

**UJI EFEK NEFROPROTEKTIF EKSTRAK LADA HITAM (*Piper  
nigrum*) TERHADAP TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*)  
TERINDUKSI PARACETAMOL**

**NEPHROPROTECTIVE EFFECTS OF BLACK PEPPER (*Piper  
nigrum*) EXTRACT TEST ON WHITE RATS (*Rattus novergicus*)  
INDUCED PARACETAMOL**

**ZULFIKAR**



**SEKOLAH PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2022**

**UJI EFEK NEFROPROTEKTIF EKSTRAK LADA HITAM (*Piper  
nigrum*) TERHADAP TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*)  
TERINDUKSI PARACETAMOL**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Magister  
Program studi  
Ilmu Biomedik/Farmakologi

Disusun dan diajukan oleh :

ZULFIKAR  
P062201009  
Kepada

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : ZULFIKAR  
NIM : P062201009  
Program Studi : Ilmu Biomedik  
Konsentrasi : Farmakologi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 10 Mei 2022

Yang menyatakan,



Zulfikar

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

UJI EFEK NEFROPROTEKTIF EKSTRAK LADA HITAM (*Piper nigrum*)  
TERHADAP TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) TERINDUKSI  
PARACETAMOL

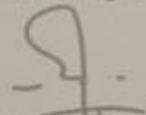
Disusun dan diajukan oleh

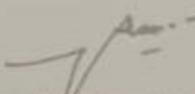
ZULFIKAR  
NIM. P062201009

Telah Dipertahankan Dihadapan Panitia Ujian yang Dibentuk dalam Rangka  
Penyelesaian Studi Program Magister Studi Ilmu Biomedik Sekolah  
Pascasarjana Universitas Hasanuddin pada Tanggal 22 November 2022  
dan Telah Dinyatakan Memenuhi Syarat Kelulusan

Pembimbing Utama

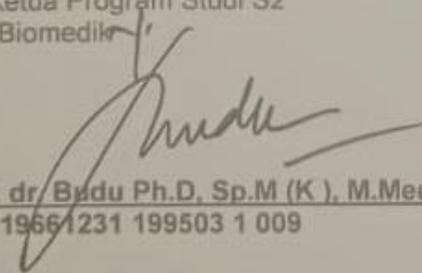
Pembimbing Pendamping

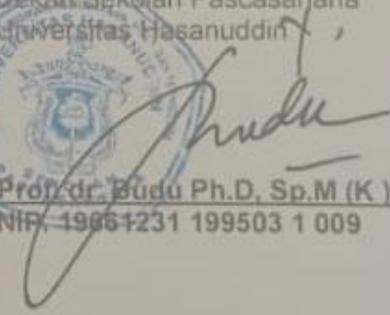
  
Prof. Dr. Elly Wahyudin DEA, Apt  
NIP. 19560114 198601 2 001

  
Prof. Dr. Rosdiana Natsir Ph.D. SpBiok.(K)  
NIP. 19570326 198803 2 001

PII. Ketua Program Studi S2  
Ilmu Biomedik

Dekan Sekolah Pascasarjana  
Universitas Hasanuddin

  
Prof. dr. Budu Ph.D. Sp.M (K), M.MedEd  
NIP. 19661231 199503 1 009

  
Prof. dr. Budu Ph.D. Sp.M (K), M.MedEd  
NIP. 19661231 199503 1 009

## PRAKATA

Assalamu'laikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat, taufik dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan hasil penelitian ini. Penulisan ini merupakan salah satu persyaratan dalam rangka penyelesaian Program Magister S2 pada Pascasarjana Ilmu Biomedik Kosentrasi Farmakologi Universitas Hasanuddin Makassar. Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada berbagai pihak yang telah memberikan bantuan baik moril maupun materil langsung atau tidak langsung. Oleh karena itu dengan rasa hormat penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Rektor dan Direktur Pascasarjana Universitas Hasanuddin atas kesediannya menerima penulis sebagai peserta pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin.
2. Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc selaku ketua program studi Ilmu Biomedik Universitas Hasanuddin yang senantiasa memantau kelancaran pendidikan penulis.
3. Prof. Dr. Elly Wahyuddin., DEA.,Apt selaku ketua Komisi Penasehat dan Prof. Dr. Rosdiana Natsir Ph.D. SpBiok.(K) selaku Sekretaris Komisi Penasehat yang telah meluangkan waktu untuk memberi bimbingan, arahan dan nasehat kepada penulis.

4. Prof. Dr. Peter Kabo Ph.D, Sp.Fk sebagai penguji yang selalu meluangkan waktu dan pikiran beliau untuk membantu penulis dalam menyelesaikan penulisan hasil penelitian ini.
5. Dr. Muhammad Husni Cangara Ph.D., Sp.PA., DFM sebagai penguji yang meluangkan waktu dan pikiran beliau ditengah kesibukannya telah memberikan untuk membantu penulis dalam menyelesaikan penulisan hasil penelitian ini.
6. Firzan Nainu M.Biomed., Sc. Ph.D., Apt selaku penguji yang telah memberikan banyak masukan dan perbaikan tesis ini.
7. Guru-guru kami selama membina ilmu di program studi Ilmu Biomedik yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah berupaya memberikan bimbingan dan pelajaran agar menjadikan penulis mempunyai ilmu pengetahuan mengenai biomedik khususnya bidang farmakologi menjadi lebih terarah dan berkualitas.
8. Semua teman sejawat Magister S2 pada Pascasarjana Ilmu Biomedik Kosentrasi Farmakologi atas bantuan, kebersamaan dan kerjasama yang baik selama penulis menjalani pendidikan.

Tak lupa ucapan terima kasih yang tulus juga penulis sampaikan kepada kedua orang tua tercinta Ayahanda Yusran dan Ibunda Hasna yang senantiasa mendukung dalam doa, memberikan dorongan dan semangat yang sangat berarti bagi penulis selama mengikuti pendidikan. Ucapan terimakasih juga penulis sampaikan kepada teman-teman seperjuangan

Farmakologi angkatan 2020 yang selalu menemani dan mendukung penulis menyelesaikan program pendidikan. Serta semua pihak yang tidak sempat penulis sebutkan satu persatu.

Dan akhirnya penulis berharap semoga tulisan ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan Magister S2 pada Pascasarjana Ilmu Biomedik Kosentrasi Farmakologi di masa mendatang. Tak lupa penulis mohon maaf untuk hal-hal yang tidak berkenan dalam penulisan ini karena penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan ini masih jauh dari kesempurnaan.

Makassar, Agustus 2022

Zulfikar

## ABSTRAK

**ZULFIKAR.** *Uji Efek Nefroprotektif Ekstrak Lada Hitam (Piper Nigrum) terhadap Tikus Putih (Rattus Novergicus) Terinduksi Paracetamol.* (dibimbing oleh **Elly Wahyudin dan Rosdiana Natsir**)

Lada hitam mengandung piperin, yang berdasarkan studi terdahulu efektif sebagai obat analgesik, antipiretik, antiinflamasi, tetapi belum diketahui perannya sebagai proteksi kerusakan ginjal akibat penggunaan antipiretik/analgetik. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian ekstrak etanol lada hitam sebagai proteksi ginjal yang disebabkan paracetamol dosis toksik. Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan desain *pre-posttest control group*, menggunakan tikus Wistar jantan usia 2-3 bulan dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing terdiri dari 5 ekor. Kelompok 1 merupakan kontrol negatif pemberian Na-CMC, Kelompok 2, 3, 4 diberi ekstrak lada hitam dengan variasi dosis 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, dan 75 mg/kgBB. Kelompok 5 merupakan kontrol positif pemberian sediaan Curcuma. Pemberian ekstrak dilakukan selama 5 hari, induksi parasetamol dosis toksik (750 mg/kgBB) pada hari ke-6 hingga ke-8. Kadar ureum dan kreatinin diukur dengan metode fotometri (Humalyzer). Pemeriksaan histopatologi ginjal menggunakan pewarnaan hematoxilin dan eosin. Hasil penelitian menunjukkan setelah induksi parasetamol diperoleh rerata kadar ureum serum kelompok kontrol negatif  $69.70 \pm 2.61$  mg/dl, kelompok 2,3,4, berurutan  $73.64 \pm 1.44$ ,  $72.24 \pm 1.61$ ,  $71.46 \pm 3.26$  mg/dl, dan kontrol positif  $70.78 \pm 0.99$  mg/dl, sedangkan kadar kreatinin serum kelompok kontrol negatif  $1.98 \pm 0.15$  mg/dl, kelompok 2,3,4, berurutan  $1.63 \pm 0.43$ ,  $1.23 \pm 0.30$ ,  $1.13 \pm 0.36$  mg/dl, dan kontrol positif  $0.96 \pm 0.32$  mg/dl. Uji ANOVA menunjukkan kadar ureum dan kreatinin setelah induksi paling rendah pada dosis ekstrak 75 mg/kgBB ( $p < 0.001$ ). Pemeriksaan histologi kelompok ekstrak 75mg/kgBB menunjukkan gambaran jaringan ginjal normal sedangkan kelompok lainnya termasuk kontrol positif menunjukkan gambaran degenerasi serta nekrosis fokal dan multifokal derajat sedang. Sebagai kesimpulan, ekstrak etanol lada hitam dosis 75 mg/kgBB memiliki efek nefroprotektif yang lebih kuat dibandingkan 25 mg/kgBB, dan 50 mg/kgBB.

**Kata kunci:** *lada hitam, Piper nigrum, nefroprotektif, histologi ginjal, paracetamol*

 <b>GUGUS PENJAMINAN MUTU (GPM) SEKOLAH PASCASARJANA UNHAS</b>	
Abstrak ini telah diperiksa. Tanggal : <u>14/10/2022</u>	Paraf Ketua/ Sekretaris. 
	

---

## ABSTRACT

**ZULFIKAR.** *Nephroprotective Effect Test of Black Pepper (*Piper Nigrum*) Extract on White Rats (*Rattus Novergicus*) Induced Paracetamol.* (Supervised by **Elly Wahyudin** and **Rosdlana Natsir**)

Black pepper contains piperine, which, based on previous studies, is effective as an analgesic, antipyretic, and anti-inflammatory drug, but its role in protecting against kidney damage due to antipyretic/analgesic use is unclear. This study aims to analyze the effect of black pepper ethanol extract as kidney protection caused by a toxic dosage of paracetamol. This experimental study with a pre-posttest control group design was used male Wistar rats aged 2-3 months divided into 5 groups, each consisting of 5 rats. Group 1 was a negative control given Na-CMC, Groups 2, 3, 4 were given black pepper extract with various doses of 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, and 75 mg/kgBB. Group 5 is a positive control administered with Curcuma. The extracts were administered for 5 days, with induction of a toxic dose of paracetamol (750 mg/kgBB) from day 6 to day 8. Serum urea and creatinine levels were measured by Humalyzer. Kidney histopathology was examined using hematoxylin and eosin staining. The results showed that after paracetamol induction, serum urea level in the negative control, the group 2, 3, and 4, and the positive control were  $69.70 \pm 2.61$ ,  $73.64 \pm 1.44$ ,  $72.24 \pm 1.61$ ,  $71.46 \pm 3.26$  mg/dl, and  $70.78 \pm 0.99$  mg/dl, respectively, while the serum creatinine level were  $1.98 \pm 0.15$ ,  $1.63 \pm 0.43$ ,  $1.23 \pm 0.30$ ,  $1.13 \pm 0.36$  mg/dl, and  $0.96 \pm 0.32$  mg/dl, respectively. The ANOVA test showed that serum urea and creatinine levels after induction were the lowest at the extract dose of 75 mg/kgBB ( $p < 0.001$ ). Histological examination of the 75mg/kgBB extract group showed normal kidney structure. In contrast, the other groups, including the positive control, showed a moderate degree of focal and multifocal degeneration and necrosis. In conclusion, the ethanolic extract of black pepper at a dose of 75 mg/kgBB had a stronger nephroprotective effect than 25 mg/kgBW, and 50 mg/kgBB.

**Keywords:** *black pepper, Piper nigrum, nephroprotective, kidney histopathology*



## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b>	i
<b>HALAMAN PENGAJUAN</b>	ii
<b>KEASLIAN TESIS</b>	iii
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b>	iv
<b>PRAKATA</b>	v
<b>ABSTRAK</b>	viii
<b>ABSTRACK</b>	ix
<b>DAFTAR ISI</b>	x
<b>DAFTAR TABEL</b>	xiii
<b>DAFTAR GAMBAR</b>	xiv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b>	xv
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	6
A. Uraian Lada hitam	6
1. Klasifikasi tanaman	6
2. Morfologi dan Taksonomi Tanaman	7

3. Kandungan Kimia	7
4. Aktifitas Farmakologi	7
B. Uraian Tikus Putih	8
1. Klasifikasi	8
2. Jenis	9
C. Uraian Ginjal	9
1. Anatomi dan Fisiologi Ginjal	9
2. Histologi Ginjal	11
3. Jenis Pemeriksaan Ginjal	15
D. Uraian Paracetamol	20
1. Definisi Paracetamol	20
2. Mekanisme Kerja Paracetamol	21
3. Toksisitas Paracetamol	22
E. Kerangka Teori	25
F. Kerangka Konsep	26
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	<b>27</b>
A. Rancangan Penelitian	27
B. Waktu dan Lokasi Penelitian	27
C. Alat dan Bahan	27
D. Populasi dan Sampel	28
E. Prosedur Penelitian	28
F. Pengukuran Ureum dan Kreatinin	29

G. Pembuatan preparat Histopatologi	30
H. Pengamatan Histopatologi	34
I. Teknis Analisis	34
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
A. Hasil Penelitian	35
B. Pembahasan	44
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
A. Kesimpulan	50
B. Saran	50
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	
<b>LAMPIRAN</b>	

## DAFTAR TABEL

<b>Nomor</b>	<b>Halaman</b>
1. Pengaturan waktu tahap processing dan embedding	31
2. Tahap pewarnaan mayers hematoxylin eosin	22
3. Hasil pengukuran kadar ureum	35
4. Hasil pengukuran kadar kreatinin	37
5. Hasil skor pemeriksaan histopatologi	40

## DAFTAR GAMBAR

<b>Nomor</b>	<b>Halaman</b>
1. Tanaman lada hitam	6
2. Arteri potongan koronal ginjal	10
3. Bagan metabolisme parasetamol	23
4. Grafik pengukuran kadar ureum	37
5. Grafik pengukuran kadar kreatinin	39
6. Grafik rata-rata skor histopatologi ginjal tikus	41

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Nomor</b>	<b>Halaman</b>
1. Skema Kerja	55
2. Perhitungan	56
3. Dokumentasi Penelitian	58
4. Analisis statistik kadar ureum dan kreatinin	59
5. Analisis statistik histopatologi ginjal tikus	77
6. Gambaran pemeriksaan histopatologi	81

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Ginjal merupakan salah satu organ tubuh manusia yang sangat penting untuk metabolisme obat dan pengontrolan cairan tubuh. Jika ginjal tidak dijaga dalam kondisi baik, jumlah aktivitas yang dilakukan seseorang akan berdampak pada kesehatannya. Bila menyangkut proses filtrasi, reabsorpsi, dan augmentasi zat makanan yang diangkut ke ginjal melalui darah, kebiasaan makan yang tidak teratur, asupan serat dan air mineral yang kurang, serta konsumsi makanan atau minuman instan berkalori tinggi akan memperburuk kerja ginjal (Alamsyah, 2019).

Ginjal adalah organ penting yang mencegah penumpukan limbah dan mengatur keseimbangan cairan dalam tubuh, menjaga kestabilan kadar elektrolit seperti natrium, kalium, dan fosfat, serta menghasilkan hormon dan enzim yang membantu mengontrol tekanan darah, membuat sel darah merah, dan memelihara tulang yang kuat (Kemenkes RI, 2017).

Suatu kondisi yang dikenal sebagai nefrotoksisitas, atau gangguan ginjal, disebabkan oleh paparan langsung atau tidak langsung terhadap bahan kimia yang digunakan dalam industri atau lingkungan (Purwitasari, 2015).

Berdasarkan informasi dari Indonesian Renal Registry (IRR, 2018), diperkirakan 499 orang di Indonesia menderita gagal ginjal untuk setiap satu juta penduduk di negara ini. biasanya disebabkan oleh glomerulonefritis, pielonefritis, dan hipertensi esensial, yang merupakan penyebab paling khas dari gagal ginjal kronis. Selain faktor-faktor tersebut, ada sejumlah penyebab lain yang terkait dengan peningkatan kasus gagal ginjal, seperti merokok, minuman berenergi, penggunaan analgesik dan anti inflamasi non steroid dalam jangka panjang. Penggunaan obat analgesik dan antiinflamasi nonsteroid secara tidak terkontrol dapat mengakibatkan nekrosis papiler dan gagal ginjal kronis dalam jangka waktu yang lama (Supadmi & Pranandari, 2015).

Dengan meningkatnya prevalensi dan insiden gagal ginjal, penyakit ginjal merupakan tantangan bagi kesehatan masyarakat di seluruh dunia. Studi Global Burden of Disease menemukan bahwa penyakit ginjal adalah penyebab kematian terbesar ke-18 secara global pada tahun 2010. Menurut statistik Riskesdas dari 2013, prevalensi penyakit ini lebih tinggi di antara orang berusia 35 hingga 44 tahun daripada di antara mereka yang berusia 25 hingga 34 tahun. (Kemenkes RI, 2017).

Salah satu dari banyak obat analgesik yang dapat dibeli tanpa resep adalah parasetamol. Sejak 1950, obat ini memiliki penggunaan lini pertama tertinggi di seluruh dunia. Parasetamol sering digunakan, baik

tunggal atau bersama dengan obat lain seperti obat flu. Akibatnya, ada kemungkinan keracunan obat yang lebih tinggi dari overdosis parasetamol. Sangat mudah untuk mendapatkan parasetamol tanpa resep. Ada 305 jenis obat yang mengandung parasetamol di Indonesia pada tahun 2006. Data Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) menunjukkan bahwa dari tahun 2002 hingga 2005, Indonesia mengalami 201 insiden keracunan parasetamol.

Dalam beberapa keadaan, ginjal dapat mengalami kerusakan tanpa adanya kerusakan pada hepar. Dosis yang dibutuhkan untuk merusak ginjal kurang dari dosis yang dibutuhkan untuk merusak hati. Overdosis parasetamol berpotensi mengakibatkan gagal ginjal dan kemungkinan kematian. Pada manusia dan hewan uji, kerusakan tubulus proksimal merupakan ciri dari perubahan morfologis dan fungsional ginjal yang terjadi sebagai akibat dari nefrotoksisitas parasetamol. Kerusakan ini disebabkan oleh stres oksidatif, yang dipicu oleh metabolit reaktif parasetamol. (Lorz et al, 2005).

Nama ilmiah untuk ramuan tahunan yang dikenal sebagai lada hitam adalah *Piper nigrum*. Tanaman ini termasuk dalam famili Piperaceae dan merupakan salah satu produk pertanian yang memiliki banyak kegunaan bagi manusia. Karena lada hitam (*Piper nigrum*) termasuk memiliki komponen aktif seperti amida fenolik, asam fenolik, dan flavonoid yang merupakan antioksidan, lada hitam (*Piper nigrum*

Linn) merupakan salah satu jenis rempah-rempah yang dapat meningkatkan penyerapan makanan, berpotensi menurunkan kolesterol. Radikal bebas dapat membahayakan sel-sel tubuh jika tubuh kekurangan antioksidan yang cukup. Lada hitam (*Piper nigrum* Linn) juga mengandung piperin, yang diakui efektif sebagai obat analgesik, antipiretik, antiinflamasi, dan membantu pencernaan selain memiliki komponen antioksidan (Meghwal dan Goswami, 2012). Dalam penelitian ini akan diuji efek nefroprotective ekstrak lada hitam (*Piper nigrum* Linn) terhadap hewan uji yang diinduksi paracetamol.

## **B. Rumusan Masalah**

Adapun permasalahan penelitian ini adalah apakah ekstrak etanol lada hitam (*Piper nigrum*) dapat melindungi ginjal dari kerusakan akibat penggunaan paracetamol dosis toksik.

## **C. Tujuan Penelitian**

### **Tujuan umum**

untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol lada hitam (*Piper nigrum*) sebagai proteksi ginjal yang disebabkan paracetamol dosis toksik.

### **Tujuan Khusus**

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak lada hitam (*Piper nigrum*) dalam mencegah peningkatan kadar kreatinin dan

urea darah sebagai biomarker terjadinya gangguan ginjal akibat penggunaan paracetamol dosis tinggi.

2. Untuk mengetahui gambaran histopatologi ginjal yang didinduksi paracetamol dosis toksik

#### **D. Manfaat Penelitian**

##### **Manfaat ilmiah**

sebagai sumber informasi ilmiah tentang manfaat ekstrak lada hitam (*Piper nigrum*) sebagai proteksi ginjal.

##### **Manfaat aplikatif**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan bagi masyarakat tentang manfaat penggunaan ekstrak lada hitam (*Piper nigrum*) dalam melindungi ginjal dari efek toksisitas paracetamol.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Uraian Tanaman

1. Klasifikasi Tanaman ( wahyuni, 2016)

Regnum	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Piperales
Suku	: Piperaceae
Genus	: <i>Piper</i>
Spesies	: <i>Piper nigrum L</i>



Gambar 1. Tanaman Lada Hitam ( *Piper nigrum L* )

## 2. Morfologi dan Taksonomi Tanaman

10-20 akar lada, masing-masing berukuran panjang 3-4 meter. Sementara batang yang lebih tua berkayu dan memiliki diameter 4-6 cm, batang yang lebih muda berwarna hijau. Panjang buku jari bisa berkisar antara 5 dan 12 cm. Panjang tangkai daun lada bervariasi dari 1,8 hingga 2,6 cm, dan memiliki bentuk asimetris yang menyerupai telur dengan ujung meruncing. Bunga pada tanaman lada berbentuk malai dan panjangnya 3 sampai 25 cm. Biasanya, buah lada berbentuk lonjong atau agak membulat. Permukaan halus dan kulit biji berwarna putih kecoklatan menutupi biji lada berdiameter 3-4 mm.

## 3. Kandungan Kimia Tanaman

Alkaloid piperin adalah komponen bioaktif utama lada hitam, bersama dengan sejumlah bahan kimia steroid atau minyak esensial (Meghwal dan Goswami, 2013). Spesies ini memiliki sejumlah metabolit sekunder bioaktif yang terlihat dari strukturnya, termasuk alkaloid, selain piperin (Kumar et al., 2018). Ada juga fenolat, flavonoid, amida, steroid, neolignes, terpen, dan chalcones yang ada pada tanaman lada hitam. (Damanhoury dan Ahmad, 2014).

## 4. Aktifitas Farmakologi

Salah satu efek farmakologis dari piperin adalah efek antikanker. Pada kanker paru-paru, piperin menunjukkan efek antitumor. Selain itu, piperin telah dicatat memiliki sifat kemopreventif

yang kuat (Deng et al., 2016). Selain memiliki efek farmakologis, piperin juga dapat meningkatkan bioavailabilitas sejumlah obat dan zat, termasuk resveratrol, kurkumin, serta obat anti epilepsi fenitoin dan obat anti hipertensi propranolol (Kumar et al., 2018).

## **B. Uraian Tikus Putih (*Rattus novergicus*) (ITIS, 2017)**

Hewan pengerat yang paling umum digunakan dalam penelitian adalah tikus putih. Hal ini agar tikus putih dapat memiliki keseluruhan sistem organ, kebutuhan nutrisi, metabolisme biokimia, sistem reproduksi, respirasi, dan peredaran darah yang serupa dengan manusia. Tikus putih termasuk dalam kelas mamalia.

### 1. Klasifikasi

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rhodentia
Sub ordo	: Odontoceti
Famlia	: Muridae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus novergicus</i>

## 2. Jenis

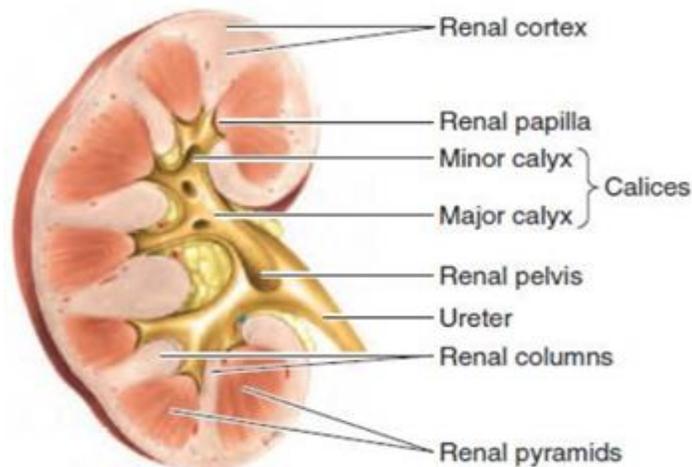
Strain Sprague Dawley, strain Wistar, dan strain Long Evans hanyalah beberapa dari strain tikus putih dengan sifat yang unik. Albino putih, kepala kecil, dan ekor panjang yang merupakan ciri khas dari galur Sprague Dawley. Tikus wistar memiliki kepala yang lebih besar dan ekor yang lebih pendek dibandingkan spesies lainnya. Berbeda dengan tikus putih, strain Long Evans memiliki tubuh yang lebih kecil dan berwarna hitam pada bagian kepala dan bagian depan tubuh. Strain yang paling populer dalam penelitian adalah Sprague-Dawley. Tikus-tikus ini mudah ditangani karena sifatnya yang tenang. Pada usia satu bulan, biasanya beratnya 35 hingga 40 gram. Betina dewasa memiliki berat 250-300 gram, sedangkan jantan dewasa memiliki berat 450-520 gram. Jarang sekali tikus-tikus ini hidup melewati usia tiga tahun (Adiyati PN, 2011).

## C. Uraian Ginjal

### 1. Anatomi dan Fisiologi Ginjal

Ginjal kanan terletak sedikit lebih rendah dari ginjal kiri di dinding perut posterior karena ukuran lobus hati kanan yang besar. Ginjal memiliki panjang kira-kira 10 cm, lebar 5 cm, dan tebal 2,5 cm. Warnanya coklat kemerahan (Price dan Wilson, 2012).

Hilus renalis, tempat masuknya arteri renalis dan vena renalis serta pelvis renalis keluar dari sinus renalis, terletak di tepi medial cekung setiap ginjal. Pelvis ginjal, kaliks, pembuluh darah, saraf, dan beberapa lemak mengisi sinus ginjal, sebuah kompartemen di dalam ginjal. Ujung superior perpanjangan ureter ke pelvis ginjal yang rata dan membentuk seperti terowongan. 2-3 kaliks ginjal utama dan 2-3 kaliks ginjal kecil dikirim ke pelvis ginjal (Moore dan Dalley, 2013)



Gambar 2. Arterial potongan koronal ginjal(Moore and Dalley, 2013)

Menurut Sherwood (2014), ada beberapa fungsi ginjal diantaranya :

1. Menjaga keseimbangan air tubuh tetap terkendali.
2. Mengontrol komposisi dan kuantitas ion cairan ekstraseluler.
3. Menjaga volume plasma pada tingkat yang sehat, yang sangat penting untuk kontrol jangka panjang dari tekanan darah arteri.

4. Mengontrol keseimbangan air adalah cara utama untuk menjaga osmolaritas cairan tubuh yang tepat.
5. Menghilangkan sisa metabolisme.
6. Menciptakan enzim rennin, yang memicu serangkaian peristiwa penting bagi kemampuan ginjal untuk menyimpan garam.
7. Mengubah vitamin D menjadi status fungsionalnya.

Sebagian besar zat yang harus dieliminasi dari darah, terutama produk sisa metabolisme seperti urea, kreatinin, dan asam urat, serta zat asing dan beberapa obat, yang direabsorpsi, hanya menyisakan sejumlah kecil yang terlihat dalam urin. Meskipun sebagian besar zat disaring oleh kapiler glomerulus, nutrisi tertentu seperti asam amino dan glukosa sepenuhnya diserap kembali dari tubulus dan tidak muncul dalam urin (Gyton dan Hall, 2006).

## 2. Histologi Ginjal

Nefron adalah nama untuk unit fungsi aktif ginjal. Ada sekitar 1 juta nefron, yang pada dasarnya memiliki komposisi dan tujuan yang sama. Dengan itu, fungsi ginjal dapat diperhitungkan sebagai keseluruhan dari semua fungsi nefron ini (Pearce, 2006). Korpuskel ginjal, tubulus kontortus proksimal, segmen lengkung Henle yang tipis dan tebal, tubulus kontortus distal, dan duktus kolektivus membentuk bagian dilatasi dari setiap nefron. Beberapa molekul masih dibutuhkan oleh tubuh untuk reabsorpsi, dan yang lain yang dihasilkan dari

metabolisme dilepaskan bersama dengan air untuk membuat urin. Darah yang mengandung sisa-sisa produk metabolisme tubuh disaring di glomeruli dan selanjutnya di tubulus ginjal. Glomerulus menyaring setidaknya 180 liter cairan tubuh per hari, menghasilkan 1-2 liter urin. Urin yang dihasilkan nefron berjalan dari piramida ke sistem pelvis ginjal sebelum memasuki ureter (Junquiera dan Carneiro, 2007).

Unit fungsional setiap ginjal adalah tubulus uriniferus mikroskopik. Tubulus ini terdiri atas nefron (nephronum) dan duktus koligens (ductus coligens) yang menampung curahan dari nefron. Jutaan nefron terdapat di setiap korteks ginjal. Nefron, selanjutnya terbagi lagi menjadi dua komponen yaitu korpuskulum ginjal (corpusculum renale) dan tubulus ginjal (renal tubules).

Korpuskulum ginjal merupakan segmen awal setiap nefron yang terdiri atas kumpulan kapiler yang disebut glomerulus serta dikelilingi oleh dua lapis sel epitel yang disebut kapsul glomerulus (capsula glomerularis Bowman). Stratum viseral atau lapisan dalam (pars internus) kapsul terdiri atas sel epitel khusus bercabang, yaitu podosit (podocytus) yang berbatasan dan membungkus kapiler glomerulus. Stratum parietal atau lapisan luar (pars externus) kapsul glomerulus terdiri atas epitel selapis gepeng. Setiap korpuskulum ginjal mempunyai polus vaskularis, tempat masuknya arteriol aferen dan keluarnya arteriol eferen. Filtrat dihasilkan oleh glomerulus yang

merupakan ultrafiltrat mirip dengan plasma tetapi tidak mengandung protein lalu masuk ke spatium kapsular meninggalkan korpuskulum ginjal di polus urinarius, tempat tubulus kontortus proksimal berasal.

Dua jenis tubulus mengelilingi korpuskulum ginjal. Kedua tubulus ini adalah tubulus kontortus proksimal dan tubulus kontortus distal. Bagian tubulus ginjal yang berawal dari korpuskulum ginjal sangat berkelok atau melengkung sehingga disebut tubulus kontortus proksimal (tubulus proximalis pars convolute). Tubulus kontortus proksimal terbentuk dari satu lapisan sel kuboid dengan sitoplasma bergranula eosinofilik, mitokondria memanjang, dan memperlihatkan lumen kecil tidak rata dengan brush border serta banyak lipatan membrane sel basal yang dalam. Adanya mikrovili (limbus microvillus) di sel tubulus kontortus proksimal meningkatkan luas permukaan dan mempermudah absorpsi bahan yang terfiltrasi. Batas sel tubulus kontortus proksimal juga tidak jelas karena interdigitasi membran lateral dan basal yang luas dengan sel-sel di sekitarnya.

Tubulus kontortus proksimal yang terletak di korteks, selanjutnya turun ke dalam medulla untuk menjadi ansa henle. Ansa henle (ansa nephroni) terdiri dari beberapa bagian yaitu bagian descendens tebal yang merupakan kelanjutan dari tubulus kontortus proksimal, segmen descendens dan ascendens yang tipis, serta bagian ascendens tebal yang merupakan awal dari tubulus kontortus distal

(tubulus distal pars convolute). Bagian ascendens dari loop terletak di samping bagian descendens dan meluas ke dalam medulaginjal. Nefron dengan glomerulus yang terletak dekat corticomedullary (nefronjuxtamedullary) memiliki loop Henle yang relatif panjang dan memanjang jauh ke medula. Sebaliknya, sebagian besar lengkung Henle dari nefron superfisial umumnya terletak di medula ray. Segmen tipis loop mempunyai lumen yang sempit dan dindingnya tersusun atas sel epitel skuamus.

Filtrat glomerulus yang berasal dari kontortus distal mengalir menuju ke tubulus koligens. Tubulus koligens bukan merupakan bagian nefron. Sejumlah tubulus koligens pendek bergabung membentuk beberapa duktus koligens yang lebih besar. Sewaktu duktus koligens turun ke arah papilla medulla, duktus ini disebut duktus papilaris. Duktus koligens yang lebih kecil dilapisi oleh epitel kuboid terpulsa pucat. Jauh di dalam medulla, epitel di duktus ini berubah menjadi silindris. Di ujung setiap papilla, duktus papilaris mengalirkan isinya ke dalam kaliks minor. Daerah papilla yang memperlihatkan lubang di duktus papilaris yaitu area kribrosa. Korteks ginjal juga memperlihatkan banyak radius medularis terpulsa pucat yang berjalan vertikal dari basis piramid menuju korteks. Radius medularis terutama terdiri dari duktus koligens, pembuluh darah, dan

bagian lurus dari sejumlah nefron yang menembus korteks dari basis piramid.

Ginjal memerankan berbagai fungsi tubuh yang sangat penting bagi kehidupan, yakni menyaring (filtrasi) sisa hasil metabolisme dan toksin dari darah serta mempertahankan homeostatis cairan dan elektrolit yang kemudian dibuang melalui urine. Pada penelitian yang dilakukan oleh Khoirunnisa 2019, pada Pengaruh Aktivitas Antioksidan Kurkumin Terhadap Kerusakan Badan Malphigi dan Tubulus Proksimal Ginjal, menunjukkan bahwa pemberian kurkumin dapat mengurangi kerusakan pada badan malphigi secara signifikan berupa hipertrofi glomerulus serta kurkumin dapat mengurangi kerusakan pada sel tubulus proksimal ginjal secara signifikan.

### 3. Jenis Pemeriksaan Ginjal

Fungsi ginjal dapat dinilai di laboratorium menggunakan berbagai teknik. Prosedur ini melibatkan pemantauan produk limbah metabolisme tubuh seperti kreatinin dan ureum yang dikeluarkan oleh ginjal. Pemeriksaan tersebut meliputi:

#### a. Pemeriksaan Kadar Ureum

Ureum sebagai produk sampingan dari pemecahan protein dan asam amino, yang kemudian diangkut ke dalam darah oleh cairan intraseluler dan ekstraseluler dan disaring oleh glomerulus. Pengukuran ureum serum dapat digunakan untuk memantau hasil

hemodialisis, fungsi ginjal, status hidrasi, keseimbangan nitrogen, dan penyakit ginjal progresif. Kenaikan ureum dalam darah disebut sebagai azotemia. Uremia adalah sebutan untuk kondisi gagal ginjal yang ditandai dengan kadar ureum plasma yang sangat tinggi (Verdiansah, 2016).

Keseimbangan antara produksi dan ekskresi dapat dilihat pada kadar urea serum. Metode penentuannya adalah dengan mengukur nitrogen, dan hasilnya dikenal sebagai nitrogen ureum darah / Blood Ureum Nitrogen (BUN). Kadar BUN dalam serum sehat berkisar antara 8 hingga 25 mg/dl. Uremia adalah istilah medis untuk kadar ureum darah tinggi. Kondisi ini biasanya disebabkan oleh ekskresi ureum yang terhambat oleh gagalnya fungsi ginjal (Aminah, 2017).

b. Pemeriksaan Kadar Kreatinin

Pemecahan kreatin fosfat otot, yang terus menerus diproduksi tubuh tergantung pada massa otot, menghasilkan kreatinin. Tingkat kreatinin dan perubahan kreatinin dan fungsi ginjal berkorelasi dengan massa otot. Kreatinin serum disarankan untuk digunakan dalam menentukan laju filtrasi glomerulus dan memantau perkembangan penyakit ginjal, menurut Program Pendidikan Penyakit Ginjal Nasional. Kadar kreatinin tidak hanya bergantung oleh massa otot, tetapi juga oleh olahraga otot,

makanan, dan kesehatan umum. Karena gangguan fungsi sekresi kreatinin, glomerulonefritis, nekrosis tubular akut, dan penyakit ginjal polikistik semuanya mengakibatkan penurunan kadar kreatinin (Verdiansyah, 2016).

Metionin, arginin, dan glisin adalah asam amino yang digunakan pada langkah pertama ginjal dalam pembentukan kreatin. Karena tubuh kekurangan mekanisme reuptake selama produksi kreatinin, sebagian besar kreatinin dieliminasi melalui ginjal. Kapasitas untuk menyaring kreatinin akan menurun dan kadar kreatinin serum akan meningkat jika terjadi disfungsi ginjal. Ketika kadar kreatinin serum dua kali lipat, fungsi ginjal turun 50%, dan ketika kadarnya tiga kali lipat, fungsi ginjal turun 75%. Meskipun ekskresi per 24 jam lebih rendah dari normal, kadar kreatinin serum mungkin tetap sama jika penurunan fungsi ginjal terjadi secara bertahap dan disertai dengan hilangnya massa otot secara bertahap. Penggunaan obat-obatan yang bersifat toksik bagi ginjal, dehidrasi, kelelahan yang berlebihan, gangguan fungsi ginjal dengan infeksi, hipertensi yang tidak terkontrol, dan penyakit ginjal merupakan beberapa faktor yang berkontribusi terhadap peningkatan kadar kreatinin dalam darah (Alfonso, 2016).

c. Pemeriksaan Kadar Asam Urat

Katabolisme asam nukleat purin menghasilkan asam urat. Sementara asam urat disaring oleh glomerulus dan dibuang ke urin oleh tubulus distal, tubulus proksimal adalah tempat sebagian besar asam urat diserap kembali. Ketika kadar asam urat berlebihan, akan menumpuk di jaringan dan persendian, mengakibatkan peradangan. Protein makanan atau protein pada kerusakan jaringan dipecah menjadi adenosin dan guanin, yang kemudian diubah oleh hati menjadi asam urat. Plasma digunakan untuk membawa asam urat dari hati ke ginjal dan glomerulus pada ginjal akan menyaring asam urat (Verdiansyah, 2016).

d. Pemeriksaan Cystatin C

Cystatin C dengan berat molekul rendah adalah protein yang dibuat oleh sel berinti. Cystatin C memiliki 120 asam amino. Glomerulus menyaring cystatin C, yang kemudian direabsorpsi dan dikatabolisme di tubulus proksimal. Kadar cystatin C pada ginjal yang sehat konsisten karena produksi zat yang terus-menerus. Peningkatan kadar cystatin darah akan menunjukkan kondisi fungsi ginjal. Massa otot, jenis kelamin, usia, ras, pengobatan, penyakit, nutrisi, atau peradangan tidak berdampak pada tingkat kadar cystatin. Saat mengevaluasi dan melacak fungsi ginjal, cystatin C dapat digunakan sebagai pengganti kreatinin dan klirens kreatinin. Ketika nilai kreatinin tidak tepat karena kelainan metabolisme

protein, seperti sirosis hati, obesitas, dan malnutrisi, cystatin C adalah indikator yang lebih dipilih untuk menentukan fungsi ginjal (Verdiansyah, 2016).

e. Pemeriksaan  $\beta$ 2 Microglobulin

Peptida kecil yang tidak terglykosilasi dengan BM 11.800 disebut mikroglobulin. Dan yang ada di luar sel berinti. Lapisan plasma  $\beta$ 2 Berhubungan erat dengan cairan ekstraselular adalah mikroglobulin. Pada individu yang sehat, kadar mikroglobulin tetap stabil. peningkatan kadar serum  $\beta$ 2 mikroglobulin menandakan peningkatan metabolisme sel, yang sering terjadi pada gangguan inflamasi, gagal ginjal, penyakit mieloproliferatif dan limfoproliferatif. Ketika kadar  $\beta$ 2 mikroglobulin diukur, dapat ditentukan apakah penerima transplantasi ginjal memiliki fungsi tubulus yang terganggu, dan peningkatan kadar  $\beta$ 2 mikroglobulin dapat menandakan penolakan organ. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan teknik ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) (Verdiansah, 2016).

f. Pemeriksaan Mikroalbuminuria

Mikroalbuminuria adalah suatu kondisi di mana 30-300 mg albumin diekskresikan dalam urin setiap 24 jam. Penyakit ginjal mungkin merupakan indikasi peringatan dini dalam situasi ini. Selain itu, proteinuria dapat digunakan untuk melacak

perkembangan penyakit ginjal dan mengukur respons pasien terhadap pengobatan. Sindrom nefrotik dapat ditandai dengan proteinuria lebih dari 3,5 g/hari (Verdiansyah, 2016).

g. Pemeriksaan Inulin

Indikator optimal laju filtrasi glomerulus adalah inulin polimer fruktose, yang memiliki berat molekul 5.200. Ginjal benar-benar menghilangkan inulin, yang inert. Karena inulin adalah bahan kimia yang disaring secara bebas dan tidak direabsorpsi maupun disekresikan oleh tubulus ginjal, pembersihan inulin menggambarkan fungsi filtrasi ginjal. Prosedur untuk menentukan klirens inulin melibatkan penyuntikan 25 mL Mlinulin 10% secara intravena, diikuti dengan 500 ml 1,5% inulin dengan kecepatan 4 ml/menit (Verdiansyah, 2016).

## **D. Uraian Paracetamol**

1. Deskripsi paracetamol

Acetaminophen, juga disebut sebagai parasetamol, adalah salah satu obat analgesik dan antipiretik yang paling banyak digunakan di seluruh dunia. Formulasi obat mono dan multi-komponen dapat didapatkan tanpa resep dokter. Pasien yang tidak dapat diobati dengan obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID), seperti asma bronkial, hemofilia, mereka yang sensitif terhadap salisilat,

anak di bawah usia 12 tahun, wanita hamil, dan ibu menyusui, beralih ke obat ini sebagai pengobatan lini pertama mereka. Marta J. Beneista dan lainnya (2014)

## 2. Mekanisme Kerja Paracetamol

Mirip dengan obat antiinflamasi nonsteroid (AINS) lainnya, parasetamol memiliki karakteristik analgesik dan antipiretik. Namun, tidak seperti NSAID lainnya, parasetamol tidak memiliki efek antiinflamasi. Akibatnya, obat ini tidak dapat secara langsung dikategorikan sebagai NSAID (Jozwiak Bebenista dan Nowak, 2014).

Prostaglandin H<sub>2</sub> sintetase adalah enzim yang mengkatalisis konversi asam arakidonat menjadi prostaglandin H-PGH<sub>2</sub>, yang merupakan fungsi sebagian besar NSAID. Siklooksigenase (COX) dan peroksidase adalah dua tindakan enzimatis yang berbeda yang dilakukan enzim ini, menjadikannya enzim bifungsional. Ada dua langkah yang terlibat dalam mengubah asam arakidonat menjadi H-PGH<sub>2</sub>. Situs COX adalah situs langkah pertama, yang menghasilkan molekul prostaglandin G<sub>2</sub>. Bentuk teroksidasi COX diperlukan untuk aktivitas enzimnya. Setelah ini, prostaglandin g PGG<sub>2</sub> akan mengalami aksi POX dan menjadi prostaglandin H-PGH<sub>2</sub> (Sharma dan Mehta, 2014).

Parasetamol adalah penghambat prostaglandin yang kuat dalam sel utuh dengan tingkat hidropersida rendah. Produksi

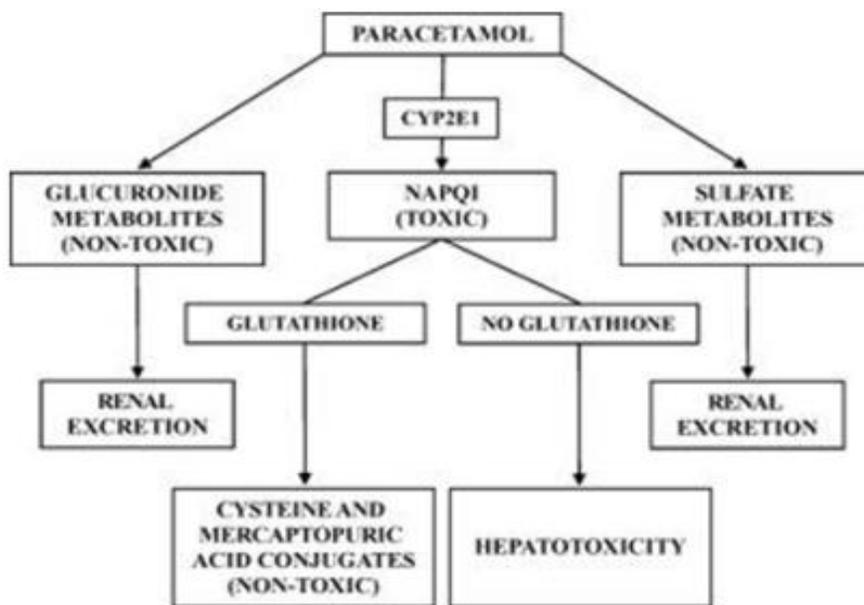
prostaglandin tidak berkurang secara signifikan pada sel yang terluka, di mana terdapat sejumlah besar hidropersida. Ini menjelaskan mengapa otak menunjukkan tingkat aktivitas parasetamol yang lebih tinggi daripada perifer, di mana peradangan terjadi, di mana tingkat peroksida lebih rendah daripada di sentral. (Sharma dan Mehta, 2014).

### 3. Toksisitas Parasetamol

Pada dosis terapeutik, salah satu metabolit parasetamol berbahaya bagi hepar. Glutathione mendetoksifikasi metabolit ini untuk membuat asam merkapturi yang tidak beracun, yang kemudian dikeluarkan melalui urin. Ketika produksi metabolit melebihi kapasitas glutathione untuk detoksifikasi dalam kadar tinggi, senyawa yang dihasilkan bereaksi dengan sel hati menyebabkan nekrosis centrolobular (Darsono, 2002).

Toksisitas utama parasetamol dihasilkan dari metabolisme obat di hati dan jaringan ekstrahepatik. Parasetamol akan dimetabolisme di hepar melalui 3 jalur berbeda saat dikonsumsi pada tingkat terapeutik. Mayoritas metabolit parasetamol (52-57% dari total metabolit dalam urin) diproduksi oleh glukuronidasi asetaminofen menjadi asetaminofen-glukuronida (APAP-gluc), sedangkan sejumlah besar sisanya diproduksi oleh sulfasi asetaminofen menjadi asetaminofen sulfat (APAP-sulfat). Sistem enzim mikrosomal P-450 akan

mengoksidasi sebagian kecil (5-10% dari total metabolit urin) menjadi N-acetyl-p-benzoquinoneimine (NAPQI). Karena reaktivitasnya yang tinggi, NAPQI akan didetoksifikasi dengan bergabung dengan gugus sulfhidril glutathione untuk menghasilkan APAP-GSH. APAP-GSH akhirnya dieliminasi dari tubuh melalui urin sebagai kombinasi konjugat sistein dan asam merkapturat yang agak tidak berbahaya (Mazer dan Perrone, 2008; Ghodke et al., 2015).



Gambar 3. Bagan Metabolisme Paracetamol (Dwyer *et al*, 2014)

Ketika metabolisme parasetamol mencapai tingkat yang berbahaya, jalur sulfasi dan glukuronidasi menjadi jenuh, yang menyebabkan lebih banyak komponen obat dioksidasi menjadi NAPQI. NAPQI akhirnya akan mengikat sel-sel yang membuat sulfhidril dan

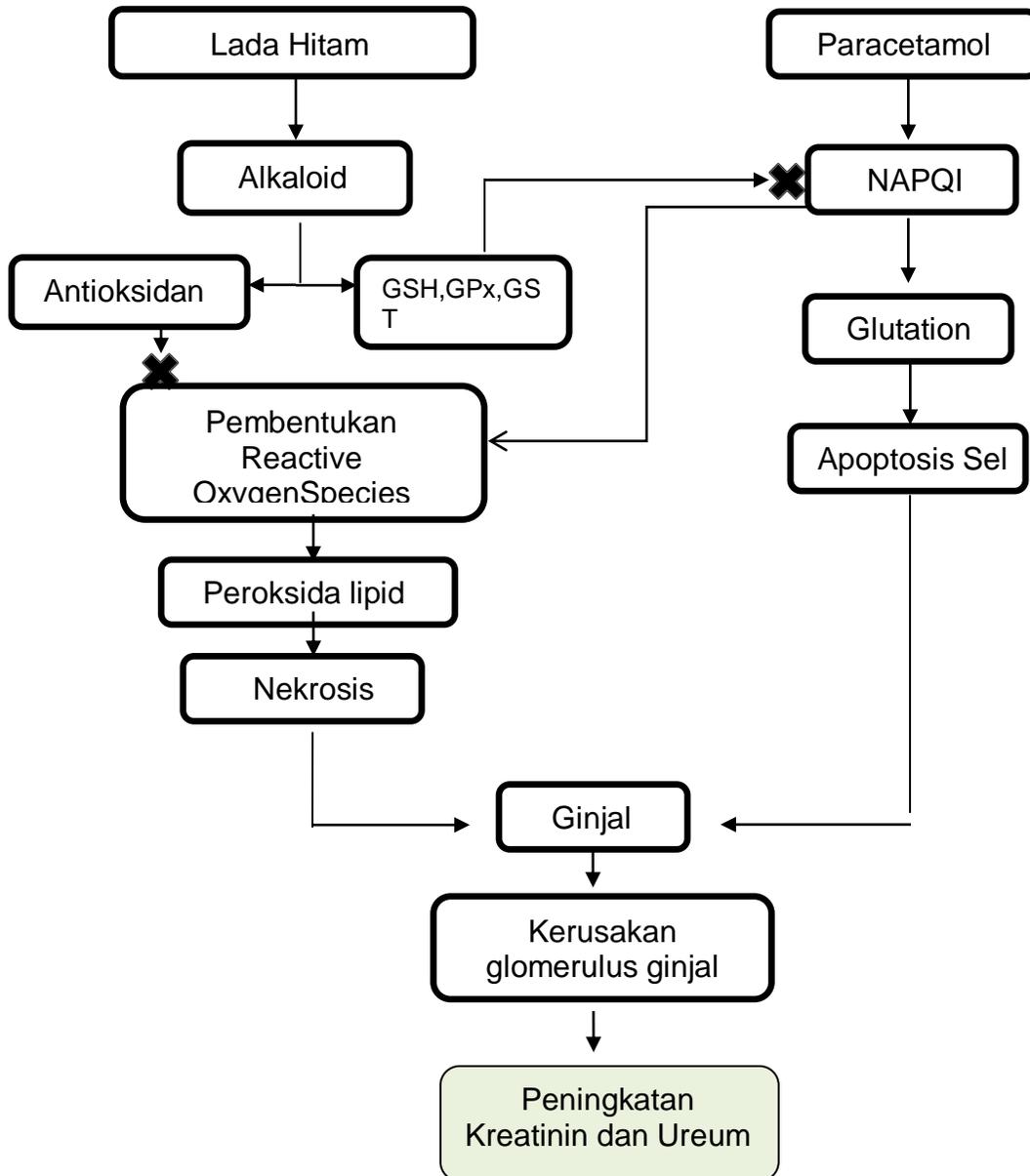
glutathione diproteins dan mengurangi simpanan glutathione (GSH). Ketika NAPQI mengikat glutathione dan protein sel sulfhidril, homeostasis terganggu dan caspases (dalam contoh ini, caspases 9 dan 3) dan enzim lisosom diaktifkan, yang memulai kematian sel (Waring et al., 2010; Ghodke et al. , 2015; Mazer dan Perrone, 2008).

NAPQI menginduksi produksi molekul ROS (Reactive Oxygen Species), yang berinteraksi dengan protein seluler untuk memulai proses peroksidasi lipid selain menciptakan hubungan dengan protein yang mengandung glutathione dalam sel. Peningkatan malondialdehid (MDA), tanda stres oksidatif, adalah tanda peningkatan peroksidasi lipid (Ayca et al., 2015; Canayakin et al., 2016).

Inisiasi apoptosis sel juga dipengaruhi oleh stres retikulum endoplasma. Hal ini didukung oleh fakta bahwa sel epitel tubulus ginjal yang diinduksi parasetamol menghasilkan GADD153 (gen yang dapat diinduksi pertumbuhan dan kerusakan DNA 153) pada tingkat yang lebih tinggi. GADD153 adalah faktor transkripsi yang menandai stres retikulum endoplasma dan merupakan ciri dari apoptosis sel (Lorz, 2004).

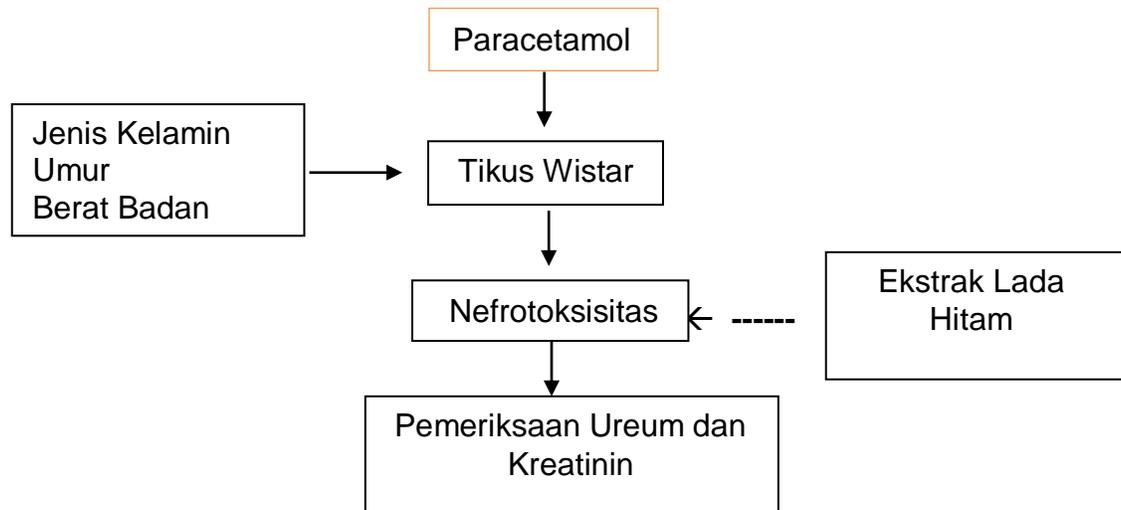
Jika nekrosis jaringan sering terjadi, peningkatan apoptosis sel kemudian akan mengakibatkan kerusakan organ terkait. Mengenai ginjal, nekrosis tubular menunjukkan bahaya yang diakibatkan oleh pemberian parasetamol terlalu banyak (Canayakin et al. 2016).

### E. Kerangka Teori



Ket : → Menyebabkan  
 ✕ Menghambat

## F. Kerangka Konsep



### Keterangan :

- Variabel bebas : Ekstrak Lada hitam (*Piper nigrum L*)  
Variabel tergantung : Pemeriksaan ureum dan kreatinin  
Variabel antara : Nefrotoksisitas  
Variable kendali : Paracetamol