

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK PRODUK HERBAL
HEPATOPROTEKTOR (HEPARMIN®) TERHADAP
HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*)**

**SUBCHRONIC TOXICITY TEST OF
HEPATOPROTECTOR HERBAL PRODUCT
(HEPARMIN®) ON HISTOPATHOLOGY OF KIDNEY IN
ALBINO RATS (*Rattus norvegicus*)**

MUH. FADEL RAHMANSYAH

N011 19 1170



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK PRODUK HERBAL
HEPATOPROTEKTOR (HEPARMIN®) TERHADAP HISTOPATOLOGI
GINJAL PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

**SUBCHRONIC TOXICITY TEST OF HEPATOPROTECTOR HERBAL
PRODUCT (HEPARMIN®) ON HISTOPATHOLOGY OF KIDNEY IN
ALBINO RATS (*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

**MUH. FADEL RAHMANSYAH
N011 19 1170**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

UJI TOKSISITAS SUBKRONIK PRODUK HERBAL HEPATOPROTEKTOR
(HEPARMIN®) TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS PUTIH (*Rattus
norvegicus*)

MUH. FADEL RAHMANSYAH

N01191170

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping,



Muhammad Nur Amir, S.Si., M.Si., Apt.

A. Anggriani, S.Si., M.Clin.Pharm., Apt.

NIP. 19861111 201504 1 001

NIP. 19930506 202005 4 001

Pada Tanggal, 06 Maret 2023

SKRIPSI
UJI TOKSISITAS SUBKRONIK PRODUK HERBAL
HEPATOPROTEKTOR (HEPARMIN®) TERHADAP HISTOPATOLOGI
GINJAL PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

SUBCHRONIC TOXICITY TEST OF HEPATOPROTECTOR HERBAL
PRODUCT (HEPARMIN®) ON HISTOPATHOLOGY OF KIDNEY IN
ALBINO RATS (*Rattus norvegicus*)

Disusun dan diajukan oleh:

MUH. FADEL RAHMANSYAH
N011 19 1170

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin pada tanggal 06 Maret 2023 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping,



Muhammad Nur Amir, S.Si., M.Si., Apt.

NIP.19861111 201504 1 001


A. Anggriani, S.Si., M.Clin.Pharm., Apt

NIP.19930506 202005 4 001

Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin


Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm., Sc., Ph.D., Apt.
NIP.19860116 201012 2 009

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muh. Fadel Rahmansyah
Nim : N011 19 1170
Program Studi : Farmasi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya dengan judul “Uji Toksisitas Subkronik Produk Herbal Hepatoprotektor (Heparmin®) terhadap Histopatologi Ginjal pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)” adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilalihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis benar benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 06 Maret 2023

Yang menyatakan,



Muh Fadel Rahmansyah

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas berkat dan rahmat-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Uji Toksisitas Subkronik Produk Herbal Hepatoprotektor (Heparmin®) terhadap Histopatologi Organ Ginjal pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)" dengan baik.

Dalam penyusunan skripsi ini penulis menyadari terdapat berbagai hambatan dan rintangan, namun berkat bantuan dari berbagai pihak atas segala doa, dukungan moril, materil, serta selalu memberikan semangat kepada penulis, skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.

Penulis juga ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Muhammad Nur Amir, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing utama dan Ibu A. Anggriani, S.Si., M.Clin.Pharm., Apt selaku pembimbing pendamping dengan ikhlas dan sabar telah meluangkan waktu, tenaga, serta ilmu dan arahan dalam penelitian dan membimbing penulis dalam penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Usmar, S.Si., M.Si., Apt. dan Ibu Rina Agustina, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. selaku tim penguji yang telah meluangkan waktu dan memberikan saran yang membangun dalam penyusunan skripsi ini.

Ibu Rina Agustina, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. selaku dosen pembimbing akademik penulis atas segala ilmu dan arahan selama penulis menempuh menjalani studi.

3. Dekan dan para Wakil Dekan, serta seluruh staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas ilmu, motivasi, bantuan, dan segala fasilitas yang diberikan kepada penulis selama menempuh studi hingga menyelesaikan penelitian ini.
4. Teman-teman Korps Asisten Biofarmasi dan Farmakologi-Toksikologi, atas segala dukungan, ilmu, dan bantuan yang telah banyak diberikan kepada penulis. Terkhusus laboran tercinta Ibu Syamsiah atas nasihat, arahan, serta motivasi yang diberikan kepada penulis selama penulis melakukan penelitian dan menempuh studi di Fakultas Farmasi.
5. Teman-teman seperjuangan, sehati, sejiwa, yakni Devhy Mega Utami, Kansul Hair Sadi, Muhammad Fadhil Ramadhan, Fajrul Ramadhan, Novelya Pratiwi, Farah Fadilah, Elvyna Fujiati, dan Fira Amaliah yang selalu memberikan dukungan dan semangat, serta tempat meluangkan berbagi keluh-kesah, suka maupun duka selama proses perkuliahan dan dalam penyusunan skripsi ini.
6. Teman-teman pejuang penelitian "Royal", Fitriani, Zalwa Nurul Safira, Venturini Vernanda Kombong Kila, Nurfadilla Wafiah, dan Hikmat Al-Hakim yang telah memberikan dukungan dan membantu penulis selama proses penelitian serta dalam penyusunan skripsi ini.

7. Teman-teman angkatan 2019 (DEX19EN), Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, atas dukungan, ilmu, serta kebersamaan. Selama penulis menempuh studi di Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin

Ucapan terima kasih tak hentinya penulis kepada Ayahanda luar biasa, Bapak H. Munir Baharuddin, S.E. dan wanita tangguh, Ibunda Rachmawaty untuk semua doa, dukungan, energi positif, dan hangatnya kasih sayang kepada penulis. Kepada adik-adikku, St. Fauziah Khairunnisa dan Muh. Fardeen Al-Farisi yang juga menjadi pendukung setia penulis.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan adanya saran maupun tanggapan dari berbagai pihak sehingga dapat menjadikan skripsi ini ke arah yang lebih baik.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat demi pengembangan ilmu pengetahuan dan dipergunakan sebaik - baiknya.

Makassar, ___ ___ Maret 2023



Muh. Fadel Rahmansyah

ABSTRAK

MUH. FADEL RAHMANSYAH. *Uji Toksisitas Subkronik Produk Herbal Hepatoprotektor (Heparmin®) Terhadap Histopatologi Ginjal Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus)* (dibimbing oleh Muh. Nur Amir dan A. Anggriani).

Heparmin® merupakan salah satu produk jamu yang diindikasikan untuk menjaga fungsi hati (hepatoprotektor). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh produk Heparmin® melalui uji toksisitas subkronik terhadap pengamatan histopatologi organ ginjal pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). Sebanyak 40 ekor hewan uji tikus dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan yaitu kelompok 1 Kontrol Natrium CMC 0,5%, dan 3 kelompok uji produk Heparmin® dengan 3 variasi dosis. Kelompok 2 produk Heparmin® (128,25 mg/kgBB), kelompok 3 produk Heparmin® (359 mg/kgBB), dan kelompok 4 Heparmin® (1000 mg/kgBB) yang diberikan secara oral selama 90 hari. Hasil yang diperoleh menunjukkan produk Heparmin® menyebabkan perubahan sel pada glomerulus dan tubulus ginjal berupa edema dan degenerasi parenkim, hal ini dapat dilihat dari hasil rata-rata nilai skoring pada tiap kelompok, yaitu kelompok 1 jantan sebesar $0,4 \pm 0,53$, dan betina 0 ± 0 , kelompok 2 jantan $0,6 \pm 0,54$, dan betina $0,8 \pm 0,44$, kelompok 3 jantan $0,2 \pm 0,44$, dan betina $0,4 \pm 0,54$, dan kelompok 4 jantan 1 ± 0 dan betina $0,8 \pm 0,44$. Namun, berdasarkan hasil statistik tidak didapatkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok uji dan kelompok kontrol ($p > 0,05$), sehingga dapat disimpulkan pemberian produk herbal hepatoprotektor Heparmin® tidak bersifat toksik terhadap ginjal.

Kata kunci: ginjal, Heparmin®, histopatologi, toksisitas subkronik

ABSTRACT

MUH. FADEL RAHMANSYAH. *Subchronic Toxicity Test of Hepatoprotector Herbal Product (Heparmin®) On Histopathology of Kidneys in Albino Rats (Rattus norvegicus)* (supervised by Muh. Nur Amir and A. Anggriani).

Heparmin® is one of the herbal products indicated to maintain liver function (hepatoprotector). This study aims to determine the influence of Heparmin® products through subchronic toxicity tests on the observation of renal organ histopathology in white rats (*Rattus norvegicus*). A total of 40 rat test animals were divided into 4 treatment groups, namely group 1 Sodium Control CMC 0.5%, and 3 Heparmin® product test groups with 3 dose variations. Group 2 Heparmin® products (128.25 mg / kgBB), group 3 Heparmin® products (359 mg / kgBB), and group 4 Heparmin® (1000 mg / kgBB) given orally for 90 days. The results obtained showed that Heparmin® products caused cell changes in the glomerulus and renal tubules in the form of edema and parenchymal degeneration, this can be seen from the average results of the scoring values in each group, namely group 1 male of 0.4 ± 0.53 , and female 0 ± 0 , group 2 male 0.6 ± 0.54 , and female 0.8 ± 0.44 , group 3 male 0.2 ± 0.44 , and females 0.4 ± 0.54 , and groups of 4 males 1 ± 0 and females 0.8 ± 0.44 . However, based on statistical results, there was no significant difference between the test group and the control group ($p > 0.05$), so it can be concluded that the administration of Heparmin® hepatoprotector herbal products is not toxic to the kidneys.

Keywords: Heparmin®, histopathology, kidney, subchronic toxicity

DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	4
I.3 Tujuan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Produk Herbal Hepatoprotektor (Heparmin®)	5
II.2 Uji Toksisitas	6
II.2.1 Uji Toksisitas Subkronis Oral	7
II.3 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	8
II.3.1 Klasifikasi Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	8

II.4 Organ Ginjal	9
II.4.1 Anatomi Ginjal	9
II.4.2 Fisiologi Ginjal	10
II.5 Histopatologi Ginjal	12
BAB III METODE KERJA	19
III.1 Penyiapan Alat dan Bahan	19
III.2 Metode Kerja	19
III.2.1 Penyiapan Hewan Uji	19
III.2.2 Penyiapan Sediaan Uji	20
III.2.2.1 Pembuatan Larutan Koloidal Natrium CMC 0,5%	20
III.2.2.2 Pembuatan Suspensi Sediaan Heparmin®	20
III.2.3 Perlakuan Pada Hewan Uji	21
III.2.4 Analisis Histopatologi Ginjal	21
III.2.5 Pengumpulan Data dan Analisis Data	23
III.2.6 Pembahasan dan Analisis	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	25
BAB V PENUTUP	32
V.1 Kesimpulan	32
V.2 Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Hasil data skoring kerusakan organ ginjal	25
2. Hasil nilai rata-rata skoring histopatologi ginjal	26

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Heparmin®	5
2. Tikus putih	8
3. Stuktur anatomi ginjal	9
4. Proses Ekskresi ginjal	11
5. Korteks dan medulla	13
6. Tubulus ginjal dan glomerulus	14
7. Degenerasi hidrofik	17
8. Degenerasi lemak	18
9. Histogram hasil skoring ginjal	27
10. Gambar mikroskopik ginjal kelompok 1	28
11. Proses penyiapan hewan uji	42
12. Proses penyiapan Heparmin®	42
13. Proses menimbang bahan	42
14. Proses pembuatan larutan koloidal natrium CMC 0,5%	42
15. Proses pembuatan suspensi isi kapsul Heparmin®	42
16. Pemberian secara oral pada hewan uji	42
17. Pembedahan tikus putih	43
18. Sampel ginjal	43
19. Penyiapan organ ginjal untuk dibawa ke RS Ibnu Sina	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema	36
2. Skema kerja umum	37
3. Perhitungan	38
4. Data analisis statistik	40
5. Dokumentasi penelitian	42
6. Surat kode etik	44
7. Gambar hasil analisis mikroskopik organ ginjal	45

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Obat tradisional sudah sering digunakan hampir di seluruh dunia termasuk di negara-negara maju, obat herbal sangat populer untuk digunakan dalam pengobatan, begitu juga di negara-negara berkembang yang sebagian besar penduduknya masih terus menggunakan obat herbal terutama untuk memenuhi kebutuhan kesehatan dasarnya. Di Indonesia, masyarakat umumnya masih menggunakan obat tradisional secara luas, baik itu di perkotaan maupun di pedesaan (Fatirah *et al.*, 2019). Obat tradisional dikelompokkan menjadi tiga jenis yaitu jamu, obat herbal terstandar, dan fitofarmaka (Darusman, 2016). Sebuah riset menunjukkan bahwa sebanyak 92% masyarakat Indonesia mengklaim sudah mengetahui tentang obat tradisional, namun ketika ditanya lebih spesifik mengenai pengembangan obat tradisional sebagai obat herbal, mayoritas masyarakat (88,2%) hanya mengenal jamu dan hanya 29,4% dari mereka yang mengetahui jenis obat herbal terstandar serta 3% yang mengenal fitofarmaka (Oktaviani *et al.*, 2021). Anggapan yang berkembang di masyarakat saat ini bahwa ramuan obat herbal yang berasal dari bahan alam tidak memiliki efek samping sehingga menyebabkan penggunaan obat herbal semakin meningkat di kalangan masyarakat (Fatirah *et al.*, 2019).

Salah satu jamu yang sudah digunakan di masyarakat, yaitu produk sediaan kapsul yang dipasarkan dengan nama dagang Heparmin[®] yang merupakan produk hepatoprotektor dari PT. Royal Medicalink Pharmalab. Komposisi Heparmin[®] terdiri dari 4 bahan utama yaitu 75 mg ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), 100 mg ekstrak daun paliasa (*Kleinhovia hospita*), 100 mg ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dan 100 mg ekstrak ikan gabus (*Ophiocephalus striatus*). Bahan-bahan tersebut terdiri dari bahan alam yang aman dan berfungsi sebagai hepatoprotektor, antiinflamasi, antioksidan, dan antivirus. Meskipun Heparmin[®] telah diketahui memiliki banyak manfaat, namun penggunaannya belum sepenuhnya terbukti aman (Ibrahim *et al.*, 2012; Syafitri, 2019).

Berdasarkan hasil penelitian Ibrahim (2012), produk herbal Heparmin[®] telah melalui tahap uji toksisitas akut dengan menggunakan hewan uji berupa mencit (*Mus musculus*). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa dosis terendah untuk pemberian Heparmin[®] adalah 128,25 mg/kgBB, sedangkan untuk dosis tertinggi yaitu 1000 mg/kgBB. Kedua dosis tersebut dapat diberikan kepada hewan uji. Lebih lanjut, hingga saat ini belum ada penelitian terkait uji toksisitas subkronik (90 hari) untuk produk Heparmin[®].

Berdasarkan Badan Pengawas Obat dan Makanan dikatakan bahwa salah satu uji toksisitas yang dapat dilakukan ialah uji toksisitas subkronik oral setiap hari atau tiga hari sekali dan dilakukan secara berulang dengan jangka waktu pemberian 10% dari masa hidup hewan. Tujuan pengujian ini

ialah untuk mengetahui ada tidaknya efek toksik dari pemberian suatu zat yang dilakukan dalam jangka waktu tertentu (PerBPOM 10/2022; Ningsih *et al.*, 2017). Salah satu sasaran utama efek toksik yang diakibatkan oleh pemberian suatu zat adalah ginjal. Ginjal merupakan organ utama ekskresi obat karena melalui urin yang merupakan jalur utama ekskresi, ginjal menyaring bahan-bahan yang tidak lagi dibutuhkan oleh tubuh untuk dikeluarkan bersama urin (Rabiah *et al.*, 2015). Untuk mengetahui toksisitas zat terhadap organ ginjal dapat dilakukan dengan melihat histopatologi ginjal. Studi histopatologi adalah ilmu yang mempelajari kondisi dan fungsi jaringan organ tertentu termasuk ginjal. Histopatologi berperan sangat penting dalam diagnosis penyakit karena salah satu pertimbangan dalam penegakan diagnosis harus melalui hasil pengamatan terutama pada jaringan yang dicurigai mengalami malfungsi. Uji histopatologi dapat memberikan gambaran terkait perubahan sel pada organ ginjal akibat pemberian suatu zat (Maulani *et al.*, 2017).

Berdasarkan uraian di atas, penting untuk mengetahui batas keamanan atau ketoksikan suatu obat tradisional melalui uji praklinik berupa uji toksisitas. Untuk itu, diperlukan penelitian tentang bagaimana pengaruh produk herbal Heparmin[®] yang diberikan secara subkronik selama 90 hari terhadap histopatologi organ ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*).

I.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh Heparmin[®] yang diberikan secara subkronik selama 90 hari terhadap histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*)?

I.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh Heparmin[®] yang diberikan secara subkronik selama 90 hari terhadap histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Produk Herbal Hepatoprotektor (Heparmin®)

Heparmin® adalah salah satu produk jamu dalam bentuk sediaan kapsul yang diproduksi oleh PT. Royal Medicalink Pharmed. Komposisi Heparmin® terdiri dari 4 bahan utama yaitu 75 mg ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), 100 mg ekstrak daun paliasa (*Kleinhovia hospita*), 100 mg ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dan 100 mg ekstrak ikan gabus (*Ophiocephalus striatus*). Bahan-bahan tersebut terdiri dari bahan alam yang aman dan berfungsi sebagai hepatoprotektor, antiinflamasi, antioksidan, dan antivirus (Ibrahim *et al.*, 2012)



Gambar 1. Produk Herbal Hepatoprotektor (Heparmin®) (Dokumentasi pribadi)

Kandungan *Kurcuminoid* yang terdapat pada ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) mempunyai efek biologis sebagai

hepatoprotektor dan antiinflamasi. Kandungan flavonoid dan saponin yang terdapat pada daun paliasa (*Kleinhovia hospita*) berfungsi sebagai hepatoprotektor, antioksidan, dan antimikroba. Kandungan *tymoquinon* yang ada pada jintan hitam (*Nigella sativa*) mempunyai efek sebagai hepatoprotektor, antioksidan, antimikroba dan antivirus. Ekstrak ikan gabus (*Ophiocephalus striatus*) dengan kandungan utama protein, asam amino, vitamin dan Ig, sangat dibutuhkan oleh tubuh sebagai sumber energi, proses metabolisme, regenerasi sel-sel tubuh yang rusak dan meningkatkan sistem pertahanan tubuh (Ibrahim *et al.*, 2012).

Berdasarkan hasil penelitian Ibrahim *et al.* (2012), produk herbal Heparmin[®] telah melalui tahap uji toksisitas akut dengan menggunakan hewan uji berupa mencit (*Mus musculus*). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa pemberian kombinasi (poliherbal) *Curcuma xanthorrhiza*, *Kleinhovia hospita*, *Nigella sativa*, dan *Ophiocephalus striatus* tidak menyebabkan peningkatan toksisitas dari masing - masing komposisi Heparmin[®] tersebut. Lebih lanjut, hingga saat ini belum ada penelitian terkait uji toksisitas subkronik (90 hari) untuk produk Heparmin[®].

II.2 Uji Toksisitas

Uji toksisitas merupakan uji yang dilakukan pada *hewan uji* dengan tujuan mendeteksi efek toksik dan untuk mendapatkan data respons dosis tipikal dari produk uji. Uji toksisitas pada *hewan uji* merupakan bukti keamanan dari suatu produk. Pilihan pengujian bergantung pada tujuan penggunaan bahan, masa manfaat bahan, dan potensi risiko terjadinya

paparan pada manusia. Uji toksisitas menggunakan hewan uji sebagai model berguna untuk mengamati respons biokimia, fisiologis, dan patologis manusia terhadap suatu sediaan uji. Hasil uji toksisitas tidak dapat digunakan untuk mendemonstrasikan sepenuhnya keamanan suatu produk pada manusia, tetapi dapat memberikan indikasi toksisitas dan membantu mengidentifikasi efek toksik saat terjadi paparan pada manusia. (PerBPOM 10/2022).

II.2.1 Uji Toksisitas Subkronis Oral

Uji toksisitas subkronis oral merupakan salah satu uji toksisitas yang bertujuan untuk mendeteksi efek toksik yang dapat terjadi akibat pemberian sediaan uji yang berulang kali dengan beberapa tingkatan dosis yang berbeda secara oral pada hewan uji selama sebagian dari umur hewan uji tersebut, tetapi tidak lebih dari 10% umur hewan. Prinsip dari pengujian ini adalah sediaan uji diberikan dalam beberapa dosis setiap hari (7 hari seminggu) kepada beberapa kelompok hewan uji, satu dosis per kelompok selama 14, 28 atau 90 hari. Pada akhir masa pemberian semua hewan hidup dinekropsi, setelah itu dilakukan pengamatan makropatologis masing-masing organ dan jaringan. Selain itu, studi hematologi, klinis-biokimia dan histopatologi dilakukan. Tujuan dari uji toksisitas subkronis oral adalah untuk mendapatkan informasi tentang efek toksik dari zat yang tidak teramati pada uji toksisitas akut atau Informasi tentang kemungkinan efek toksik setelah paparan berulang terhadap produk uji selama periode waktu tertentu (PerBPOM 10/2022).

II.3 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Hewan yang umumnya digunakan untuk uji toksisitas subkronis oral adalah rodensia tikus putih (galur Sprague Dawley atau Wistar) karena bersifat lebih tenang dan mudah dikerjakan beberapa intervensi, mudah dipelihara, dan tidak terlalu takut terhadap cahaya (PerBPOM 10/2022; Rejeki *et al.*, 2018).

Tikus memiliki kesamaan dengan manusia dalam sistem reproduksi, sistem saraf, penyakit kardiovaskular, metabolik, neurologik, penyakit (kanker dan diabetes), dan kecemasannya (Nugroho *et al.*, 2018). Hal ini terjadi karena adanya kesamaan organisasi DNA dan ekspresi gen di mana 98% gen manusia memiliki gen sebanding dengan gen tikus (Rejeki *et al.*, 2018).

II.3.1 Klasifikasi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Kerajaan	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
SubFamili	: Murinae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i> (Wati <i>et al.</i> , 2014)

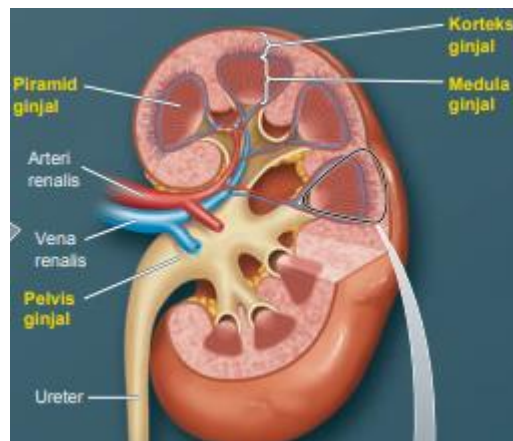


Gambar 2. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (Wati *et al.*, 2014)

II.4 Organ Ginjal

II.4.1 Anatomi Ginjal

Ginjal berukuran panjang 4-5 inci, organ berbentuk kacang yang terletak di belakang rongga perut (antara rongga perut dan otot punggung), satu di setiap sisi tulang belakang, tepat di atas pinggang. Setiap ginjal memiliki arteri ginjal dan vena ginjal yang masuk dan keluar dari ginjal yang memberikan bentuk seperti kacang pada organ tersebut. Ginjal bekerja dengan plasma yang mengalir melaluinya, menghasilkan urin, menyimpan zat yang dibutuhkan di dalam tubuh, dan mengeluarkan zat yang tidak diinginkan melalui urin (Sherwood, 2013).



Gambar 3. Anatomi organ ginjal (Sherwood, 2013)

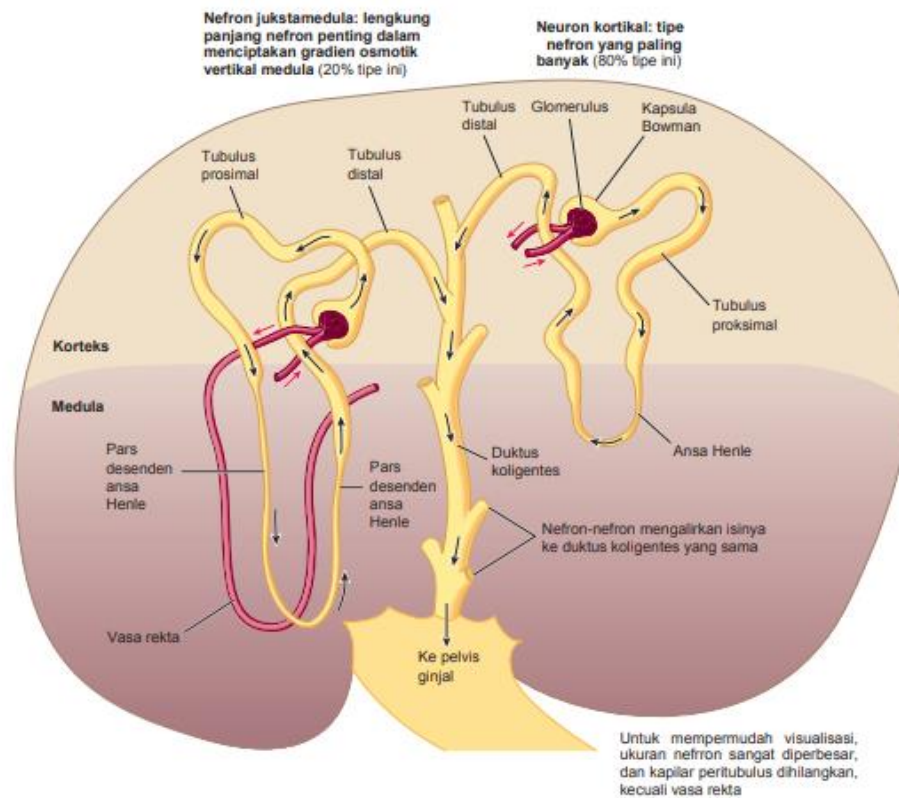
Di luar ginjal adalah korteks ginjal, yang berwarna coklat tua. Korteks ginjal mengandung jutaan perangkat penyaringan yang disebut nefron, setiap nefron terdiri dari glomerulus dan tubulus. Medula ginjal terdiri dari beberapa massa segitiga yang disebut piramid ginjal, dengan dasar menghadap ke korteks dan apeks menonjol ke medial. Piramida ginjal berfungsi untuk mengumpulkan hasil ekskresi dan mengarahkannya ke

saluran pengumpul yang menghadap ke pelvis ginjal (Tortora dan Derrickson, 2011).

II.4.2 Fisiologi Ginjal

Ginjal berfungsi sebagai organ yang mengekskresikan banyak zat asing, seperti obat-obatan, bahan tambahan makanan, pestisida dan zat asing non-gizi lainnya yang masuk ke dalam tubuh dan dikeluarkan (diekskresikan) sebagai produk akhir metabolisme tubuh, contohnya urea (dari protein), asam urat (dari asam nukleat), kreatinin (dari kreatin otot), bilirubin (dari hemoglobin) dan metabolit hormon. Ketika dibiarkan menumpuk, bahan-bahan sisa tersebut ini dapat bersifat toksik, terutama bagi otak (Sherwood, 2013).

Proses ekskresi yang dilakukan oleh ginjal melalui 3 tahap, yaitu filtrasi glomerulus, reabsorpsi sebagian, dan sekresi tubuler aktif yang digambarkan pada gambar dibawah ini.



Gambar 4. Proses ekskresi pada organ ginjal (Sherwood, 2013)

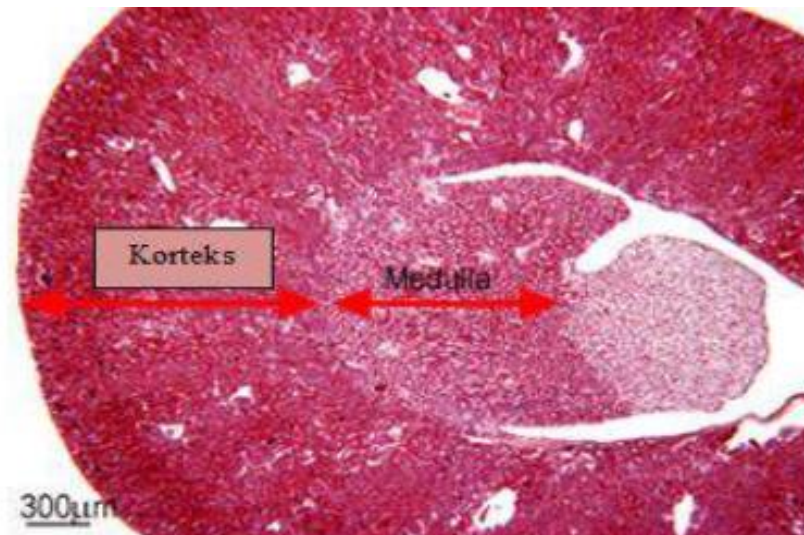
Filtrasi glomerulus yang terjadi di glomerulus (kapsul bowman) merupakan langkah pertama dari pembentukan urin berupa penyaringan darah untuk untuk diubah menjadi urin, selanjutnya proses reabsorpsi tubuler yang merupakan proses pemisahan bahan-bahan yang bermanfaat bagi tubuh dikembalikan ke plasma kapiler peritubulus. Perpindahan selektif bahan-bahan dari bagian dalam tubulus (lumen tubulus) ke dalam darah. Kemudian proses terakhir adalah sekresi tubuler aktif yang merupakan pemindahan selektif bahan-bahan dari kapiler peritubulus ke dalam lumen tubulus (Sherwood, 2013).

II.5 Histopatologi Ginjal

Studi histopatologi adalah ilmu yang mempelajari kondisi dan fungsi jaringan organ tertentu termasuk ginjal. Histopatologi berperan sangat penting dalam diagnosis penyakit karena salah satu pertimbangan dalam penegakan diagnosa harus melalui hasil pengamatan terutama pada jaringan yang dicurigai mengalami malfungsi. Uji histopatologi dapat memberikan gambaran terkait perubahan sel pada organ ginjal akibat pemberian suatu zat (Maulani *et al.*, 2017).

Ginjal sering menjadi target berbagai macam substansi berbahaya. Meskipun memiliki ukuran yang kecil, ginjal menerima 25% dari *cardiac output* dan berpotensi terpapar zat toksik dalam jumlah besar. Hal tersebut dikarenakan fungsinya sebagai tempat penyerapan osmotik terutama di medulla, maka berbagai agen toksik tersebut lebih banyak ditemukan di ginjal dibandingkan organ lain (Aliah, 2017).

Pada preparat ginjal dengan pembesaran rendah, korteks yang gelap tampak berjarak dengan jaringan medula yang berwarna agak cerah yang disebut *medullary rays* yang berisi cabang buluh penyalur dengan buluh nefron yang naik dan turun (Gambar 5). Garis medula dan korpuskulus renalis serta nefron yang bermuara pada buluh penampung dalam garis medula membentuk lobus ginjal. Jaringan korteks gelap yang menjulur ke daerah medulla memperjelas batas *lateral pyramid*. Jalur – jalur korteks ini disebut *columna renalis* (Aliah, 2017).



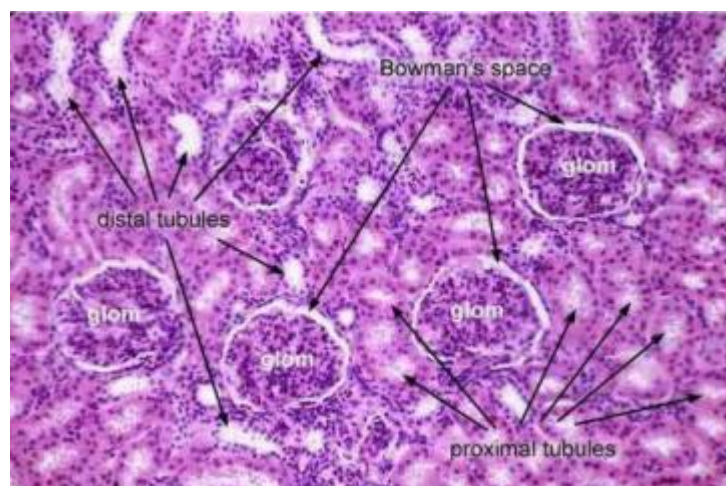
Gambar 5. Korteks dan Medulla (Seely dan Amy, 2005).

Daerah medula tampak lebih cerah jika dibandingkan dengan korteks dan tampak adanya jalur – jalur yang disebabkan oleh kemih yang lurus dan pembuluh darahnya. Tiap bagian medula yang berbentuk piramid dengan jaringan korteks yang membentuk tudung pada dasar serta menutup sisinya membentuk lobus yang merupakan unit anatomi ginjal. Bagian korteks dan medula lobus ginjal hewan piaraan bergabung dengan derajat yang berbeda. Setiap korpus renal bergaris tengah kira - kira 200 µm dan terdiri atas seberkas kapiler glomerulus yang dikelilingi oleh kapsula bowman (Junqueira, 2007).

Tubulus kontortus proksimal dan distal terdapat dalam korteks, disekitar korpuskulus renalis. Tubulus rektus proksimal, distalis, dan segmen tipis membentuk lup yang menjulur ke dalam medula yang disebut jerat nefron atau jerat henle. Tubulus rektus proksimal tebal dan turun, segmen tipis yang turun dan naik membentuk segmen nefron yang tipis. Segmen yang naik merupakan bagian dari tubulus rektus distalis. Segmen

ini dibalut epitel pipih selapis dengan daerah inti menonjol ke arah lumen saluran. Permukaan sitoplasma memiliki sedikit mikrovili pendek dan organel. (Seely dan Amy, 2005).

Glomerulus adalah bagian penyaringan ginjal dan memiliki struktur lebih kompleks yang terdiri dari kapiler, parietal, epitel visceral, dan sel-sel mesangial. Pada permukaan luar kapiler glomerulus menempel sel berbentuk spesifik dan memiliki penjurulan-penjuluran yang disebut podosit (sel kaki). Antara sel-sel endotel kapiler dan podosit membentuk struktur kontinyu yang berlubang-lubang yang memisahkan darah yang terdapat dalam kapiler dengan ruang kapsuler. Pada sel-sel endotel dan lamina basalis kapiler glomerulus terdapat sel mesangial yang berperan sebagai makrofag yang dapat diamati pada Gambar 6 (Junqueira, 2007).



Gambar 6. Tubulus Ginjal Kortikal dan Glomerulus (Seely dan Amy, 2005).

Glomerulus dalam keadaan normal secara keseluruhan tertutup oleh kapsul bowman yang berbentuk mangkok dan dilapisi oleh endotelium berlubang berpori-pori yang terletak pada membran basalis dan di bagian

luar membran basalis adalah sel epitel visceral (podosit) (Aliah, 2017).

Kerusakan yang dapat terjadi pada glomerulus diantaranya seperti :

- a. edema yang merupakan pembengkakan yang dihasilkan oleh cairan dan beberapa sel yang berpindah dari aliran darah ke jaringan interstitial. edema disebabkan oleh meningkatnya tekanan hidrostatik, penurunan tekanan onkotik, obstruksi limfatik, dan peradangan (Muhsi *et al.*, 2020).
- b. Nekrosis yang merupakan kematian sel/jaringan yang akibat proses degenerasi yang ireversibel. Secara makroskopik sel/jaringan yang mengalami nekrosis ditandai keputihan, jaringan melunak dan tampak ada demarkasi (pembatas) dengan jaringan yang sehat. Biasanya di sekitar sel/jaringan yang mengalami nekrosis selalu disertai sel-sel radang, karena sel-sel mati merupakan benda asing bagi tubuh (Berata *et al.*, 2015)
 - a. Atrofi yang merupakan akumulasi lemak di luar sel (Berata *et al.*, 2015).

Kerusakan yang terjadi pada ginjal, terutama bentuk cedera tubular, selain diakibatkan oleh iskemia ginjal juga disebabkan oleh obat-obatan yang bersifat toksik. Cedera akut tubular akan menyebabkan nekrosis yang berlanjut pada gagal ginjal akut. Perubahan morfologi pada cedera sel, yaitu hilangnya polaritas secara fungsional sehingga menyebabkan pembengkakan sel (Mappa *et al.*, 2013)

Hal ini menyebabkan redistribusi protein membran (Na^+ , K^+ , ATPase) dari permukaan basolateral ke permukaan luminal sel tubulus sehingga penyaluran natrium ke tubulus distal meningkat, melalui sistem umpan balik tubuloglomerulus, menyebabkan vasokonstriksi. Kerusakan lebih lanjut di tubulus dan terbentuknya debris tubulus dapat menghambat aliran keluar urin dan akhirnya meningkatkan tekanan intratubular sehingga GFR meningkat (Mappa *et al.*, 2013).

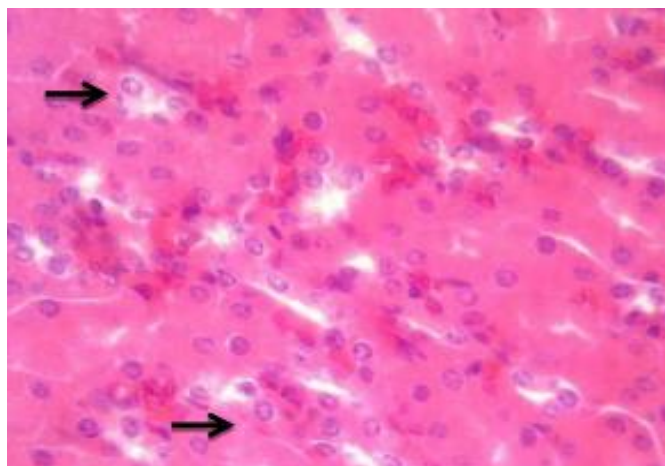
Secara histologis, nekrosis tubulus akut toksik paling mencolok di tubulus proksimal, sedangkan membran basal tubulus umumnya tidak terkena. Nekrosis tubular akut (NTA) adalah terjadinya destruksi sel epitel tubulus dan secara klinis 10 ditandai oleh supresi akut fungsi ginjal. Nekrosis tubular akut akibat toksik obat-obatan dapat mengakibatkan penurunan perfusi ginjal, kenaikan sekresi ADH dan aldosteron serta kenaikan reabsorpsi natrium di tubulus proksimal. Nekrosis biasanya berkaitan dengan ruptur membran basal (tubuloreksis). Silinder berprotein di tubulus distal dan duktus koligentes tampak mencolok. Silinder ini terdiri atas protein Tamm-Horsfall (secara normal disekresi oleh epitel tubulus) bersama dengan hemoglobin dan protein plasma lain. Nekrosis terjadi setelah suplai darah hilang atau setelah terpajan toksin dan ditandai dengan pembengkakan sel, denaturasi protein, serta kerusakan organel sel (Aliah, 2017).

Selain nekrosis, kerusakan yang biasa ditemukan adalah ditemukannya degenerasi. Degenerasi sel atau kemunduran sel adalah

kelainan sel yang terjadi akibat cedera ringan. Cedera ringan yang mengenai struktur dalam sel seperti mitokondria dan sitoplasma akan mengganggu proses metabolisme sel. Degenerasi dapat dibagi menjadi dua golongan, yaitu pembengkakan sel dan perubahan perlemakan. Pembengkakan sel timbul jika sel tidak dapat mengatur keseimbangan ion dan cairan yang menyebabkan hidrasi sel. Sedangkan perubahan perlemakan bermanifestasi sebagai vakuola – vakuola lemak di dalam sitoplasma dan terjadi karena hipoksia atau bahan toksik. Perubahan perlemakan dijumpai pada sel yang tergantung pada metabolisme lemak seperti sel hepatosit dan sel miokard. Berbagai kondisi degenerasi sel yang sering dijumpai antara lain : (Cheville, 2006).

a. Degenerasi Hidrofik

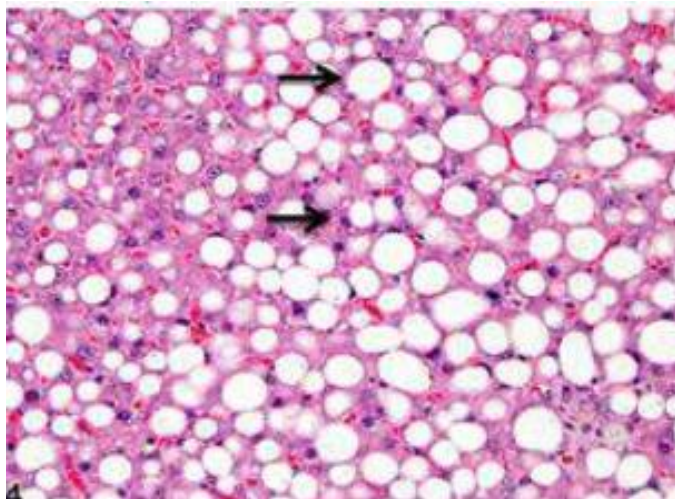
Secara mikroskopik organ yang mengalami degenerasi hidrofik menjadi lebih besar dan lebih berat daripada normal dan juga nampak lebih pucat. Nampak juga vakuola-vakuola kecil sampai besar dalam sitoplasma.



Gambar 7. Degenerasi hidrofik (Aliah, 2017).

b. Degenerasi Lemak

Degenerasi lemak dan perubahan perlemakan (fatty change) menggambarkan adanya penimbunan abnormal trigliserida dalam sel parenkim. Perubahan perlemakan sering terjadi di hepar karena hepar merupakan organ utama dalam metabolisme lemak selain organ jantung, otot, dan ginjal. Kondisi ini bisa disebabkan oleh paparan toksik, malnutrisi protein, diabetes mellitus, obesitas, dan anoreksia.



Gambar 8. Degenerasi Lemak (Aliah, 2017)

c. Degenerasi Parenkim

Degenerasi parenkim adalah kondisi dimana terjadinya pembengkakan pada sel sehingga secara keseluruhan organ membengkak. Penyebabnya : mekanik, anoksia, toksik, peroksidasi lipid, karena infeksi viral, bakterial dan respon kekebalan berlebihan (Berata *et al.*, 2015)