

**UJI TOKSISITAS AKUT ORGAN GINJAL
PADA TIKUS WISTAR SETELAH APLIKASI *PULP-OUT*:
KAJIAN TERHADAP UREUM, KREATININ, DAN
HISTOLOGI**

*Acute Toxicity Test of Kidneys in Wistar Rats After Pulp-out
Application: Study of Ureum, Cratinine, and Histology*

TESIS



NUR FADHILAH AMIR HAMZAH MUHIDDIN

J025 181 004

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS

PROGRAM STUDI KONSERVASI GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2021

**UJI TOKSISITAS AKUT ORGAN GINJAL PADA TIKUS
WISTAR SETELAH APLIKASI *PULP-OUT*: KAJIAN
TERHADAP UREUM, KREATININ, DAN HISTOLOGI**

TESIS

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai
Gelar Profesi Spesialis Bidang Ilmu Konservasi Gigi**

Disusun dan Diajukan Oleh

NUR FADHILAH AMIR HAMZAH MUHIDDIN

J025 181 004

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS

PROGRAM STUDI KONSERVASI GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2021

PENGESAHAN TESIS

**UJI TOKSISITAS AKUT ORGAN GINJAL PADA TIKUS
WISTAR SETELAH APLIKASI *PULP-OUT*: KAJIAN
TERHADAP UREUM, KREATININ, DAN ORGAN GINJAL**

**Diajukan oleh
NUR FADHILAH AMIR HAMZAH MUHIDDIN
J025 18 1004**

**Telah disetujui,
Makassar, 15 Juni 2021**

Pembimbing I



**Dr. drg. Maria Tanumihardja, MDSc
NIP. 19610216 198702 2 001**

Pembimbing II



**Dr. drg. Juni Jekti Nugroho, Sp.KG(K)
NIP. 19710625 200501 2 001**

**Ketua Program Studi
Pendidikan Dokter Gigi Spesialis
Konservasi Gigi**



**drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D, Sp.KG(K)
NIP. 19640518 199103 2 001**

**Dekan
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin**



**drg. Muhammad Ruslin, M.Kes, Ph.D, Sp.BM(K)
NIP. 19730702 200112 1 001**

TELAH DIUJI OLEH PANITIA PENGUJI TESIS

PADA TANGGAL 17 APRIL 2021

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Dr. drg. Maria Tanumihardja, M.DSc

Anggota : Dr. drg. Juni Jekti Nugroho, Sp.KG (K)

Dr. drg. Aries Chandra Trilaksana, Sp.KG (K)

drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D, Sp.KG (K)

drg. Christine Anastasia Rovani, Sp.KG (K)

Mengetahui,

Ketua Program Studi

Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi



drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D, Sp.KG (K)

NIP. 19640518 199103 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : NUR FADHILAH AMIR HAMZAH MUHIDDIN

Nomor Mahasiswa : J025 181 004

Program Studi : Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis
Bidang studi Konservasi Gigi

Menyatakan dengan sebenar-benarnya 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 sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 15 Juni 2021

Yang Menyatakan



Nur Fadhilah A.H.M

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Assalamualaikum wr, wb

Dengan mengucapkan puji dan syukur kehadiran Allah SWT, karena atas berkat, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan judul “Uji Toksisitas Akut Organ Ginjal Pada Tikus Wistar Setelah Aplikasi *Pulp-out* : Kajian Terhadap Ureum, Kreatinin, dan Histologi”.

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat :

1. **drg. Muhammad Ruslin, M.Kes, Ph.D., Sp.BM (K)** sebagai dekan Fakultas Kedokteran Gigi UIniversitas Hasanuddin periode 2019-2023 atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi Universitas Hasanuddin Makassar.
2. **Dr. drg. Maria Tanumihardja, M.DSc** sebagai pembimbing I yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan tenaga dalam memberikan arahan, masukan serta dukungan untuk menyelesaikan penelitian ini.
3. **Dr. drg. Juni Jekti Nugroho, Sp.KG (K)** sebagai pembimbing II yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan tenaga dalam memberikan arahan, masukan serta dukungan untuk menyelesaikan penelitian ini.
4. **drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D, Sp.KG (K)** sebagai Ketua Program Studi Konservasi Gigi serta sebagai dosen dan penguji yang telah bersedia memberikan bimbingan, saran dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.
5. **Dr. drg. Aries Chandra Trilaksana, Sp.KG (K)** sebagai dosen dan penguji yang telah bersedia memberikan bimbingan, saran dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.
6. **drg. Christine Anastasia Rovani, Sp.KG (K)** sebagai dosen dan penguji yang telah bersedia memberikan bimbingan, saran, dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.

7. **Dr. drg. Andi Sumidarti, M.Kes, drg. Yongki Rehatta, dan drg. Noor Hikmah, Sp.KG** sebagai dosen yang selalu memberikan bimbingan dan masukan selama Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi.
8. **dr. M. Husni Cangara, Ph.D, Sp.PA, DFM**, yang telah sangat membantu dalam proses pembuatan preparat histologi dan pembacaan hasil *slide* histologi sampel penelitian ini.
9. Seluruh staf Laboratorium Sekolah Tinggi Farmasi, **Lukman Muslimin** yang telah banyak membantu dalam proses pembuatan ekstrak.
10. Teman seperjuangan penelitianku **Andi Fatimah T., dan Punggawa Gauk K.**, suka dan duka penelitian ini dilalui bersama.
11. Sahabat Angkatan 2018 lainnya (**Sri Wahyuni, Aisyah Pertiwi U, Elizabeth Murniati, Meita U.T, Rina Kosi, Irawati Basir, dan Sherlita W.U.**).
12. Terkhusus kepada:
 - a. Suami tercinta, **Magister (FH) Muhammad Arham, B.Ec, MA, Ph.D**, terima kasih atas segala doa, dukungan dan kesabaran selama penulis menuntut ilmu.
 - b. Ayah **Dr. Ir. Amir Hamzah Muhiddin, MSi.** dan Ibu **Dra. Rachmaniar Ramli** tercinta yang telah memberikan dukungan moril maupun materil selama penulis menjalani proses Pendidikan.
 - c. Bapak mertua **Muhammad Seniman Latif** dan Ibu mertua **Almh. Hajerah Tamma** tercinta, terima kasih atas doa dan dukungan kepada Ananda selama ini.

Akhirnya dengan penuh kesadaran dan kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih yang setulus-tulusnya serta penghargaan kepada semua pihak yang tidak sempat penulis sebutkan satu persatu dan semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat, ridha dan karunia-Nya kepa kita semua dan berkenan menjadikan tesis ini bermanfaat.

Makassar, 15 Juni 2021



Nur Fadhilah A.H.M.

ABSTRAK

NUR FADHILAH A.H.M. Uji Toksisitas Akut Organ Ginjal Pada Tikus Wistar Setelah Aplikasi *Pulp-out*: Kajian Terhadap Ureum, Kreatinin, dan Histologi. (Dibimbing oleh **Maria Tanumihardja** dan **Juni Jekti Nugroho**)

Latar Belakang: Pulpitis ireversibel adalah inflamasi pulpa yang penanganannya memerlukan anestesi atau devitalisasi pulpa sebelum dilakukan perawatan saluran akar. Devitalisasi pulpa yang umum digunakan memiliki kandungan paraformaldehid yang terbukti memberikan efek toksik pada organ ginjal. Bahan alternatif devitalisasi pulpa yang berbasis herbal telah dikembangkan yaitu *pulp-out*. *Pulp-out* merupakan kombinasi ekstrak getah jarak, akar sidaguri, dan *melittin* yang terbukti dapat mematikan saraf pulpa gigi kelinci akan tetapi belum diketahui keamanannya untuk diaplikasikan ke manusia. Salah satu uji toksisitas awal dilakukan pada organ ginjal yang hal ini penting dalam filtrasi dan ekskresi sisa metabolisme. **Tujuan:** Mengetahui efek toksisitas akut pada organ ginjal setelah aplikasi *pulp-out* pada tikus wistar. **Metode:** Penelitian eksperimental laboratoris menggunakan 12 sampel tikus wistar dibagi menjadi 4 kelompok masing-masing tiga tikus, yaitu kelompok dosis ringan 50mg, kelompok dosis sedang 500mg, kelompok dosis maksimal 2500mg dan kelompok kontrol dengan waktu pengamatan 14 hari setelah aplikasi *pulp-out*. Parameter yang dievaluasi adalah ureum, kreatinin menggunakan indikator penilaian BCR (*blood ureum creatinine ratio*) dan skoring histologi ginjal. **Hasil:** Terjadi peningkatan BCR pada dosis maksimal 2500mg ($\geq 20\text{mg/dl}$), dan degenerasi hidrofilik pada histologi ginjal kurang dari 75%. **Kesimpulan:** *Pulp-out* tidak menimbulkan toksisitas akut terhadap ginjal pada semua dosis dan degenerasi pada histologi bersifat reversibel pada dosis maksimal 2500 mg. *Pulp-out* bisa dikembangkan sebagai bahan devitalisasi pulpa.

Kata kunci : Devitalisasi pulpa, *pulp-out*, urea, kreatinin, dan ginjal.

ABSTRACT

NUR FADHILAH A.H.M. *Acute Toxicity Test of Kidneys in Wistar Rats After Pulp-out Application: Study of Ureum, Cratinine, and Histology.*

(Supervised by **Maria Tanumihardja** and **Juni Jekti Nugroho**)

Background: Irreversible pulpitis is pulp inflammation that should be anesthetized or devitalized prior to root canal treatment. Commercial devitalizing agent contains paraformaldehyde which is systemically toxic to kidney based on some studies. Herbal-based devitalizing agent is being developed, called *pulp-out*, combination of extract *J. curcas*, *Sida rhombifolia*, and *melittin* that could devitalize pulp of rabbit. Concerning safety for human, toxicity test should be conducted to observe its systemic impact. Kidney is one of the crucial organs in filtration and excretion of waste metabolism product. **Aim:** To examine the acute toxicity on kidney after pulp-out application of 50mg, 500mg, and 2500mg dosage. **Method:** This laboratory experimental study evaluated the level of ureum, creatinine using BCR (blood ureum creatinine ratio), and histology scoring of kidneys. Twelve samples of Wistar rats allocated into four groups of 3; group 1: 50mg dosage, group 2 : 500mg dosage, group 3 : 2500mg dosage, and control group, kept for 14 days. **Results:** based on BCR ratio was slightly increased (>20mg/dl) in group 3 and 75% of hydrophilic degeneration under histology evaluation which was reversible. **Conclusion:** *Pulp-out* does not cause acute toxicity to kidney, therefore, *pulp-out* can be further developed as herbal-based pulp devitalizing agent.

Key words : Pulp devitalization, *pulp-out*, ureum, creatinine, and kidneys.

DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	i
KATA PENGANTAR	ii
ABSTRAK	v
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Toksikologi	5
2.2 Devitalisasi Pulpa	6
2.2.1 <i>Pulp-out</i>	7
2.2.2 Tanaman Jarak Pagar (<i>Jatropha curcas Linn</i>)	8
2.2.3 Tanaman Sidaguri (<i>Sida rhombifolia L</i>)	9
2.2.4 <i>Melittin (Apis Mellifera)</i>	10
2.3 Ginjal	11
2.3.1 Ureum dan Kreatinin	14
2.3.2 Gambaran Histopatologi Ginjal	16
2.4 Kerangka Teori	19
2.5 Kerangka Konsep	20
2.6 Hipotesis	20
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	21
3.1 Jenis Penelitian	21
3.2 Desain Penelitian	21
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian	21

3.4	Definisi Operasional.....	21
3.5	Sampel Penelitian.....	22
3.6	Perhitungan Besar Sampel.....	22
3.7	Variabel Penelitian.....	24
3.8	Alat dan Bahan.....	24
3.9	Data Penelitian.....	24
3.10	Prosedur Penelitian.....	25
3.11	Alur Penelitian.....	27
BAB IV HASIL PENELITIAN		28
4.1	Pengamatan Biokimia Ureum dan Kreatinin.....	28
4.2	Pengamatan Histologi Ginjal.....	30
BAB V PEMBAHASAN		32
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN		36
6.1	Kesimpulan	36
6.2	Saran.....	36
DAFTAR PUSTAKA		37
LAMPIRAN.....		43

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Anatomi Ginjal.....	12
Gambar 2 Fungsi Ginjal.....	13
Gambar 3 Cedera Tubuler Akut.....	17
Gambar 4 Degeneratif Ginjal.....	17
Gambar 5 Gambaran Mikroskopis Degenerasi Hidrofilik Ginjal.....	31

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Nilai Rerata Konsentrasi Ureum Darah.....	28
Tabel 4.2 Nilai Rerata Konsentrasi Kreatinin Darah.....	29
Tabel 4.3 Nilai Rasio BCR	29
Tabel 4.4 Hasil Pengamatan Gambaran Mikroskopik Ginjal.....	30

DAFTAR LAMPIRAN

1. Dokumentasi Penelitian
2. Surat Rekomendasi Persetujuan Komisi Etik

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pulpitis ireversibel merupakan inflamasi pulpa yang memerlukan tindakan anestesi sebelum melakukan ekstirpasi pulpa. Perawatan saluran akar pada kasus pulpitis ireversibel melalui anestesi kadang terkendala dengan masih adanya rasa sakit yang dikeluhkan pasien sehingga pemberian bahan devitalisasi pulpa menjadi alternatif untuk perawatan selanjutnya (Antoniak *et al*, 2017). Bahan devitalisasi pulpa yang banyak tersedia di pasaran umumnya mengandung paraformaldehid yang merupakan polimerisasi formaldehid yang dapat mendevitalisasi pulpa (Inci *et al*, 2013). Toksisitas yang disebabkan paparan formaldehid akibat metabolisme aerob dan inflamasi dapat menyebabkan produksi dan pelepasan *Reactive Oxygen Species* (ROS), perubahan pada komponen sel protein, lipid, dan DNA (Ramos *et al*, 2016).

Dampak paraformaldehid pada organ ginjal tikus menunjukkan adanya peningkatan konsentrasi urea dan kreatinin (Inci *et al* (2013) Penelitian lainnya oleh Ramos *et al* (2016) melaporkan bahwa paparan formaldehid dalam jangka waktu pendek pada tikus menyebabkan perubahan morfologi ginjal serta inflamasi. Perubahan histopatologi juga dilaporkan terjadi setelah paparan paraformaldehid yang menimbulkan efek *nephrotoxic* berat (Zararsis *et al*, 2006)

Ginjal merupakan pusat homeostasis tubuh dengan meregulasi tekanan darah, air, sodium, potasium, keasaman, mineral tulang, dan haemoglobin, namun fungsi utamanya adalah mengekskresikan produk sisa metabolisme di urin (Rayner *et al*, 2016). Selain itu, ginjal memiliki sifat melarutkan ikatan protein-toksikan dan mengatur pH cairan di tubuler yang dapat merubah larutan menjadi bentuk reaktif sehingga ginjal turut berfungsi dalam metabolisme xenobiotik (Haschek, 2010).

Kesehatan fungsi ginjal dapat diukur dari beberapa parameter antara lain kadar ureum dan kreatinin. Keduanya merupakan hasil metabolisme nitrogen protein dan umumnya terfiltrasi di glomerulus ginjal karena memiliki ukuran molekul kecil. Bila terjadi perubahan konsentrasi ureum dan kreatinin, juga terjadi perubahan pada filtrasi ginjal, *Glomerular Filtration Rate* (GFR) (Widyastuti *et al*, 2019).

Penelitian-penelitian terus dikembangkan untuk mencari alternatif bahan devitalisasi baik dari bahan sintetik maupun dari tanaman medisinal. Tanumihardja *et al* (2019) telah melakukan penelitian yang menemukan bahwa kombinasi ekstrak getah jarak dan akar sidaguri dapat mematikan saraf gigi pada kelinci namun terjadi proses inflamasi selama kematian sel.

Penelitian selanjutnya oleh Hamid (2020) dengan menambahkan *melittin* pada ekstrak getah jarak dan akar sidaguri membuktikan kombinasi ketiganya terbukti cukup efektif sebagai alternatif devitalisasi pada pulpa gigi kelinci. Kematian sel pulpa menunjukkan kesamaan dengan kematian pulpa

setelah pemberian bahan devitalisasi sintetik. Kombinasi ketiga ekstrak dinamakan *pulp-out*.

Uji keamanan terhadap pemanfaatan tanaman medisinal belum banyak dilakukan karena herbal dianggap cukup aman dalam penggunaannya. Di lain pihak, terdapat laporan kasus adanya peningkatan resiko keracunan akut atau kronik herbal terhadap manusia (Aydin *et al*, 2016)

Pulp-out sudah menunjukkan adanya potensi dimanfaatkan sebagai alternatif bahan devitalisasi pulpa berbasis herbal akan tetapi efek sistemik *pulp-out* belum pernah dikaji. Hal ini membuat peneliti tertarik untuk melakukan penelitian bagaimana efek sistemik terhadap organ ginjal dengan mengevaluasi gambaran histologi organ dan fungsi ginjal melalui pengamatan konsentrasi ureum kreatinin pada tikus wistar yang diaplikasikan *pulp out*. Hal ini digunakan sebagai acuan awal dalam menilai keamanan *pulp out* lewat uji toksisitas akut.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah paparan *pulp-out* selama 14 hari dapat menimbulkan efek toksik akut pada organ ginjal tikus Wistar?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui adanya efek toksisitas akut *pulp-out* terhadap organ ginjal tikus Wistar.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui gambaran histologi ginjal setelah pemberian *pulp-out* pada dosis rendah, sedang, dan tinggi.
2. Mengukur konsentrasi urea dan kreatinin setelah pemberian *pulp-out* pada dosis rendah, sedang, dan tinggi.
3. Membandingkan gambaran histologi organ ginjal antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan
4. Membandingkan kadar ureum dan kreatinin anantara kelompok kontrol dan perlakuan

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Umum

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan mengenai toksisitas *pulp-out* dengan membandingkan gambaran histologi dan biokimia ginjal berbagai dosis pemberian.

1.4.2 Manfaat Khusus

1. Penelitian ini diharapkan agar dokter gigi dapat mempertimbangkan penggunaan devitalisasi pulpa untuk mencegah terjadinya kerusakan organ lebih lanjut.
2. Penelitian ini diharapkan *pulp-out* dapat dijadikan pertimbangan bahan alternatif devitalisasi pulpa sebelum perawatan endodontik.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Toksikologi

Toksikologi berhubungan dengan deteksi, identifikasi, analisa dan pengukuran obat-obatan dan senyawa asing lainnya (xenobiotik) dan metabolitnya pada spesimen biologis dan yang terkait yang masuk dalam tubuh. Xenobiotik adalah zat asing yang secara alami tidak terdapat dalam tubuh manusia seperti obat-obatan, insektisida, dan zat kimia (Rahayu dan Solihat, 2018).

Spesimen biologi baik dari manusia maupun hewan, dapat terpapar senyawa asing (xenobiotik) melalui jalur pernafasan, pencernaan, atau absorpsi kulit. Umumnya jalur paparan xenobiotik dapat melalui mulut menuju sistem pencernaan usus yang kemudian diabsorpsi. Selanjutnya xenobiotik didistribusi ke seluruh tubuh melalui peredaran darah (Chhabra, 1979).

Untuk mengetahui dampak xenobiotik yang terpapar dalam tubuh, perlu dilakukan uji toksisitas yang meliputi toksisitas jangka pendek/toksitas akut (1-2 minggu), toksisitas subakut (4 minggu - 6 bulan), dan toksisitas kronis (1-1½ tahun) yang dilakukan untuk menentukan efek jangka panjang (Saganuwan, 2017). Hal ini dilakukan untuk mengetahui struktur, fungsional, atau cedera biokemikal dasar, hubungan dosis dan respon, mekanisme toksisitas secara biokimia, kemampuan penyembuhan setelah terpapar toksik, dan faktor yang dapat mempengaruhi rute paparan, spesies ataupun jenis

kelamin sehingga memberikan penilaian dasar acuan, berikut perlindungan dan penyesuaian yang tepat dapat dilakukan (Dekant & Vamvakas, 2005).

Penelitian toksisitas akut merupakan tahap pertama pada analisis toksikologi untuk xenobiotik, baik kandidat obat maupun tanaman medisinal tradisional herbal. Tujuan uji toksisitas akut adalah untuk menentukan dosis toksik namun subletal yang menjadi dasar seleksi dosis pada uji toksisitas dosis berulang. Dosis awal untuk tingkat dosis bisa dilakukan dengan dosis 5, 50, 300, dan 2000 mg/kg (Aydin *et al*, 2016). Organ yang umum diteliti untuk mengetahui toksisitas suatu xenobiotik adalah paru-paru, hati, kulit, ginjal, sistem hematopoietik, persarafan, dan sistem imun (Barile, 2019).

Penelitian toksisitas penting dipahami untuk menjaga kesehatan masyarakat. Hal ini meliputi uraian mekanisme, klinis, atau teori deskriptif toksikologi. Penelitian toksikologi dibutuhkan untuk melakukan tahap pertama percobaan yaitu uji preklinik sebelum evaluasi klinis dan pemasaran. Prosedur uji toksisitas dapat dilakukan secara *in vitro* dan sesuai protokol hewan (Barile, 2019).

2.2 Devitalisasi Pulpa

Devitalisasi pulpa adalah teknik operatif *painless* yang umum digunakan pada tindakan pertama pulpitis. Hal ini dapat dilakukan pada pasien saat anestesi tidak efektif, memiliki riwayat kasus alergi pada anestesi lokal dan hemofilia. Bahan agen devitalisasi yang umum digunakan adalah arsen, paraformaldehid dimana kandungan utama dari arsen tradisional adalah arsenic

trioxide, yang memiliki toksisitas tinggi pada sel protoplas, serabut saraf, dan pembuluh darah saat berada di pulpa (Zhen-ya, 2013).

Paraformaldehid merupakan polimerisasi formaldehid yang merupakan gas tak berwarna, mudah larut dalam air dan membuat iritasi. Kandungan bahan devitalisasi ini umum digunakan saat ini. Beberapa penelitian menjelaskan bahwa paparan kronis terhadap formaldehid menyebabkan iritasi pada sensori, salivasi, *dyspnea*, sakit kepala, insomnia, kejang dan kelainan saraf. Toksisitas yang disebabkan paparan formaldehid akibat metabolisme aerob dan inflamasi dapat menyebabkan produksi dan pelepasan *reactive oxygen species* (ROS) yang dapat menyebabkan perubahan pada komponen sel protein, lipid, dan DNA (Ramos *et al*, 2016).

Banyaknya dampak yang dapat ditimbulkan oleh obat devitalisasi sintetik telah mendorong upaya untuk mencari bahan-bahan baru pengganti obat devitalisasi yang ada antara lain dari bahan berbasis herbal (Peteljova *et al*, 2019).

2.2.1 Pulp-out

Pemanfaatan ekstrak herbal sebagai tanaman medisinal telah dipercaya efektif mengobati karena dapat berinteraksi dengan reseptor kimia spesifik di dalam tubuh yang memiliki farmakodinamik sendiri. Produk herbal memiliki berbagai potensi dan menghindari banyak efek samping yang berasal dari obat konvensional. Walaupun demikian obat herbal juga perlu diteliti untuk mengetahui efek sampingnya sehingga dapat diberikan secara bijak dan aman digunakan (Taheri *et al*, 2011).

Pulp-out merupakan bahan alternatif berbasis herbal untuk dikembangkan sebagai bahan devitalisasi pulpa. *Pulp-out* merupakan kombinasi ekstrak akar sidaguri, getah jarak dan *melittin* yang selama ini telah diteliti dan dapat menyebabkan kematian sel pulpa seperti bahan devitalisasi sintetik yang ada.

2.2.2 Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* Linn)

Jatropha curcas Linn (*Euphorbiaceae*) merupakan pohon kecil yang bertahan pada kondisi yang kering atau semak besar, yang tersebar luas didunia. Beberapa bagian dari *J. Curcas* telah digunakan sebagai obat tradisional dan tindakannya untuk mencegah demam, konvulsi, penyakit veneral, konstipasi, penyakit kulit, rheumatik, malaria, diabetes, luka, gigitan ular, hemoroid, amenorhea dan oligomenorhea, penyakit kuning dan permasalahan hati (Anyawu *et al*, 2018).

Sediaan jus, pasta, rebusan atau lainnya dari tanaman getah jarak telah digunakan juga sebagai pencegahan dan penanganan kebersihan mulut, sakit gigi, ulser mulut, bibir pecah-pecah, gusi berdarah, dan karies gigi (Anyawu *et al*, 2018). Pengamatan fitokimia menunjukkan adanya kandungan sterol atau triterpen. Aglikon flavon, tanin, senyawa pereduksi, glikosida steroid, poliose dan saponin pada tanaman jarak. Senyawa tanin diketahui dapat menyebabkan presipitasi protein, sedangkan saponin dapat mempengaruhi sel dan dapat menyebabkan hemolisis (Tanumihardja *et al*, 2019).

Berdasarkan sifat yang dimiliki tanaman jarak ini, Mattulada (2008) melaporkan adanya radang akut sedang pada pengamatan 24 jam yang beralih

ke keadaan kronis, kemudian terdapat lisis yang menunjukkan pecahnya pembuluh darah pada pulpa gigi menyebabkan terjadinya nekrosis pulpa dan terjadi penurunan rasa nyeri yang kemungkinan disebabkan karena terjadinya nekrosis pada pulpa gigi.

Selain itu getah jarak yang asam dilaporkan dapat membuat gigi mudah keropos yang dapat mempengaruhi kelarutan komponen jaringan keras gigi. Mattulada (2013) menemukan bahwa setelah perendaman gigi selama 3 hari terjadi penurunan kekerasan mikro walaupun penurunan ini tidak signifikan secara statistik.

2.2.3 Tanaman Sidaguri (*Sida rhombifolia* L)

Sida rhombifolia L merupakan jenis sidaguri yang mudah ditemukan dan telah banyak diteliti. Seluruh bagian tumbuhan sidaguri memiliki efek analgetik dan anti-inflamasi. Akar sidaguri digunakan untuk mengobati rematik, asma, influenza, sakit gigi dan mengurangi rasa nyeri pada pembengkakan akibat sakit gigi. Tumbuhan ini digunakan dengan cara menggigitkannya pada bagian gigi yang sakit atau berkumur dengan air rebusan akar sidaguri. Natsir *et al* (2014) melaporkan bahwa ekstrak sidaguri memiliki potensi sebagai analgetik dengan dosis konsentrasi 0,6 g/kgBB dan efek terbesar didapatkan pada dosis 2,4g/kgBB. Sebagai fitofarmako, herbal sidaguri telah dikemas dan dipasarkan sebagai obat penurun asam urat (Tanumihardja *et al*, 2013).

2.2.4 *Melittin (Apis mellifera)*

Racun lebah disebut apitoksin merupakan campuran beberapa protein: *melittin* (komponen utama 52%), apamin, adolapin, phospholipase A2, hyaluronidase, histamin, dopamin and protease inhibitor. Racun ini pahit, tanpa warna dengan kepadatan 1.1313g/cm³ dan pH 5.0-5.5. Bahan ini telah lama digunakan kurang lebih 22 abad, terutama di Asia Timur. Lebah (*Apis mellifera L.*) dapat menginjeksikan 0.012-0.1mg racun melalui sengatnya. Racun lebah ditemukan efektif dalam penanganan nyeri yang baik karena sifat anti-inflamasi yang efektif dalam mengurangi nyeri pada *post-herpetic neuralgia*. Komponen utamanya adalah *melittin* yang terdiri dari 52% peptida racun (Ram *et al*, 2014).

Moon *et al* (2007) menunjukkan bahwa *melittin* memiliki efek menekan respon pro-inflamasi dari BV2 microglia dan menyimpulkan bahwa *melittin* berpotensi untuk menangani penyakit neurodegeneratif bersama dengan aktivasi microglial. *Melittin* menekan ekspresi NO dan iNOS dengan menahan aktivasi LPS pada sel NF-kB di BV2 microglial. Hal ini mengindikasikan bahwa *melittin* dapat menekan ekspresi COX-2/PGE2 yang merupakan efek sifat anti-inflamasinya (Lee & Bae, 2016).

Melittin dapat digunakan sebagai terapi yang toksisitasnya dinetralkan untuk digunakan sebagai agen anti-inflamasi. Efek sitotoksik melitin bermanfaat untuk anti-tumor. *Melittin* juga diketahui memiliki sifat litik yang tinggi pada sel eritrosit manusia yang langsung mengikat eritrosit dan melepaskan hemoglobin. Saat *melittin* menimbulkan hemolisis, akan nampak

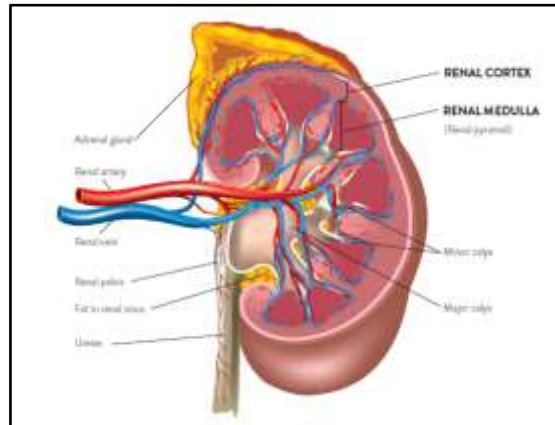
pembengkakan eritrosit setelah kebocoran kation dari membran sel. *Melittin* sitotoksik pada *human peripheral blood lymphocytes* (HPBLs) tergantung pada dosis dan waktu yang mengakibatkan granulasi, perubahan morfologi, dan akhirnya terjadi lisis sel (Lee & Bae, 2016).

Berdasarkan sifat anti-inflamasinya, Hamid (2020) menyatakan bahwa kombinasi getah jarak, akar sidaguri dan *melittin* yang disebut *pulp-out* menunjukkan jalur kematian sel yang sama dengan bahan devitalisasi komersil sehingga kombinasi ini dapat dipertimbangkan sebagai alternatif bahan devitalisasi berbasis herbal, akan tetapi kajian terhadap dampak sistemik yang ditimbulkan masih sangat terbatas.

2.3 Ginjal

Ginjal merupakan sepasang organ berada di belakang hati dan usus kecil bagian belakang. Keduanya dilindungi oleh sepasang tulang rusuk ke-11 dan 12. Ginjal bagian kiri lebih tinggi dibandingkan bagian kanan, dikarenakan hati mengisi area atas ginjal bagian kanan (Killeen, 2017).

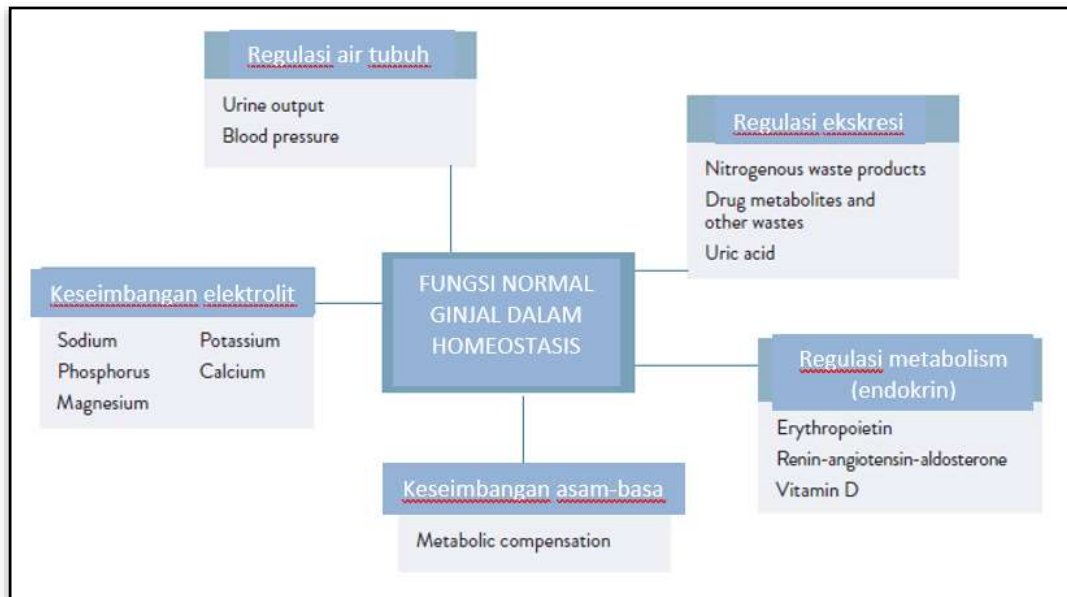
Ginjal berfungsi penting sebagai filtrasi dan ekskresi produk sisa metabolisme dari darah, regulasi elektrolit dan stimulasi produksi sel darah merah. Ginjal juga meregulasi tekanan darah dengan menggunakan *system renin-angiotensin-aldosterone*, mengontrol reabsorpsi air, menangani pH serta keseimbangan kimia dan status cairan intravaskuler tubuh. Ginjal juga menyerap glukosa dan asam amino yang dapat terlibat pada regulasi fungsi hormonal melalui eritropoietin, calcitrol, dan aktivasi vitamin D (Maurya *et al*, 2018).



Gambar 1. Anatomi Ginjal

Sumber: Killeen AA. *Kidney learning guide series*.2017

Ginjal merupakan pusat homeostasis. Melalui mekanisme sensori, ginjal meregulasi lingkungan ekstraseluler seperti detoksifikasi dan ekskresi metabolit racun dan obats sehingga ginjal dapat menjadi pertimbangan utama sebagai organ untuk mengoksidasi racun (Kim & Moon, 2012). Ginjal juga meregulasi komposisi ion, pH, jumlah darah, tekanan darah dan gula darah serta produksi hormon (Killeen, 2017), dengan fungsi utamanya adalah mengekskresikan produk sisa metabolisme di urin (Rayner *et al*, 2016).



Gambar 2. Fungsi ginjal berdasarkan penanganan homeostasis
 Sumber: Killeen AA. *Kidney learning guide series*.2017

Ginjal termasuk dalam organ yang banyak memiliki pembuluh darah yang normalnya sebanyak $\pm 20\%$ dari hasil keluaran jantung dan 10-50 kali lebih besar dibandingkan organ lainnya berdasarkan beratnya (Kopitko *et al*, 2016).

Mekanisme fungsi kerja ginjal diatur oleh nefron. Nefron dan *collecting ducts* berkerja dengan cara memfiltrasi darah yang sebagian besar adalah air dan zat terlarut. Saat cairan menuju ke nefron, zat terlarut seperti glukosa, asam amino, urea dan ion, serta protein dan peptide direabsorbsi ke darah. Kemudian mensekresikan hydrogen, potassium, ammonium, obat tertentu dari sel tubulus kembali kedalam cairan tubuler (Killeen, 2017).

Berdasarkan sirkulasi darah, ginjal menerima 25% hasil metabolisme dari jantung, dengan 85% aliran darah renal di korteks, 14% di *outer medulla*,

dan hanya 1% di *inner* medulla. Perbedaan mikroanatomi ginjal yang signifikan terhadap perfusi dan aliran darah serta konsumsi oksigen ini membuat ginjal lebih rentan terhadap paparan konsentrasi xenobiotik dan bahan kimia (Radi, 2019), namun ginjal memiliki sifat melarutkan ikatan protein-toksikan dan mengatur pH cairan di tubuler yang dapat merubah larutan menjadi bentuk reaktif sehingga ginjal turut berfungsi dalam metabolisme xenobiotik (Haschek, 2010).

2.3.1 Ureum dan Kreatinin

Urea atau *blood urea nitrogen* (BUN) dan kreatinin merupakan produk sisa metabolisme protein dan di filtrasi di glomerulus sehingga keduanya digunakan sebagai marker ginjal (Alya *et al*, 2019).

Timbulnya kerusakan ginjal adalah saat terjadi penurunan drastis pada ekskresi ginjal dan fungsi metabolik pada akumulasi metabolisme nitrogen seperti urea dan kreatinin pada darah (Petejova *et al*, 2019). Patologi dan toksisitas pada ginjal dapat dinilai dengan parameter patologi klinis standar seperti *blood urea nitrogen* (BUN) dan serum kreatinin, adanya gangguan keseimbangan elektrolit dan air, ekskresi protein dan elektrolit urin, volume urin, tampilan, pH, kuantitas mikroalbumin, dan penilaian makroskopik - mikroskopik jaringan ginjal (Radi, 2019).

Konsentrasi urea bergantung pada asupan protein, kapasitas tubuh mengkatabolisme protein, dan ekskresi urea oleh sistem renal. Peningkatan urea dapat dipengaruhi oleh kandungan protein yang tinggi atau penurunan ekskresi renal (Salazar, 2014).

Kreatinin merupakan sisa produk yang diproduksi dari uraian kreatin dan fosfokreatin yang diekskresi dan dapat dijadikan sebagai indikator fungsi ginjal. Sebagian besar kreatinin diproduksi di otot, dengan demikian konsentrasi plasma kreatinin dipengaruhi oleh massa otot. Jika dibandingkan dengan urea, kreatinin tidak dipengaruhi oleh asupan sehingga dapat dijadikan indikator fungsi ginjal (Salazar, 2014).

Ureum dan kreatinin di proses secara berbeda di tubulus ginjal. Urea diserap kembali di tubulus sebanyak 40-50% sedangkan kreatinin tidak. Hal ini dipengaruhi oleh regulasi neurohormonal sehingga perlu digunakan rasio urea/kreatinin (BCR) sebagai penilaian aktivitas neurohormonal, sehingga dapat membantu penilaian prognosis penyakit ginjal (Alya *et al*, 2019).

Peningkatan ureum terbagi menjadi pra-renal, renal intrinsik, dan pasca-renal. Rasio BCR (*blood urea creatinine ratio*) dapat membantu mendiagnosis terjadinya peningkatan ureum pra-renal menggunakan nilai batas 20 melalui perbandingan ureum/kreatinin (Uchino *et al*, 2012).

Gagal ginjal akut merupakan salah satu kelainan fungsional ginjal karena adanya kerusakan ginjal yang terjadi selama kurang dari tiga bulan. Kerusakan ini dapat diketahui pada pemeriksaan darah, urin, atau jaringan ginjal (Krstic *et al*, 2016). Saat terdeteksi gagal ginjal akut, maka tingkat urea dan kreatinin pada darah akan meningkat, sekresi urin menurun, dan cairan elektrolit serta asam basa akan menurun (Konukoglu, 2018).

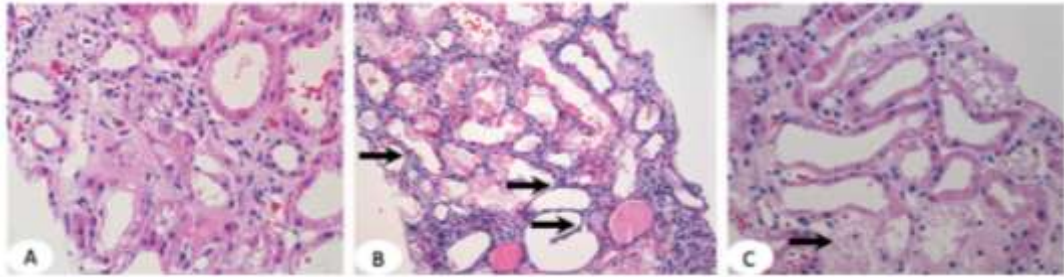
Obat-obatan umumnya memberikan efek toksik pada ginjal di sel glomerular, interstitial, dan tubuler terhadap konsentrasi obat dan metabolitnya,

yang dapat memicu perubahan fungsi dan struktur ginjal. Sel tubuler ginjal rentan terhadap efek toksik obat karena perannya dalam konsentrasi dan menyerap kembali filtrat glomerular yang terpapar toksin. Toksisitas ginjal bisa diakibatkan oleh perubahan hemodinamik, cedera pada sel-sel dan jaringan, cedera jaringan inflamasi, dan obstruksi ekskresi ginjal (Makris dan Spanou, 2016).

2.3.2 Gambaran Histopatologi Ginjal

Ginjal merupakan organ target terjadinya toksisitas dan cedera akibat paparan obat, xenobiotik, atau kimia. Hal ini diantaranya karena ginjal menerima aliran darah per-gram yang tinggi ke jaringannya dibandingkan organ lainnya, kemudian fungsi ginjal dalam ekskresi yaitu melalui urin, biotransformasi metabolik dan konsumsi oksigen epitel ginjal tinggi, aktivitas transportasi epitelium ginjal tinggi, dan peran ginjal dalam menyerap kembali dan kemampuannya konsentrasi cairan (Radi, 2019).

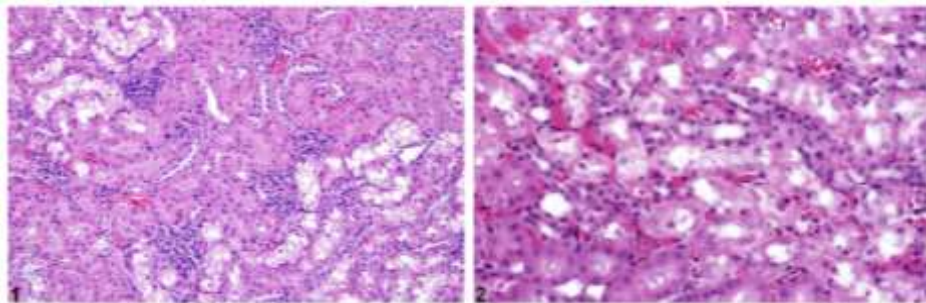
Histopatologi merupakan penilaian yang tepat untuk menilai kerusakan pada ginjal selain melalui ureum dan kreatinin. Kerusakan ginjal seperti gagal ginjal akut secara histologi ditandai dengan fokal atau difus dilatasi pada luminal tubuler, menipisnya lapisan epitel, hilangnya batas tubulus proksimal, hilangnya inti dan / atau adanya nucleolus pada tubuler. Pada nekrosis sel epitelial nampak adanya pembengkakan sitoplasmik (oncosis), degenerasi sitoplasmik organel, dan *ghost-like* tubuler berwarna merahmuda gelap pada pewarnaan HE seperti pada gambar berikut (Gaut dan Liapis, 2020):



Gambar 3. (A) Cedera tubuler akut di tubulus proksimal menunjukkan dilatasi luminal, penipisan epitelium, dan kehilangan nucleus sel epitel pada beberapa sel dan hilangnya batas. (B) Cedera akut tubuler digambarkan nekrosis sel epitel tubuler (sitoplasma merah muda gelap tanpa nucleus) dan hilangnya membrane dasar (panah). (C) Panah menunjukkan tubuler nekrosis. Dilatasi tubulus dilapisi epitel.

Sumber: Gaut PJ dan Liapis H. *Acute kidney injury pathology and pathophysiology: a retrospective review.* 2020

Degenerasi merupakan entitas nonspesifik yang dapat timbul dari beberapa etiologi yang mengganggu fungsi sel dan seringkali merupakan indikator awal nekrosis. Degenerasi dalam beberapa kasus, diawali oleh vakuolasi seperti pada gambar berikut:

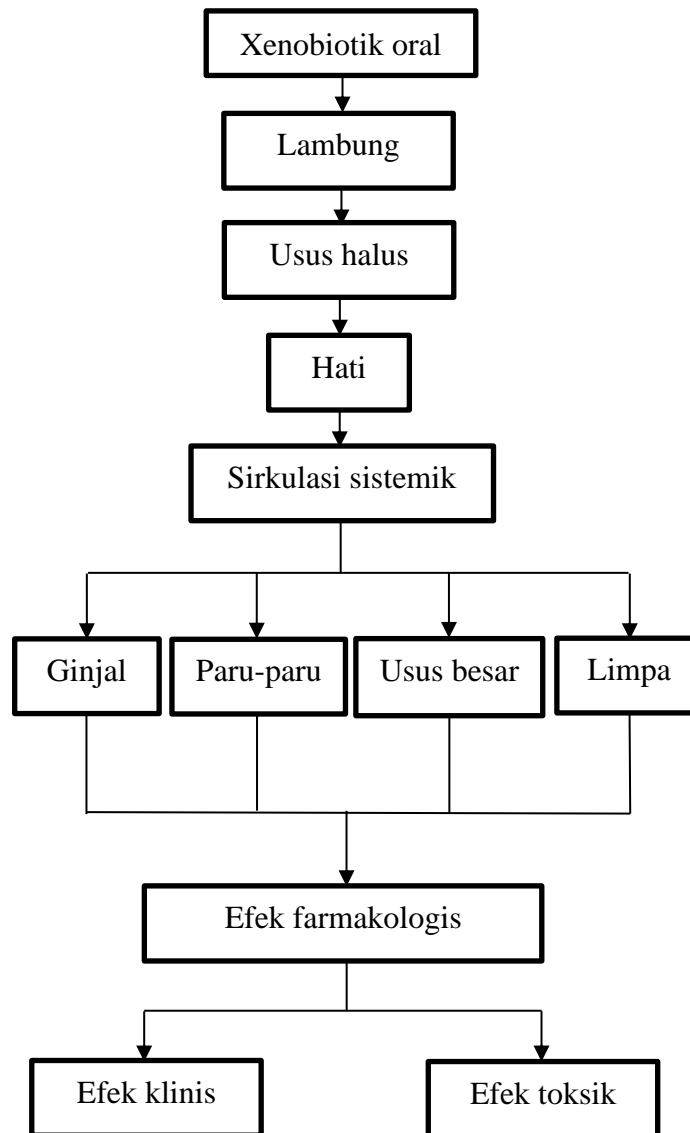


Gambar 4. (1) Degenerasi tikus jantan hemizygous dari penelitian subkronik. Degenerasi sel epitel tubuler kortikal ditandai vakuolasi sitoplasma dan pyknosis nukleus. (2) Degenerasi tikus betina dari penelitian subkronik. Pada kasus ini degenerasi ditandai dengan sel tubuler disertai perubahan tintorial eosinophil dan vakuolasi sitoplasmik.

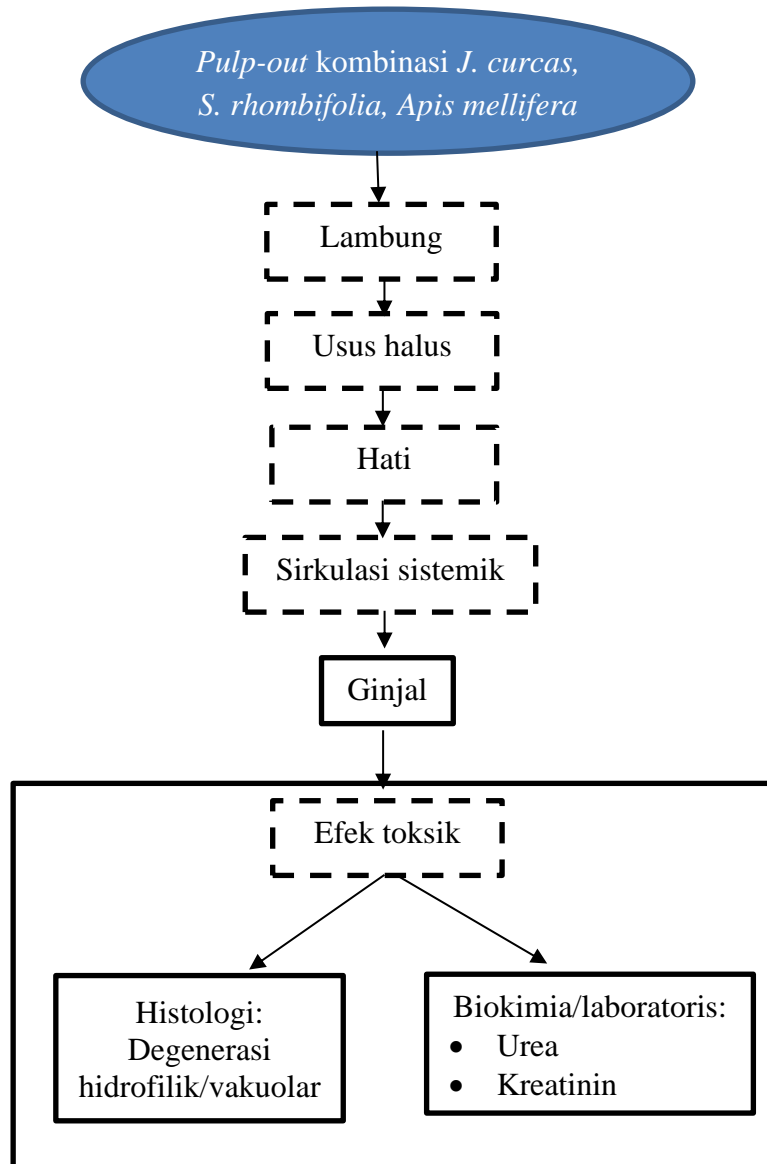
Sumber: Frazier *et al.* *Proliferative and non-proliferative lesions in the rat and mouse urinary system.* 2012

Secara umum, degenerasi ditandai dengan beberapa gambaran sel morfologi dan variabel, seperti pembengkakan sel dengan atau tanpa vakuolasi sitoplasma dan sitoplasma yang nampak pucat dan terfragmentasi. Degenerasi harus dibedakan dari apoptosis, yang merupakan normal pergantian sel di ginjal. Nekrosis umumnya meliputi pembengkakan sel, pynoksis nucleus dan / atau *karyorrhesis*, dan pengikisan sel. Degenerasi dapat bersifat reversible atau ireversibel (Frazier *et al*, 2012).

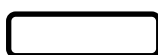
2.4 Kerangka Teori



2.5 Kerangka Konsep



Keterangan :



Variabel dependen



Variabel independen

2.6 Hipotesis Penelitian

Aplikasi *pulp-out* tidak menyebabkan toksisitas akut pada penilaian biokimia /laboratoris urea, kreatinin dan histologi ginjal.