int*. 2010;43(2):432-42.
7. Stanisavljević NS, Vukotić GN, Pastor FT, Sužnjević D, Jovanović ŽS, Strahinić ID, et al. Antioxidant activity of pea protein hydrolysates produced by batch fermentation with lactic acid bacteria. *Arch Biol Sci*. 2015;67(3):1033-42.
8. Hidayat M. Hidrolisat protein dari kacang polong hijau (*Pisum sativum*, L) untuk penyakit ginjal kronis. Bandung: Penerbit Alfabeta; 2018.p 1-262.
9. Pownall TL, Udenigwe CC, Aluko RE. Amino acid composition and antioxidant properties of pea seed (*Pisum sativum* L.) enzymatic protein hydrolysate fractions. *J Agric Food Chem*. 2010;58(8):4712-8.
10. Udenigwe CC, Aluko RE. Food protein-derived bioactive peptides: Production, processing, and potential health benefits. *J Food Sci*. 2012;77(1):11-24.
11. Phan TT, Lim I, Chan S, Tan EK, Lee ST, Longaker M. Suppression of transforming growth factor beta/smad signaling in keloid-derived fibroblasts by quercetin: Implications for the treatment of excessive scars. *The Journal of Trauma*. 2004;57(5):1032-7.
12. Avila-Carrasco L, Majano P, Sánchez-Toméro JP, Selgas R, López-Cabrera M, Aguilera A, et al. Natural plants compounds as modulators of epithelial-to-mesenchymal transition. *Front Pharmacol*. 2019;10(175).
13. Hidayat M, Prahastuti S, Wargasetia T, Nugraha K, Soemardji A, Rahmawati S, et al. Green peas protein hydrolyzed by bromelain in simple procedure to improve kidney function in cisplatin-induced rats. *J Reports Pharm Sci*. 2019;8(1):68-77.
14. Hidayat M, Prahastuti S, Wahyudianingsih R, Wargasetia TL, Ferdinand V, Soemardji AA, et al. Role of pea protein hydrolysates as anti-nephrotoxicity. *J Pharm Res Sci*. 2019; 8:55-60.
15. Abcam. Superoxide dismutase activity assay kit (colorimetric). 2019. Available from: <https://www.abcam.com/superoxide-dismutase-activity-assay-kit-colorimetric-ab65354.html>
16. Ajibola CF, Fashakin JB, Fagbemi TN, Aluko RE. Effect of peptide size on antioxidant properties of African yam bean seed (*Sphenostylis stenocarpa*) protein hydrolysate fractions. *International Journal of Molecular Sciences*. 2011;12(10):6685-702.
17. Pergola PE, Raskin P, Toto RD, Meyer CJ, Huff JW, Grossman EB, et al. BEAM study investigators. Bardoxolone methyl and kidney function in CKD with type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2011;365(4):327-36.
18. Gewin LS. Renal fibrosis: Primacy of the proximal tubule. *Matrix Biol*. 2018;68-69:248-62.
19. Berchtold L, Friedli I, Vallée JP, Moll S, Martin PY, de Seigneux S. Diagnosis and assessment of renal fibrosis: the state of the art. *Swiss Med Wkly*. 2017;147: w14442.
20. Hidayat M, Prahastuti S, Riyani DU,

- Soemardji A, Hasan K. Kidney therapeutic potential of peptides derived from the bromelain hydrolysis of green peas protein, *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 2019;22: 1016-25.
21. Zheng XN, Wang XW, Li LY, Xu ZW, Huang HY, Zhao JS, et al. Puerh tea powder preventive effects on cisplatin-induced liver oxidative damage in Wistar rats. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(17):7389-94.
22. Tatli SP, Seven I, Karakus S, Iflazoglu MS, Arkali G, Muge Sahin Y, et al. Turkish propolis and its nano form can ameliorate the side effects of cisplatin, which is a widely used drug in the treatment of cancer. *Plants (Basel)*. 2020;9(9):1075.