

**UJI EFEK NEFROPROTEKTIF EKSTRAK KUNYIT HITAM (*Curcuma caesia*)  
YANG DIINDUKSI RIFAMPISIN DAN ISONIAZID PADA TIKUS WISTAR  
THE PROTECTIVE EFFECTS OF BLACK TURMERIC (*Curcuma caesia*)  
EXTRACT ON RIFAMPICIN AND ISONIAZID INDUCED NEPHROTOXICITY  
IN WISTAR RATS**

**ANDI APRILYANI ASKINIANTI**



**SEKOLAH PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2023**

**UJI EFEK NEFROPROTEKTIF EKSTRAK KUNYIT HITAM (*Curcuma caesia*)  
YANG DIINDUKSI RIFAMPISIN DAN ISONIAZID PADA TIKUS WISTAR**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Ilmu Biomedik Farmakologi

Disusun dan diajukan oleh :

ANDI APRILYANI ASKINIANTI

P062201024

Kepada

**PROGRAM PASCASARJANA**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2023**

## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang Bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Andi Aprilyani Askinianti

Nomor Mahasiswa : P062201024

Program Studi : Ilmu Biomedik

Konsentrasi : Farmakologi

Dengan penuh kesadaran, saya yang bertanda tangan di bawah ini 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 dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 3 Mei 2023

Yang menyatakan



Andi Aprilyani Askinianti

**LEMBAR PENGESAHAN TESIS**

**UJI EFEK NEFROPROTEKTIF EKSTRAK KUNYIT HITAM (*Curcuma caesia*)  
YANG DIINDUKSI RIFAMPISIN DAN ISONIAZID PADA TIKUS WISTAR**

Disusun dan diajukan oleh

**ANDI APRILYANI ASKINIANTI  
P062201024**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Ilmu Biomedik  
Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin pada tanggal 20 Februari 2023  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama



Dr. Yulia Yusrini Djabir, S.Si., M.Biomed., Sc.Apt  
NIP. 19500817 197903 1 003

Pembimbing Pendamping



Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc  
NIP. 19770121 200312 2 003

Ketua Program Studi  
Ilmu Biomedik



dr. Rahmawati., Ph.D., Sp.PD-KHOM., FINASIM  
NIP. 19680218 199903 2 002

Dekan Sekolah Pascasarjana  
Universitas Hasanuddin



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

## PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan atas kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat, hidayah, dan karuniaNya sehingga dapat terselesaikan tesis ini yang berjudul "Uji Efek Nefroprotektif Ekstrak Kunyit Hitam (*Curcuma caesia*) yang Diinduksi Rifampisin dan Isoniazid "

Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Magister dalam bidang Farmakologi pada program studi Ilmu Biomedik sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin. Dalam Kesempatan ini penulis menyampaikan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Dr. Yulia Yusrini Djabir., S.Si.,M.Biomed., Sc.Apt. dan Dr.dr. Ika Yustisia., M.Sc selaku Ketua Komisi Penasehat dan Sekertaris Komisi Penasehat, yang telah banyak memberikan waktu, pikiran dan tenaganya kepada penulis sehingga terselesaikannya penulisan tesis ini.
2. Prof.Dr.dr. Peter Kabo., Ph.D., Sp.FK., dr. Prof Dr. Rosdiana Natsir.,Ph.D.Sp.Biok (K)., dan Dr. Zulfahri., S.Si., M.Si., selaku tim penguji yang telah memberikan masukan dan saran guna penyempurnaan tesis.
3. dr. Rahmawati, Ph.D.,Sp.PD,K-HOM.,FINASIM selaku ketua Program Studi Biomedik.
4. Para dosen, staf dan Pegawai di Bagian Pascasarjana Fakultas Kedokteran serta rekan-rekan dosen.
5. Kedua orang tua, ayahanda Andi Muh. Yahya dan ibunda Andi Siti Nurbaya serta saudaraku Andi Teguh dan Surya Ridwan untuk segala cinta, kasih sayang, semangat, motivasi, memberikan bantuan materi dan spiritual serta doa tulus demi kesuksesan penulis

6. Kepada semua pihak yang tidak tercantum namanya telah membantu penulis dalam menyelesaikan tesis ini, terima kasih banyak atas semua dukungan dan bantuannya.

Penulis menyadari atas kekurangan dan keterbatasan dalam penyusunan tesis ini, untuk itu semua saran dan kritikan dalam penyempurnaan akan penulis terima. Akhirnya penulis berharap semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi semua yang membutuhkannya. Aamin

Makassar, 3 Mei 2023



Andi Aprilyani Askinianti

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
PRAKATA .....	iv
DAFTAR ISI .....	vi
DAFTAR TABEL .....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
DAFTAR LAMPIRAN .....	x
ABSTRAK .....	xi
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Uraian Tentang Tanaman.....	5
1. Klasifikasi Tanaman .....	5
2. Morfologi Tanaman .....	5
3. Kandungan Kimia Tanaman.....	6
B. Tinjauan Tentang Tikus Putih .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
1. Klarifikasi Tikus Putih .....	7
2. Jenis.....	8
C. Ginjal .....	8
Anatomi dan Fisiologi Ginjal.....	8
1. Rifampisin .....	10
2. Mekanisme Kerja .....	10

3. Efek Samping.....	16
4. Sediaan dan Posologi .....	17
5. Pengaruh Rifampisin terhadap Ginjal .....	17
6. Isoniazid.....	19
7. Nefrotoksisitas Penggunaan OAT.....	20
D. Histopatologi Ginjal .....	20
E. Kuning Hitam .....	23
BAB III KERANGKA TEORI .....	25
A. Kerangka Teori .....	25
B. Kerangka Konseptual .....	26
C. Hipotesis Penelitian .....	27
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN .....	28
A. Rancangan Penelitian.....	28
B. Waktu dan Tempat Penelitian .....	28
C. Alat dan Bahan.....	28
D. Populasi dan Sampel .....	29
E. Teknik Analisis .....	31
F. Prosedur Kerja.....	32
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN .....	38
A. Hasil Penelitian .....	38
B. Pembahasan.....	44
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN .....	49
A. Kesimpulan .....	49
B. Saran .....	49
DAFTAR PUSTAKA .....	50
DAFTAR LAMPIRAN .....	57



## DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Pengaturan Waktu Pada Tahap Prossesing dan Embedding .....	35
Tabel 3. 2 Tahap Pewarnaan .....	36
Tabel 3.3 Tingkat Kerusakan Nefron .....	37

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Rimpang Kunyit Hitam .....	5
Gambar 2. Tikus Wistar .....	8
Gambar 3. Arterior Potongan Koronal Ginjal .....	9
Gambar 4. Glomerulus dan Tubulus Normal .....	22
Gambar 5. Nekrosis Tubular Akut .....	22
Gambar 6. Kerangka Teori .....	25
Gambar 7. Kerangka Konsep.....	26

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Skema Kerja .....	57
Lampiran 2 Perhitungan .....	58
Lampiran 3 Gambar Penelitian .....	60
Lampiran 4 Analisis Statistik .....	61
Lampiran 5 Persetujuan Etik .....	64
Lampiran 6 Persetujuan Etik .....	76

## ABSTRAK

**ANDI APRILYANI ASKINIANTI.** *Uji Efek Nefroprotektif Ekstrak Kunyit Hitam (Curcuma Caesia) yang Diinduksi Rifampisin dan Isoniazid pada Tikus Wistar.* (dibimbing oleh **Yulia Yusrini Djabir** dan **Ika Yustisia**)

Isoniazid dan rifampisin merupakan obat lini pertama antituberkulosis, namun kombinasi dari keduanya dapat meningkatkan resiko toksisitas pada hati dan ginjal. Rimpang kunyit hitam memiliki kandungan senyawa antioksidan yang dapat memberikan efek nefroprotektif. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh pemberian ekstrak rimpang kunyit hitam dalam mencegah peningkatan kadar kreatinin dan ureum darah sebagai biomarker gangguan ginjal dan kerusakan histologis ginjal akibat penggunaan rifampisin dan isoniazid.

Penelitian ini menggunakan *Post Test Only Control Group Design*. Total 25 ekor tikus Wistar jantan dibagi menjadi 5 kelompok: Kelompok I merupakan kontrol negatif yang di induksi rifampisin-isoniazid dengan dosis toksik (200 mg/kg dan 100 mg/kg). Kelompok II sampai IV diberi rifampisin-isoniazid dan ekstrak kunyit hitam dengan dosis secara berurutan (100 mg/kg, 200 mg/kg, dan 300 mg/kg). Kelompok V adalah kontrol positif yang diberi rifampisin-isoniazid dan tablet kurkumin 200 mg/kgBB. Setelah 28 hari percobaan pengobatan, dilakukan pemeriksaan kreatinin darah dan ureum darah serta dilakukan pemeriksaan histologis ginjal, mencit diterminasi, diambil organ ginjal, dan dilakukan pembuatan preparat histologi. Setiap preparat dibaca pada 5 lapangan pandang dan dinilai dengan menggunakan skor kerusakan ginjal

Kadar kreatinin darah tidak berbeda nyata antar kelompok. Namun, pengobatan rifampisin dan isoniazid meningkatkan kadar ureum pada kontrol negatif, tetapi berkurang secara signifikan ( $p < 0.05$ ) pada kelompok yang diberi ekstrak kunyit hitam untuk semua dosis. Hanya ekstrak kunyit hitam dosis 200 mg/kg BB yang mampu memberikan efek perlindungan pada ginjal yang ditunjukkan pada gambaran histologi menunjukkan hemoragi dan degenarasi yang ringan dibandingkan dengan kelompok yang lain. Sebagai kesimpulan ekstrak kunyit hitam memberikan efek nefroprotektif terhadap toksisitas isoniazid-rifampisin dengan menurunkan kadar urea dan memperbaiki histopatologi ginjal.

**Kata kunci:** *kunyit hitam, ginjal, rifampisin dan isoniazid, curcuma caesia*

## ABSTRACT

**ANDI APRILYANI ASKINIANTI.** *The Protective Effects Of Black Turmeric (Curcuma Caesia) Extract On Rifampicin And Isoniazid-Induced Nephrotoxicity In Wistar Rats.* (supervised by **Yulia Yusrini Djabir** and **Ika Yustisia**)

Isoniazid and rifampicin are first-line antituberculosis drugs, but the combination of the two can increase the risk of toxicity to the liver and kidneys. Black turmeric rhizome contains antioxidant compounds that can provide nephroprotective effects. The purpose of this study was to determine the effect of giving black turmeric rhizome extract in preventing increased levels of creatinine and blood urea as biomarkers of kidney disorders and kidney histological damage due to the use of rifampicin and isoniazid. The purpose of this study was to determine the effect of giving black turmeric rhizome extract in preventing increased levels of creatinine and blood urea as biomarkers of kidney disorders and kidney histological damage due to the use of rifampicin and isoniazid.

This research uses Post Test Only Control Group Design. A total of 25 male wistar rats were divided into 5 groups. Group I was the negative control that was given a toxic dose of rifampicin-isoniazid induced (200 mg/kg and 100 mg/kg) without any other treatment. Group II to IV were given rifampicin-isoniazid and black turmeric extract at different doses (100 mg/kg, 200 mg/kg, and 300 mg/kg). Group V was the positive control that was given rifampicin-isoniazid and curcumin tablets 200 mg/kgBW. After 28 days of treatment, blood creatinine and urea were examined and histological preparations were made. Each preparation was assessed using a kidney damage score.

Blood creatinine levels were not significantly different between groups. However, rifampicin and isoniazid treatment increased urea levels in the negative control, but reduced significantly ( $p < 0.05$ ) in the black turmeric extract group for all doses. Only black turmeric extract at a dose of 200 mg/kg BW was able to provide a protective effect on the kidneys which was shown in histological findings to show mild hemorrhage and degeneration compared to the other groups. In conclusion, black turmeric extract has a nephroprotective effect on isoniazid-rifampicin toxicity by reducing urea levels and improving kidney histopathology.

**Keyword:** *black turmeric, kidney, rifampicin and isoniazid, curcuma caesia*

## **BAB I PENDAHULUAN**

### **A. LATAR BELAKANG**

Prevalensi penyakit tuberkulosis (TB) di Indonesia mengalami peningkatan dimana pada tahun 2020, ditemukan 845.000 kasus TB terkonfirmasi (WHO Global TB Report, 2020). Obat anti tuberkulosis (OAT) yang digunakan dalam pengobatan TB adalah antibiotik dan antiinfeksi sintetis untuk membunuh *Mycobacterium tuberculosis*. Aktivitas OAT didasarkan atas tiga mekanisme, yaitu aktifitas membunuh bakteri, sterilisasi, dan mencegah resistensi. Di Indonesia, pengobatan TB didasarkan tahap intensif dan tahap lanjutan. Pada tahap intensif diberikan RHZE (Rifampisin, INH, Isoniazid, Ethambutol) dan pada tahap lanjutan diberikan RE (Rifampisin dan Ethambutol) (Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Tata Laksana Tuberkulosis, 2021).

Penggunaan isoniazid (100 mg/kg BB) dan rifampisin (200 mg/kg BB) pada tikus selama pemberian 28 hari dapat menyebabkan nefrotoksisitas (Djabir, et al 2021). Meskipun mekanisme toksisitas isoniazid terhadap ginjal belum diketahui secara pasti, akan tetapi penelitian klinik menunjukkan isoniazid dapat menyebabkan insufisiensi ginjal dan dapat menyebabkan nekrosis tubular akut serta nefritis interstisial (Manika dkk., 2013). Berbeda dengan isoniazid, toksisitas rifampisin berhubungan dengan aktivitas antibodi. Pada pasien yang mengkonsumsi rifampisin terjadi aktivasi antibodi yang

menyerang sel epitel tubulus sehingga dapat menimbulkan nekrosis tubular akut (Martin dkk., 2016). Nefrotoksisitas yang ditimbulkan oleh rifampisin maupun isoniazid sangat terkait dengan pembentukan metabolit aktifnya yang memicu produksi Reactive Oxygen Species (ROS) (Amalia, 2018). ROS inilah yang menjadi penyebab utama timbulnya kerusakan ginjal yang diinduksi oleh obat (Martin dkk., 2016). Oleh karena itu, penggunaan antioksidan diharapkan dapat memberikan proteksi terhadap efek samping obat yang menginduksi kerusakan ginjal melalui penghambatan pembentukan ROS.

Berdasarkan studi sebelumnya, Famili tanaman *Zingiberaceae* telah terbukti memiliki sifat antioksidan salah satunya adalah rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia*). Rimpang kunyit hitam mengandung kurkumin, minyak, flavonoid, fenolat, asam amino, protein dan alkaloid. Menurut Baghel 2013, kandungan kunyit hitam memiliki fungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi dan antikarsinogenik yaitu kurkumin dan flavonoid. Ekstrak kunyit hitam memiliki aktivitas antioksidan dengan potensi yang kuat dengan presentase inhibisi radikal bebas sebesar 90% (Nayak, 2019).

Penelitian-penelitian dilakukan untuk menguji efek nefroprotektif pada ginjal yang diinduksi rifampisin. Beberapa di antaranya adalah efek nefroprotektif thymoquinone dari jintan hitam (*Nigella sativa*) dan juga kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*). Maka peneliti melakukan penelitian mengenai efek nefroprotektif ekstrak kunyit hitam yang diinduksi rifampisin dan isoniazid pada tikus wistar.

## **B. RUMUSAN MASALAH**

Apakah ekstrak rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia*) dapat mencegah terjadinya nefrotoksisitas tikus putih yang diinduksi rifampisin dan isoniazid?

## **C. TUJUAN PENELITIAN**

### **1. Tujuan Umum**

Untuk mengetahui efek proteksi ekstrak rimpang kunyit hitam terhadap nefrotoksisitas yang disebabkan oleh rifampisin dan isoniazid.

### **2. Tujuan Khusus**

- a. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia*) dalam mencegah peningkatan kadar kreatinin.
- b. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia*) dalam mencegah peningkatan kadar kreatinin.
- c. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kunyit hitam dalam memperbaiki dan menghambat kerusakan histologi ginjal akibat penggunaan rifampisin dan isoniazid.

## **D. MANFAAT PENELITIAN**

### **1. Manfaat Ilmiah**

Hasil penelitian ini diharapkan akan diperoleh informasi ilmiah tentang pengaruh ekstrak rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia*) terhadap nefrotoksisitas akibat rifampisin dan isoniazid.



## **2. Manfaat Aplikatif**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan bagi masyarakat tentang manfaat penggunaan ekstrak rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia*) dalam melindungi ginjal dari efek rifampisin dan isoniazid.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### A. URAIAN TANAMAN

Di Indonesia, kunyit hitam (*Curcuma caesia*) merupakan varian baru, kunyit yang muncul sebagai pendatang baru dalam pengobatan herbal.

#### 1. Klasifikasi Tanaman (Sudewo, 2012)

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Sub divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Zingiberales
Family	: Zingiberaceae
Genus	: Curcuma
Spesies	: <i>Curcuma caesia</i>



Gambar 1. Rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia*)

#### 2. Morfologi tanaman

Bentuk rimpangnya bergerombol seperti rimpang kencur, tinggi tanaman 0,40 — 0,60 m, rimpang berbentuk bulat telur bergerombol. Rimpang dari kunyit hitam berwarna biru kehitaman dan semakin tua rimpang, akan semakin pekat warnanya dan kuat aroma manisnya yang khas. Diameter rimpang 2-3,5 cm, bentuk dan ukurannya bervariasi, permukaan rimpang berwarna coklat gelap, hitam kebiruan atau kekuning-kuningan (Sudewo, 2012).

Kunyit hitam tumbuh dengan rimpang, akar utama memiliki akar anakan sebesar biji kurma, berwarna coklat kuning dan akar anakan ini bentuknya

meruncing di bagian ujungnya, akar anakan ini bergerombol, bunganya berwarna kuning pucat dengan kelopak bunga 10 — 15 mm, tumpuk bergerigi tiga, bunga ini muncul pada bulan Juni sampai Agustus. Kunyit hitam merupakan spesies sangat langka dan sebagian besar sedang dalam proses pengembangan (Sudewo, 2012).

## **2. Kandungan Kimia Tanaman**

Kandungan kimia dari rimpang kunyit hitam yaitu karbohidrat, protein, minyak dan lemak, steroid, terpenoid, alkaloid, glikosida, tanin, fenol yang terdeteksi dengan metode kimia standar. Secara tradisional, kunyit hitam digunakan untuk mengobati kista, kanker, asma, impotensi, epilepsi, gangguan haid, luka bakar, alergi dan fertilitas (Sudewo, 2012).

Aktivitas antioksidan pada kunyit hitam lebih tinggi daripada mangga. Berdasarkan analisis, diperoleh kandungan fenol total pada kunyit hitam sebanyak 44,33 mg TAE/g bahan kering sedangkan pada kunyit mangga sebanyak 37,64 mg TAE/g bahan kering. Fenol bersifat sebagai antioksidan yang dapat menghambat penggumpalan keping-keping sel darah dan melebarkan pembuluh darah, serta menghambat pertumbuhan sel kanker (Sudewo, 2012).

*Curcuma caesia* Roxb. (Kunyit hitam) adalah diakui sebagai ramuan obat yang berkhasiat untuk relaksan otot polos dan aktivitas anti-asma (Arulmozhi et al., 2006), aktivitas bronkodilatasi (Paliwal et al., 2011), aktivitas antioksidan (Mangla et al., 2010), aktivitas depresan ansiolitik dan SSP, depresan

lokomotor, anti-konvulsan (Karmakar, et al., 2011), aktivitas antielmintik (Gill R. et al., 2011), aktivitas anti-bakteri (Rajamma et al., 2012).

Studi fitokimia *Curcuma caesia* mengungkapkan adanya beberapa phytoconstituents seperti minyak atsiri dengan camphor, ar-turmerone, (Z) ocemene, ar-curcumene, 1,8-cineole, elemene, borneol, Bornyl acetate, curcumene, dll. Sejauh pengetahuan kami, tidak ada laporan mengenai aktivitas antimutagenik *Curcuma caesia*. Oleh karena itu kami telah memilih rimpang tanaman ini dan mengevaluasi aktivitas antioksidan dan antimutagenik dari beberapa ekstrak yang dipilih terhadap mutagen siklofosfamid yang bekerja secara tidak langsung (Heisnam PDet al., 2014).

## **B. TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan hewan pengerat dan sering digunakan sebagai hewan percobaan atau digunakan untuk penelitian, dikarenakan tikus merupakan hewan yang mewakili dari kelas mamalia, sehingga kelengkapan organ, kebutuhan nutrisi, metabolisme biokimianya, sistem reproduksi, pernafasan, peredaran darah dan ekskresi menyerupai manusia

### **1. Klasifikasi (Adiyati PN. 2011).**

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentai

Subordo	: Odontoceti
Familia	: Muridae
Genus	: Rattus
Species	: <i>Rattus norvegicus</i>

### 1. Jenis

Tikus putih yang digunakan untuk percobaan laboratorium yang dikenal ada tiga macam galur yaitu Sprague Dawley, Long Evans dan Wistar. Tikus galur *Wistar* memiliki ciri-ciri bentuk kepala lebih besar dengan ekor yang lebih pendek. Berat badan tikus dewasa adalah 250–300 gram untuk betina, dan 450–520 gram untuk jantan. Tikus ini jarang hidup lebih dari 3 tahun (Adiyati PN. 2011).

Tikus wistar ini adalah salah satu jenis strain tikus yang hampir banyak digunakan sebagai penelitian laboratorium. Tikus wistar memiliki ciri khas yaitu telinga panjang, kepala lebar dan memiliki panjang ekor yang selalu kurang dari panjang tubuhnya. Tikus wistar lebih agresif dari pada dengan tikus sprague dawyle. Tikus jantan banyak digunakan dibandingkan dengan tikus betina karena tikus jantan menunjukkan periode pertumbuhan yang lebih lama dibandingkan dengan betina (Moore, 2000).

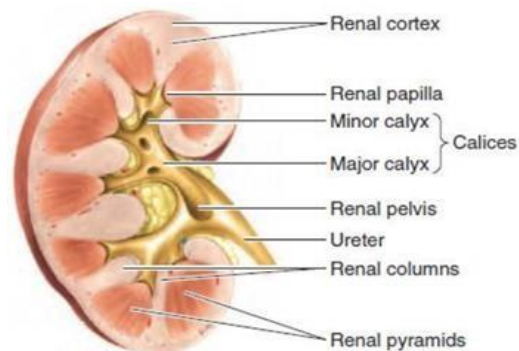


Gambar 2. Tikus galur *Wistar* (Moore, 2000).

## 2. GINJAL

### 1. Anatomi dan Fisiologi Ginjal

Ginjal terletak retroperitoneal pada dinding posterior abdomen, dan terletak setinggi T12-L dengan posisi ginjal kanan terletak sedikit lebih rendah daripada ginjal sinistra karena besarnya lobus hepatis dekstra. Selama hidup, ginjal memiliki warna coklat kemerahan dan memiliki ukuran panjang sekitar 10 cm, lebar 5 cm, dan tebal 2,5 cm (Price and Wilson, 2012). Pada batas medial konkaf setiap ginjal adalah celah vertikal, hilus renal, di mana arteria renalis masuk dan vena renalis serta pelvis renalis meninggalkan sinus renalis. Sinus renalis adalah suatu ruang di dalam ginjal yang diisi oleh pelvis renalis, *calices*, pembuluh dan saraf, serta sejumlah lemak. Pelvis renalis adalah ekspansi ujung superior ureter yang rata dan berbentuk seperti terowongan. Pelvisrenalis menerima 2-3 *calices renales majore*, yang masing-masing membagi menjadi 2-3 *calices renales minores* (Moore and Dalley, 2013).



Gambar 3. Arterior potongan koronal ginjal (Moore and Dalley, 2013).

Menurut Sherwood (2014), fungsi ginjal antara lain:

- a. Mempertahankan keseimbangan H<sub>2</sub>O di tubuh
- b. Mempertahankan osmolaritas cairan tubuh yang sesuai terutama melalui regulasi keseimbangan H<sub>2</sub>O
- c. Mengatur jumlah dan konsentrasi sebagian besar ion pada cairan ekstraseluler (CES)
- d. Mempertahankan volume plasma yang tepat, yang penting dalam pengaturan jangka panjang tekanan darah arteri.
- e. Membantu mempertahankan keseimbangan asam-basa tubuh yang tepat dengan menyesuaikan pengeluaran H<sup>+</sup> dan HCO<sup>-</sup> di urin.
- f. Mengekskresikan produk-produk sisa metabolisme.
- g. Menghasilkan hormon eritropoietin untuk merangsang produksi sel darah merah
- h. Menghasilkan enzim renin untuk memicu suatu reaksi berantai yang penting dalam penghematan garam oleh ginjal.

i. Mengubah vitamin D menjadi bentuk aktifnya.

Tiga proses dasar yang terlibat dalam pembentukan urin pada ginjal yaitu filtrasi glomerulus, reabsorpsi tubulus, dan sekresi tubulus. Pembentukan urin dimulai dengan filtrasi sejumlah besar cairan dari kapiler glomerulus ke kapsula Bowman. Kebanyakan zat dalam plasma, kecuali protein, difiltrasi secara bebas sehingga konsentrasinya pada filtrate glomerulus hampir sama dengan konsentrasi pada plasma. Ketika cairan yang telah difiltrasi ini meninggalkan kapsula Bowman dan mengalir melewati tubulus, cairan ini akan mengalami perubahan akibat adanya reabsorpsi air dan zat terlarut spesifik kembali ke dalam darah atau sekresi zat-zat lain dari kapiler peritubulus ke dalam tubulus (Sherwood, 2014; Guyton and Hall, 2006).

Sebagian besar zat yang harus dibersihkan dari darah, terutama produk akhir metabolisme seperti ureum, kreatinin, dan asam urat ataupun zat asing dan obat-obatan tertentu hanya direabsorpsi sedikit, dan karena itu, diekskresi dalam jumlah besar ke dalam urin. Sebaliknya, elektrolit seperti ion natrium, klorida, dan bikarbonat direabsorpsi dalam jumlah besar, sehingga hanya sejumlah kecil saja yang tampak dalam urin. Sedangkan zat nutrisi tertentu, seperti asam amino dan glukosa, direabsorpsi secara lengkap dari tubulus dan tidak muncul dalam urin meskipun sejumlah besar zat tersebut difiltrasi oleh kapiler glomerulus (Guyton and Hall, 2006).

Ginjal menjalankan fungsi yang vital sebagai pengatur volume dan komposisi kimia darah dan lingkungan dalam tubuh dengan mengekresikan zat



terlarut dan air secara selektif. Fungsi vital ginjal dicapai dengan filtrasi plasma darah melalui glomerulus dengan reabsorpsi tubulus sejumlah zat terlarut dan air dalam jumlah yang sesuai. Kelebihan zat terlarut dan air akan dieksresikan keluar tubuh dalam urin melalui sistem pengumpulan urin (Price dan Wilson, 2005). Menurut Guyton dan Hall (2007), fungsi ginjal, antara lain:

- a. Ekskresi produk metabolik (asam urat, kreatinin, dan bilirubin)
- b. Pengaturan osmolalitas cairan tubuh dan konsentrasi elektrolit
- c. Pengaturan tekanan arteri melalui sekresi natrium dan air serta renin
- d. Pengaturan produksi eritrosit melalui sekresi eritropoietin, yang merangsang pembentukan sel darah merah
- e. Sekresi, metabolisme, dan ekskresi hormon
- f. Glukoneogenesis Ginjal tidak dapat membentuk nefron baru sehingga pada trauma ginjal, penyakit ginjal, atau proses penuaan akan menyebabkan penurunan jumlah nefron secara bertahap.

Setiap nefron terdiri dari glomerulus yang menjalankan fungsi filtrasi cairan dan tubulus, tempat dialirkannya cairan hasil filtrasi. Cairan ini kemudian masuk ke dalam tubulus proksimal, melewati ansa henle menuju medulla renal. Kemudian setiap lengkungannya terdiri atas cabang asenden dan desenden. Pada ujung cabang asenden terdapat makula densa yang mengatur fungsi nefron. Setelah makula densa, cairan memasuki tubulus distal yang kemudian mengalirkan urin menuju pelvis renalis (Guyton dan Hall, 2005).

Jenis Pemeriksaan Fungsi Ginjal :

- a. Pemeriksaan Kadar Ureum
- b. Pemeriksaan Kadar Kreatinin
- c. Pemeriksaan Kadar Asam Urat
- d. Pemeriksaan Cystatin C
- e. Pemeriksaan  $\beta$ 2 Microglobulin
- f. Pemeriksaan Mikroalbuminuria
- g. Pemeriksaan Inulin

## D. OBAT ANTI TUBERKOLOSIS (OAT)

### 1. Rifampisin

Rifampisin adalah obat yang umumnya digunakan dan efektif untuk mengatasi TB, sering digunakan bersama Isoniazid. Rifampisin adalah derivat semisintetik rifamisin B yaitu salah satu anggota antibiotik makrosiklik yang disebut rifamisin. Kelompok zat ini dihasilkan oleh *Streptomyces mediterranei*. Obat ini merupakan ion zwitter yang larut dalam pelarut organik dan air yang pH nya asam. Derivat lainnya yaitu rifabutin dan rifapentin.

Rifampisin merupakan derivat semisintesis rifamycin, antibiotik yang diproduksi dari *Streptomyces mediterranei*. Rifampisin berikatan dengan sub unit  $\beta$  DNA bakteri dan dependent RNA Polimerase sehingga menghambat sintesis RNA. Rifampisin bersifat bakterisidal terhadap mikobakterium. Rifampisin bersifat lipofilik sehingga mudah berpenetrasi di jaringan dan sel fagosit (Katzung, 2007). Rifampisin diketahui menyebabkan beberapa efek samping, seperti nefrotoksisitas. Salah satu kondisi nefrotoksisitas yang terjadi yakni nefritis tubular interstisial akut, dimana rifampisin yang bergantung antibodi menyebabkan nekrosis tubular akut, hemolisis intravaskular, dan gejala mirip flu (Min dkk., 2013)

Mekanisme rifampisin menginduksi kerusakan ginjal akut diduga karena pengaruh reaksi hipersensitivitas antigen tipe II dan tipe III akibat rifampisin yang bergantung antibodi (immunoglobulin G dan IgM) dari pembentukan kompleks imun yang berdeposit di pembuluh darah ginjal

(pengaruh antigen I pada permukaan eritrosit menyebabkan terjadinyalisis sel), endothelial glomerulus, dan daerah interstisial. Adanya pembentukan kompleks imun ini menyebabkan vasokonstriksi vaskular dan iskemia tubular, sehingga memicu nekrosis tubular akut. Sedangkan nefritis interstisial akut disebabkan karena kompleks imun tersebut berdeposit di area interstisial (Chang dkk., 2014). Biopsi renal menunjukkan dari 106 pasien, 54% mengalami nefritis interstisial akut dan 38% menunjukkan adanya nekrosis tubular akut (Schuben, 2010). Rekha dkk. (2005), menunjukkan bahwa kerusakan ginjal akut di induksi oleh rifampisin disebabkan karena peroksidasi lipid dan stres oksidatif yang didukung oleh peningkatan kadar MDA (malonaldehida) dan konsentrasi diena terkonjugasi yang signifikan, sebuah penanda dari peroksidasi lipid dan protein seluler, setelah pemberian obat antituberkulosis.

Mekanisme peroksidasi lipid mengakibatkan kerusakan membran seluler, yakni adanya pembentukan radikal bebas peroksida  $O_2$  yang berikatan dengan atom OH dari lipid lain, produksi hidropersida lipid atau siklik peroksida, dan beberapa produk lain, termasuk MDA. Zat besi dapat memicu pemutusan senyawa peroksida ini membentuk radikal peroksil lipid yang dapat menyebabkan reaksi lebih lanjut dengan asam lemak tak jenuh lainnya sehingga terjadi reaksi berantai selama substrat tersedia (Sayuti dan Yenrina, 2015).

## 2. Mekanisme Kerja

$\beta$  RNA polymerase dependent-DNA bakteri diikat, sehingga pembentukan RNA terhambat merupakan mekanisme kerja rifampisin. Rifampisin dapat mematikan organisme yang sulit diakses oleh banyak obat lain, misalnya organisme intrasel dan yang terdapat di dalam abses dan kavitas paru.

Mekanisme rifampisin menginduksi kerusakan ginjal akut diduga karena pengaruh reaksi hipersensitivitas antigen tipe II dan tipe III akibat rifampisin yang bergantung antibodi (immunoglobulin G dan IgM) dari pembentukan kompleks imun yang berdeposit di pembuluh darah ginjal (pengaruh antigen I pada permukaan eritrosit menyebabkan terjadinya lisis sel), endothelial glomerulus, dan daerah interstisial. Adanya pembentukan kompleks imun ini menyebabkan vasokonstriksi vaskular dan iskemia tubular, sehingga memicu nekrosis tubular akut. Sedangkan nefritis interstisial akut disebabkan karena kompleks imun tersebut berdeposit di area interstisial (Chang dkk., 2014). Biopsi renal menunjukkan dari 106 pasien, 54% mengalami nefritis interstisial akut dan 38% menunjukkan adanya nekrosis tubular akut (Schuben, 2010). Rekha dkk. (2005), menunjukkan bahwa kerusakan ginjal akut di induksi oleh rifampisin disebabkan karena peroksidasi lipid dan stres oksidatif yang didukung oleh peningkatan kadar MDA (malonaldehida) dan konsentrasi diena terkonjugasi yang signifikan, sebuah penanda dari peroksidasi lipid dan protein seluler, setelah pemberian obat antituberkulosis. Mekanisme peroksidasi lipid

mengakibatkan kerusakan membran seluler, yakni adanya pembentukan radikal bebas peroksida O<sub>2</sub> yang berikatan dengan atom OH dari lipid lain, produksi hidroperoksida lipid atau siklik peroksida, dan beberapa produk lain, termasuk MDA. Zat besi dapat memicu pemutusan senyawa peroksida ini membentuk radikal peroksil lipid yang dapat menyebabkan reaksi lebih lanjut dengan asam lemak tak jenuh lainnya sehingga terjadi reaksi berantai selama substrat tersedia (Sayuti dan Yenrina, 2015).

### **3. Efek Samping**

Rifampisin jarang menimbulkan efek yang tidak diinginkan. Dengan dosis biasa, kurang dari 4% pasien tuberkulosis mengalami efek toksik. Yang paling sering ialah ruam kulit, demam, mual, dan muntah. Pada pemberian berselang dengan dosis lebih besar sering terjadi flu like syndrome, nefritis interstitial, nekrosis tubular akut, dan trombositopenia. Efek samping rifampisin adalah sebagai berikut: (1) Efek samping pada Saluran cerna (rasa panas pada perut, sakit epigastrik, mual, muntah, anoreksia, kembung, kejang perut, diare); (2) SSP (letih rasa kantuk, sakit kepala, ataksia, bingung, pening, tak mampu berfikir, baal umum, nyeri pada anggota, otot kendur, gangguan penglihatan, ketulian frekuensi rendah sementara (jarang)); (3) Hipersensitivitas (demam, pruritis, urtikaria, erupsi kulit, sariawan mulut dan lidah, eosinofilia, hemolisis, hemoglobinuria, hematuria, insufisiensi ginjal, gagal ginjal akut (reversibel)); (4) Hematologi (trombositopenia, leukopenia transien, anemia, termasuk anemia

hemolysis); (5) Intoksikasi lain: Hemoptisis, proteinureum rantai rendah, gangguan menstruasi, sindrom hematoreal (Swara Wida Sakti, 2018).

#### **4. Sediaan dan Posologi**

Sediaan rifampisin di Indonesia adalah sediaan kapsul 150 mg dan 300 mg, juga terdapat pula tablet 450 mg dan 600 mg serta suspensi yang mengandung 100mg/5 mL rifampisin. Dosis rifampisin sebagai OAT pada orang dewasa dalam dosis tunggal, BB 50kg adalah 600mg (pasien dengan gangguan fungsi hati tidak lebih dari 8mg/kgBB). Sedangkan, pada anak adalah 10-20 mg/kgBB sebagai dosis harian (dosis total tidak lebih dari 600 mg). Efek samping terhadap ginjal berupa insufisiensi ginjal dan gagal ginjal akut. Dapat muncul apabila dilakukan pemberian rifampisin diatas 600 mg/hari (Swara Wida Sakti, 2018).

#### **5. Pengaruh rifampisin terhadap ginjal**

Gangguan ginjal dapat terjadi karena penggunaan rifampisin. Misalnya efek toksik rifampisin pada ginjal secara histologis sering dihubungkan dengan kejadian acute tubulointerstitial nephritis (ATIN), tubular necrosis, papillary necrosis, acute cortical necrosis, dan minimal change disease. ATIN dan tubular necrosis merupakan kejadian yang paling sering terjadi. Efek nefrotoksik dari rifampisin lebih banyak dibanding dengan OAT lainnya. Insidensinya beragam, mulai dari 1,6% sampai 16% dari semua gangguan ginjal akut (GGA). Rifampisin menimbulkan efek nefrotoksik yang ditandai dengan adanya perubahan struktur ginjal dan penurunan fungsi ginjal. Penurunan fungsi ginjal

dikaitkan dengan teori imunitas dari rifampisin. Tubuh menganggap rifampisin sebagai antigen, lalu rifampisin mengikat komponen normal dari tubulus basal membran (TBM) atau interstitium. Kemudian terjadi ikatan antara rifampisin dengan molekul protein maka timbul respon imun dengan membentuk antibodi. Antibodi tersebut akan berikatan dengan rifampisin, sehingga terbentuk kompleks imun dan terjadi destruksi sel-sel ginjal. Hal ini yang menyebabkan penurunan fungsi ginjal. Penurunan fungsi ginjal juga dikaitkan juga dengan stres oksidatif. Hal ini karena rifampisin menginduksi terbentuknya Senyawa Oksidatif Reaktif atau Reactive Oxidative Species (ROS) di dalam tubuh. Senyawa ROS yang banyak dapat mengalahkan senyawa antioksidan yang ada di tubuh seperti glutathione (GSH), sehingga GSH mengalami deplesi. Stres oksidatif dapat ditandai dengan tingginya malondialdehid (MDA) di dalam darah. Hal ini mencerminkan ketidakseimbangan antioksidan dan oksidan di dalam tubuh. Pada penelitian sebelumnya didapatkan hubungan yang signifikan antara tikus yang diinduksi rifampisin terhadap rendahnya kadar superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX) dan depletes reduced glutathione (GSH) yang merupakan antioksidan alami didalam tubuh. Reaksi inflamasi juga diduga merupakan mekanisme terjadinya penurunan fungsi ginjal. Hal ini karena didapatkan tingginya kadar serum tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) karena induksi rifampisin. TNF- $\alpha$  merupakan suatu mediator pro inflamasi penanda adanya reaksi inflamasi. Dari pemeriksaan histologi ginjal juga didapatkan infiltrasi sel-sel inflamasi. Pada penelitian sebelumnya juga di



dapatkan sel MN, infiltrasi eosinofil, netrofil, fibrosis interstisial, atrofi tubulus ginjal dan lesi glomerulus pada hasil biopsi ginjal pada penderita ATIN akibat rifampisin. Kerusakan pada ginjal dapat terjadi pada glomerulus dan tubulus, keduanya dapat menurunkan fungsi ginjal. Kerusakan glomerulus ginjal mengakibatkan protein dan sel darah tidak terfiltrasi dan lolos bersama urin, sedangkan cedera pada tubulus ginjal dapat menimbulkan malabsorpsi bikarbonat, fosfat, potasium, glukosa dan asam amino (Swara Wida Sakti, 2018).

## **6. Isoniazid**

Isoniazid (INH, asam isonikotinic hidrazid) adalah obat antituberkulosis yang paling sering digunakan dan tersedia dengan atau tanpa kombinasi OAT lainnya. INH memiliki struktur yang mirip dengan piridoxin, karena memiliki cincin piridin dan tergolong kelompok hidrazin. Secara invitro, isoniazid menghambat basil tuberkel pada konsentrasi kurang dari 0,2 mcg/ml dan bersifat bakterisidal. Isoniazid berpenetrasi ke dalam makrofag dan menghambat pada ekstra dan intraselular mikroorganisme (Katzung, 2007). Mekanisme kerja isoniazid adalah menghambat sintesis asam mikolat pada dinding sel mikroba. Isoniazid merupakan prodrug yang diaktivasi oleh KatG, mikobakterial katalase-peroksidase. Aktivasi isoniazid menyebabkan adanya kompleks antara asil karier protein (AcpM) dan KasA, beta-ketoasil karier protein sintetase, yang memblokir sintesis asam mikolat. Isoniazid dengan cepat diabsorpsi di gastrointestinal dan sebagian besar diekskresikan dalam bentuk

metabolit dan sedikit dalam bentuk utuh dalam urin (Katzung, 2007). Pemberian rifampisin dan isoniazid dapat meningkatkan serum level TNF- $\alpha$  secara signifikan dibandingkan dengan kontrol. Analisa histopatologi menunjukkan perubahan bentuk dan lesi sel, seperti atrofi di bagian kuncung glomerular, displastik tubulus, dan inflamasi sel. Selain itu, terdapat pula peningkatan lipid peroksidase, glutathion peroksidase (GPx), superoksida dismutase (SOD), dan nitrit oksida akibat stress oksidatif. Stress oksidatif ini menyebabkan fragmentasi DNA, kerusakan protein dan sel (Martin dkk., 2016). Isoniazid dan rifampisin juga menginduksi kerusakan ginjal melalui stres oksidatif membentuk mediator vasoaktif yang berakibat pada infiltrasi glomerular dan inflamasi sehingga menyebabkan perubahan pada morfologi ginjal (Hashmi dkk., 2013).

## **7. Nefrotoksisitas Penggunaan Obat Anti Tuberkulosis**

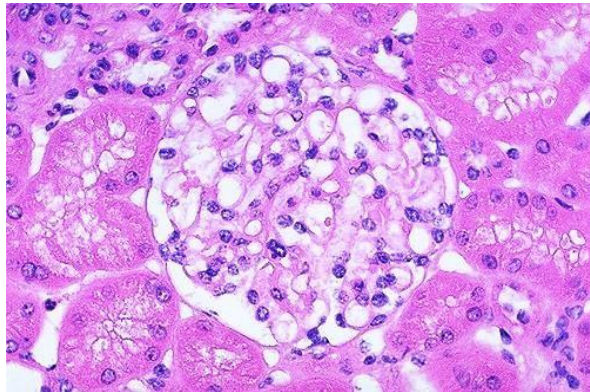
Obat-obat yang berpotensi memberikan efek samping pada fungsi ginjal dapat disebabkan karena pengaruh langsung pada ginjal atau terganggunya perfusi renal dan kondisi klinis pasien. Sekitar 19-25 % kerusakan ginjal akut terjadi pada pasien disebabkan karena penggunaan obat-obatan seperti antibiotik, antiinflamasi nonsteroid, inhibitor angiotensin converting enzyme, dan agen radiokontras (Naughton, 2008). Antimikroba yang digunakan dalam terapi tuberkulosis seperti isoniazid dan rifampisin juga diketahui dapat menyebabkan gangguan fungsi ginjal. Isoniazid dan rifampisin (50 mg/kg BB dan 250 mg/kg BB) dapat menginduksi kerusakan ginjal yang ditunjukkan dengan adanya peningkatan biomarker spesifik, yakni ureum dan kreatinin serum serta

penurunan infiltrasi glomerulus ringan sampai sedang yang merujuk pada kongesti di parenkimus renal, kondisi nekrosis sedang dan kondensi nukleus jika dibandingkan dengan kontrol (Hasmi dkk., 2013). Penggunaan isoniazid dan rifampisin selama terapi ini digunakan selama 6 bulan terapi (2 bulan tahap intensif bersama pirazinamid dan etambutol dan 4 bulan tahap lanjutan), sehingga pemantauan fungsionalitas harus dilakukan untuk menjamin kesesuaian farmakokinetika dan farmakodinamika obat (Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik, 2005).

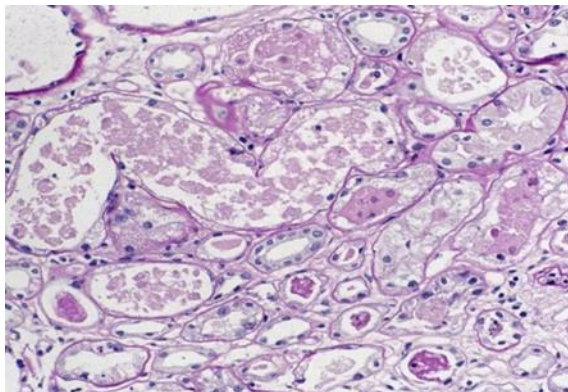
#### **D. HISTOPATOLOGI GINJAL**

Histologi adalah ilmu yang mencakup semua aspek biologi jaringan, yang berfokus pada mekanisme susunan dan struktur sel dalam mengoptimalkan fungsi spesifik setiap organ (Mescher, 2011). Histopatologi sendiri merupakan disiplin ilmu yang memberikan informasi diagnostik terhadap perubahan struktur jaringan yang berkaitan dengan suatu penyakit. Sebagian besar pemeriksaan histopatologi dilakukan untuk melihat perubahan pada struktur suatu jaringan di dalam tubuh yang diakibatkan infeksi, inflamasi, maupun kanker. Meskipun perubahan spesifik dapat diamati melalui biomarker darah dan urin, namun biopsi jaringan masih menjadi gold standar untuk menentukan diagnosa suatu penyakit (Orchard dan Nasution, 2011). Pengamatan histopatologi ginjal dilakukan dengan melihat komponen dan perubahan jaringan unit fungsionalitas ginjal, yakni nefron. Gambar 4 menunjukkan kondisi nefron yang normal, sedangkan gambar 5 menunjukkan

kondisi nefron yang mengalami nekrosis tubular akut dan ditandai dengan adanya vakuolisasi dan nekrosis sel tubulus.



**Gambar 4. Glomerulus dan tubulus normal (Pewarnaan HE, 100 x) (Mescher, 2011)**



**Gambar 5. Nekrosis tubular akut yang ditandai dengan vakuolisasi dan nekrosis tubulus (Pewarnaan Schiff, 400 x) (Fogo, 2003)**

Prosedur yang paling sering digunakan dalam mempelajari jaringan yakni penyiapan sediaan histologi atau irisan jaringan yang diamati di bawah mikroskop cahaya. Namun, diperlukan persiapan pembuatan sediaan jaringan mikroskopik agar tetap memiliki struktur dan komposisi molekul yang sama seperti pada tubuh. Tahapan persiapan sediaan jaringan dimulai dengan proses fiksasi menggunakan larutan dapar isotonik dari formaldehid 10% untuk menghindari pencernaan jaringan secara autolisis atau oleh bakteri sehingga struktur dan komponen molekul dapat dipertahankan. Kemudian dilakukan

pemendaman dalam medium padat untuk memudahkan pemotongan. Bahan pemendaman atau impregnasi jaringan. Biasanya proses ini dilakukan dalam 2 tahap, yakni dehidrasi menggunakan alkohol yang konsentrasinya meningkat secara bertahap mulai dari 70% sampai 100% (pengerinan). Jaringan kemudian ditambahkan parafin cair dan dimasukkan kedalam oven suhu 52-60 °C agar pelarut menguap dan diisi oleh parafin. Potongan jaringan akan menjadi keras dan dapat dipotong dengan mikrotom untuk memperoleh jaringan dengan ketebalan 1-10 µm. Selanjutnya, lembaran jaringan dipulas dengan pewarna Mayer's hematoksilin-eosin. Hematoksilin akan mewarnai DNA dan struktur asam lain menjadi biru dan eosin mewarnai sitoplasma dan kolagen menjadi merah muda. Kemudian potongan tersebut diletakkan di atas kaca penutup pada kaca objek dengan media perekat (Mescher, 2011).

#### **E. KUNYIT HITAM (*Curcuma caesia*)**

Kunyit hitam mengandung kurkuminoid, flavonoid dan minyak atsiri. Terdapat kurkumin dalam kurkuminoi dalam minyak atsiri. Kedua zat tersebut merupakan zat yang membuat tanaman ini bermanfaat. Kurkumin merupakan komponen aktif sebagai antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas yang berbahaya dan mencegah terjadinya stres oksidatif. Efek nefroprotektif ditunjukkan kurkumin adalah menekan pembentukan NF-kB yang merupakan faktor transkripsi sejumlah gen penting dalam proses imunitas dan inflamasi, salah satunya untuk membentuk TNF- $\alpha$ .

Kunyit hitam dapat mengurangi stres oksidatif dimana stres oksidatif

terjadi akibat dari ketidakseimbangan antara generasi spesies oksigen reaktif dan ketidakmampuan tubuh untuk mendetoksifikasi spesies atau memperbaiki kerusakan yang dihasilkan. Generasi spesies oksigen reaktif mengganggu seluruh lingkungan sel seperti protein, lipid, DNA dan bahkan dapat menghasilkan perubahan struktur DNA yang menyebabkan mutasi dan berbagai komplikasi lain seperti diabetes, penyakit arteri koroner. Kunyit hitam telah memvalidasi aktivitas antioksidannya serta efek perlindungannya jika terjadi toksisitas dan kanker karena adanya fenol dan flavonoid dalam ekstrak rimpangnya. Fenolat adalah senyawa di mana gugus hidroksil yang melekat pada struktur cincin benzena memberi kemampuan untuk mengurangi radikal bebas. Mekanisme lain yang diamati untuk aktivitas antioksidannya termasuk mengurangi radikal bebas, kemampuan donasi hidrogen atau elektron, modulasi ekspresi gen dan interaksi dengan jalur pensinyalan sel. Fenolik juga bertindak dengan memperlambat degradasi oksidatif molekul bio (Wojdyio A et al,2007).

Antioksidan adalah zat yang dapat melawan pengaruh bahaya dari radikal bebas yang terbentuk sebagai hasil metabolisme oksidatif yaitu hasil dari reaksi- reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi didalam tubuh. Metode yang paling sering digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan adalah metode yang melibatkan spesies radikal bebas yang kemudian akan dinetralisasi oleh senyawa antioksidan. Radikal bebas didefinisikan sebagai sebuah atom atau molekul yang memiliki minimal sebuah electron yang tidak

berpasangan . Radikal bebas umumnya dapat memisahkan elektron-elektron dari molekul lain yang dapat menyebabkan reaksi pembentukan radikal yang berantai (Owen.2002).

Antioksidan dibagi menjadi 4 tipe berdasarkan fungsinya, yaitu:

1. Tipe pemutus rantai reaksi pembentuk radikal bebas dengan cara menyumbangkan atom H, contohnya vitamin E.
2. Tipe pereduksi yang mampu mentransfer atom H atau oksigen dan bersifat pemulung, contohnya vitamin C.
3. Tipe pengikat logam yang mampu mengikat zat peroksidan ( $Fe^{2+}$  dan  $Cu^{2+}$ ), contohnya flavonoid, asam sitrat dan EDTA.
4. Antioksidan selular yang mampu mendekomposisi hidrogen peroksida menjadi bentuk stabil, contohnya pada manusia dikenal superoksida dismutase, katalase dan *glitacion peroksidase*.

Antioksidan mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan spesies oksigen reaktif, mampu menghambat terjadinya penyakit degeneratif serta mampu menghambat peroksidase lipid pada makanan. Antioksidan sangat bermanfaat bagi kesehatan dan berperan penting untuk mempertahankan mutu produk pangan. Berbagai kerusakan, yaitu ketengikan, perubahan gizi, perubahan warna dan aroma serta kerusakan fisik lain pada produk pangan karena oksidasi. Proses oksidasi tersebut dapat dihambat oleh antioksidan.

Radikal bebas dan spesies oksigen reaktif (ROS) merupakan kondisi

patologik dari penyakit tertentu seperti terjadinya inflamasi, gangguan metabolik, penuaan sel, aterosklerosis, dan karsinogen. Inflamasi adalah proses yang diperantarai sintesis prostaglandin dengan katalis sikooksigenase. Pada proses ini dihasilkan zat antara berupa radikal bebas (Lautan, 1997). Radikal bebas dan spesies oksigen reaktif (ROS) merupakan radikal hidroksil (OH), radikal anion superoksida ( $O_2^-$ ), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), dan singlet oksigen ( $1 O_2$ ). Radikal bebas adalah senyawa oksigen yang reaktif dan tidak memiliki elektron yang tidak berpasangan. Jika tubuh memiliki kadar radikal bebas yang tinggi memicu munculnya berbagai macam penyakit degeneratif. Adanya antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari radikal bebas dan dapat mengurangi atau meredam dampak negatif dari radikal bebas tersebut, antioksidan menjadi suatu komponen yang sangat penting. Antioksidan sendiri merupakan suatu molekul yang sangat reaktif yang dapat menghambat adanya reaksi oksidasi pada tubuh dengan mengikat radikal bebas (Winarsi, 2007). Radikal bebas dan ROS menyebabkan kerusakan pada komponen biologi seperti protein, DNA, dan lipid. Kerusakan makromolekul bisa menimbulkan katarak, kanker, dan penyakit pembuluh darah (Langsethm, 1995 dalam Suryanto dan Wehantouw, 2009).

Senyawa antioksidan dapat menonaktifkan dan menghambat radikal bebas. Antioksidan dapat menghambat reaksi oksidasi dengan menyumbangkan atom hidrogen atau chelating logam. Sintetis antioksidan



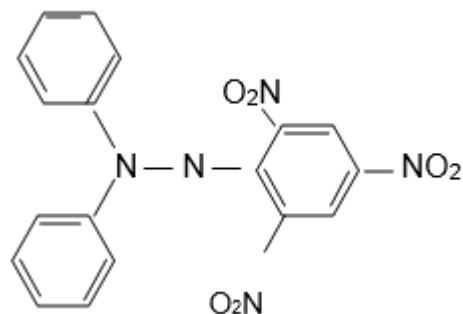
seperti *butylated hidroksianisol* (BHA) dan *butylated hydroxy toluene* (BHT) digunakan sebagai bahan tambahan dalam makanan untuk mencegah oksidasi lipid. Antioksidan alami biasanya ada pada tanaman yang mengandung senyawa polifenol.

Radikal bebas adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada disekitarnya. Jika elektron yang terikat oleh senyawa radikal bebas tersebut bersifat ionik, dampak yang timbul tidak berbahaya. Akan tetapi, bila elektron yang terikat radikal bebas berasal dari senyawa yang berikatan kovalen, akan sangat berbahaya karena ikatan digunakan secara bersama-sama pada orbital terluarnya. Umumnya, senyawa yang memiliki ikatan kovalen adalah molekul- molekul besar (biomakromolekul), seperti lipid, protein, maupun DNA (winarsi, 2007).

Radikal dapat terbentuk secara endogen dan eksogen. Radikal endogen terbentuk dalam tubuh melalui proses metabolisme normal di dalam tubuh. Contohnya oksidasi enzimatis, fagositosis, transport elektron, dan oksidasi logam transisi melalui *ischemic* (Widianti, 2012).

Mekanisme reaksi pembentukan radikal bebas terdiri atas tiga tahap, yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Tahap inisiasi, merupakan tahap awal pembentukan radikal bebas. Tahap kedua adalah propagasi, yaitu perubahan

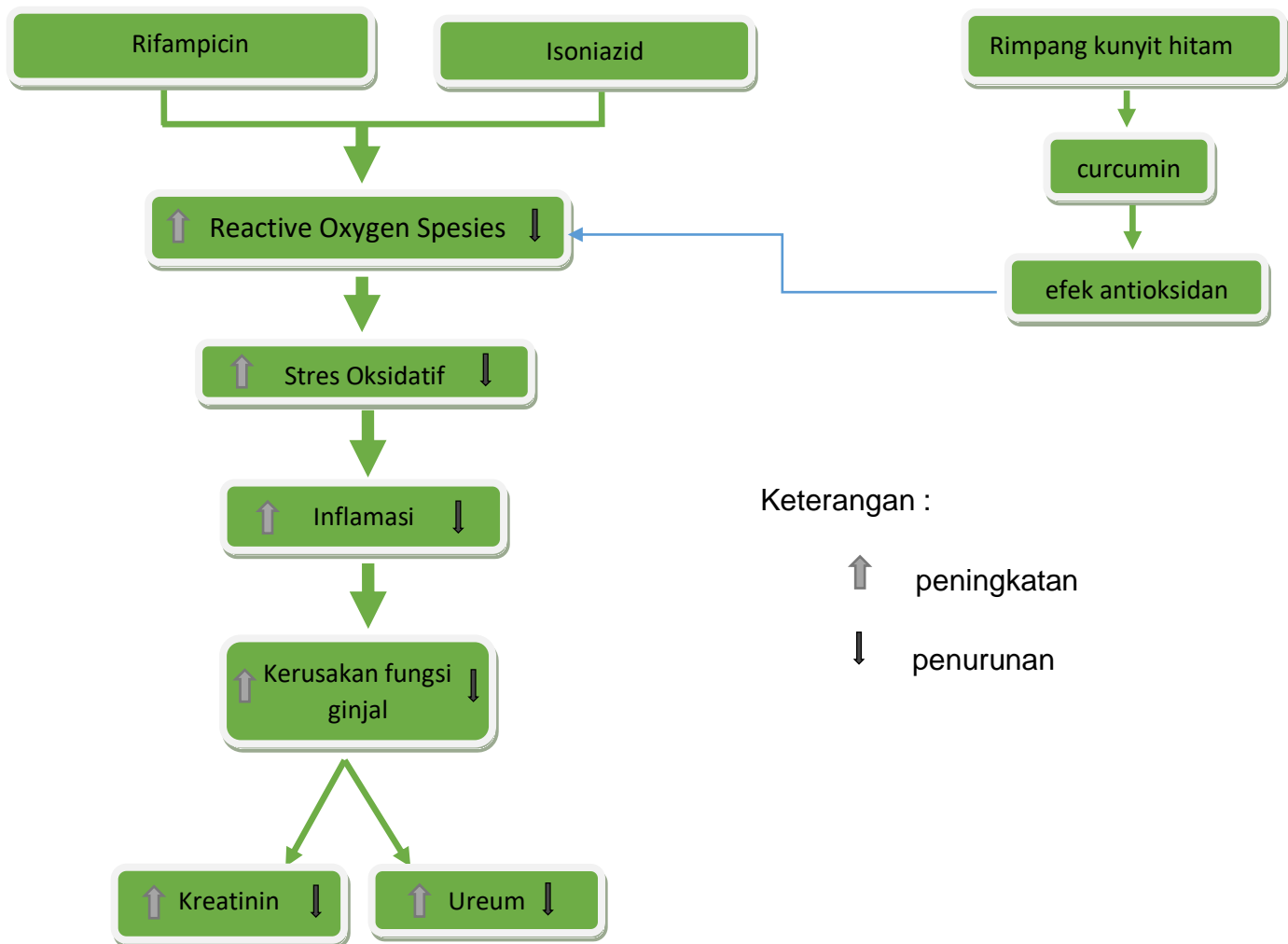
suatu molekul radikal bebas menjadi radikal bentuk lain. Tahap yang terakhir adalah terminasi. Terminasi adalah tahap dimana terjadi penggabungan dua molekul radikal bebas dan membentuk produk yang stabil. Radikal bebas dalam jumlah normal bermanfaat bagi kesehatan misalnya, memerangi peradangan, membunuh bakteri, dan mengendalikan tonus otot polos pembuluh darah serta organ-organ dalam tubuh. Sementara dalam jumlah berlebih mengakibatkan stress oksidatif. Keadaan tersebut dapat menyebabkan kerusakan oksidatif mulai dari tingkat sel, jaringan, hingga ke organ tubuh yang mempercepat terjadinya proses penuaan dan munculnya penyakit. Antioksidan dibutuhkan untuk dapat menunda atau menghambat reaksi oksidasi oleh radikal bebas (Widianti, 2012).



Struktur Radikal Bebas (Widianti, 2012)



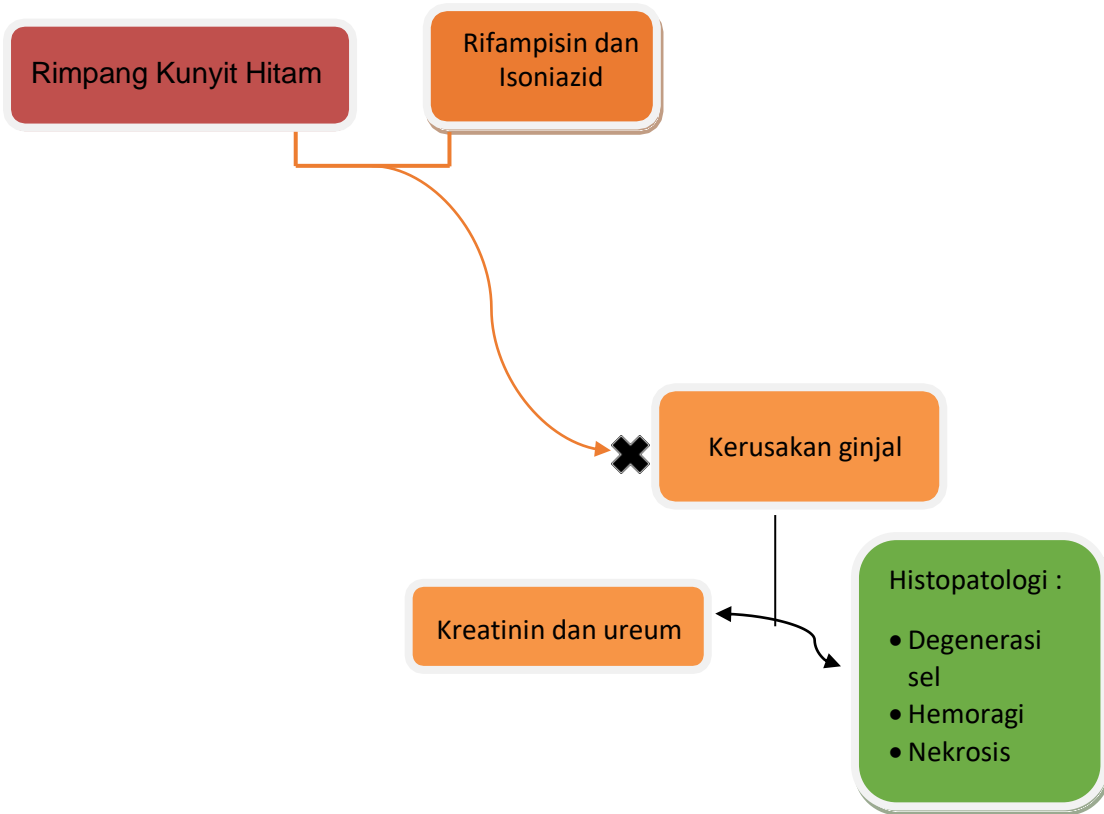
**BAB III**  
**KERANGKA TEORI**  
**A. KERANGKA TEORI**





Keterangan :

- ↑ peningkatan
- ↓ penurunan

## B. KERANGKA KONSEP



Keterangan :

-  Variable Bebas
-  Variable tergantung

### C. HIPOTESIS PENELITIAN

Ekstrak rimpang Kunyit Hitam (*Curcuma caesia*) dapat memberikan efek proteksi terhadap kerusakan ginjal akut yang di sebabkan oleh rifampisin dan isoniazid.

