

## ABSTRAK

Kencur (*Kaemferia Galanga Linn*) suatu tanaman yang telah lama digunakan sebagai obat dimasyarakat. Dari analisa kimia diketahui bahwa kencur mengandung senyawa minyak atsiri dan flavonoid. Penelitian terhadap flavonoid kencur yang telah dilakukan yaitu sebagai hepato-protector yang mampu melindungi / mengurangi luas kerusakan el hepar tikus setelah terpapar  $CCl_4$ . Sekarang dilanjtkan penelitian proteksi flavonoid kencur terhadap tubulus kontortus proksimal ginjal setelah terpapar  $CCl_4$ . Ginjal merupakan organ yang berperan dalam sistim urinarius. Kerusakan ginjal akan mempengaruhi keseimbangan elektrolit didalam tubuh. Gangguan fungsi ginjal diantaranya dapat disebabkan oleh keracunan zat kimia. Diantara zat kimia tersebut adalah  $CCl_4$ . Dengan pemberian flavonoid diharapkan dapat melindungi atau mengurangi kerusakan tubulus kontortus ginjal.

Sebagai objek penelitian digunakan 25 ekor tikus yang dibagi atas 3 kelompok. Kelompok I, 5 ekor tikus sebagai kontrol negatif (tidak diberi apa apa). Kelompok II, 10 ekor tikus sebagai kontrol positif, diberi diet basal, pelarut, dan pada hari ke 9 diberi  $CCl_4$ . Kelompok III sebagai perlakuan diberi senyawa flavonoid selama 8 hari, diet basal pelarut dan hari ke 9 diberi  $CCl_4$ . Pada hari ke 2 dan ke 4 setelah pemberian  $CCl_4$ , tikus dikorbankan dan diambil ginjalnya serta selanjutnya dilakukan pembuatan preparat histologis ginjal untuk mengetahui perubahan yang terjadi pada tubulus kontortus ptoksimal.

Dengan melihat hasil mikroskopik, tampak pada hari ke 2 (kontrol positif) yang diberi  $CCl_4$  epitel tubulus kontortu proksimal menunjukkan adanya perubahan yaitu degenerasi, nekrosis. Pada hari ke 4 nekrosis yang terjadi lebih luas. Sedangkan pada kelompok perlakuan, tampak pada hari ke 2 efek flavonoid sudah ada, karena hanya beberapa epitel yang mengalami nekrosis. Pada hari ke 4 tampak pengaruh  $CCl_4$  pada tubulus epitel tubulus kontortus proksimal tidak tampak lagi karena pengaruh proteksi flavonoid.

Kesimpulan hasil penelitian ini adalah pemberian flavonoid dosis 10 mg/kg. B.B.dapat melindungi sel epitel tubulus kontortus proksimal ginjal dari paparan  $CCl_4$ .

## I. PENDAHULUAN

Kencur (*Kaempferia Galanga* Linn) merupakan tanaman yang sudah lama digunakan sebagai obat dimasyarakat, baik dalam bentuk tunggal maupun campuran. Bagian kencur yang digunakan adalah rimpangnya. Dari analisa kimia diketahui bahwa rimpang kencur mengandung minyak atsiri dan flavonoid (Midarti, dkk. 1994).

Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder yang dikandung oleh berbagai jenis tumbuhan kecuali Alga. Penelitian efek flavonoid dari beberapa tumbuhan telah dilakukan, diantaranya sebagai anti inflamasi (Loggia, 1989), modulator karsinogenesis (Bhattacharya, 1989), anti-oksidan (Pince Mail, 1989), anti-hepatotoksik (Wagner, 1985), dan efek hepato-protector (Yanwirasti, dkk. 1996). Dari penelitian efek hepato-protector flavonoid kencur diketahui bahwa flavonoid mampu melindungi atau mengurangi luas kerusakan sel hepar tikus setelah dirusak dengan  $\text{CCL}_4$  (karbon tetrakhlorida). Untuk itu dilanjutkan penelitian proteksi flavonoid kencur terhadap tubulus kontortus proksimal ginjal yang terpapar  $\text{CCL}_4$ .

Ginjal telah diketahui sebagai organ yang penting dalam sisten urinarius, karena melayani dan mengubah lebih 1700 liter darah dalam sehari menjadi kira kira 1 liter cairan yang mempunyai konsentrasi sangat spesial dan disebut sebagai urine. Untuk melaksanakannya, ginjal mengeluarkan hasil metabolisme yang tidak diperlukan lagi oleh tubuh atau dengan perkataan lain ginjal mengatur konsentrasi air dan garam dalam tubuh; menjaga keseimbangan asam plasma darah; dan berfungsi sebagai organ endokrin (Robin 1999). Tiap ginjal mengandung satu juta nephron dan tiap nephron terdiri atas glomeruli dan tubuli. Tiap tubulus terbagi atas tubulus kontortus proksimal Ansa Henle dan tubulus kontortus distal.

Gangguan yang terjadi pada nephron ginjal akan mempengaruhi sistem ini secara keseluruhannya (Fawset, 1986).

Gangguan fungsi ginjal dapat disebabkan banyak faktor antara lain infeksi, kelainan imunologi, kelainan pembuluh darah, racun. Salah satu diantara racun ini adalah bahan kimia karbon-tetrakhlorida ( $\text{CCl}_4$ ) bersifat sebagai oksidan.  $\text{CCl}_4$  merupakan racun kimia yang selain bersifat

nephrotoksik juga bersifat toksik yang sering mengakibatkan kematian (Gilman, 1975).

Perubahan yang terjadi di ginjal akibat pemberian tetra-klorida ini adalah terjadinya kerusakan epitel pada daerah tubulus kontortus proksimal. Hal ini disebabkan tubulus proksimal secara aktif mengabsorpsi zat-zat yang terdapat dalam cairan filtrasi glomerulus. Umumnya substansi yang terdapat dalam cairan bersifat osmotik aktif hingga 60-80% air dalam filtrasi bergerak secara pasif dalam lumen tubulus proksimal untuk masuk ke dalam darah kapiler peritubular. Karena tingginya kemampuan permukaan sel untuk meresorpsi, maka selnya sangat rentan terhadap toksin; dalam hal ini karbon tetraklorida (Robin, 1999). Dalam sel yang dipengaruhi karbon tetraklorida terjadi akumulasi lemak dan perubahan lemak ("fatty change") akan teroksidasi (Bertrand, 1985) kemudian diikuti oleh nekrosis (Anderson, 1996).

Kerusakan sel secara fisiologis, sebenarnya dapat diantisipasi tubuh, karena di dalam tubuh sendiri terdapat mekanisme perlindungan/penangkal untuk menghadapi proses oksidasi terus menerus. Zat yang dapat mencegah atau memperlambat proses oksidasi pada sel tersebut dikenal dengan nama antioksidan (Bast, dkk, 1991)

Antioksidan dapat dikelompokkan dalam golongan enzim atau non enzim serta protein pengikat ion logam yang bebas. Juga antioksidan dapat dibagi atas antioksidan endogen dan antioksidan eksogen (Reilly, dkk, 1991).

Antioksidan eksogen diantaranya adalah vitamin E, vitamin C dan flavonoid yang berasal dari sumber alam. Untuk melihat peranan flavonoid kencur sebagai anti-oksidan, maka dilakukan penelitian tentang proteksi flavonoid terhadap tubulus kontortus proksimal ginjal setelah terpapar  $CCl_4$ . Flavonoid telah diketahui mempunyai efek terhadap beberapa penyakit antara lain, diabetes mellitus, alergi, kanker; dan juga menghambat radikal bebas.

Flavonoid banyak terdapat pada tanaman seperti bunga, buah-buahan, sayur-sayuran dan akar. Kencur (*Kaempferia Galaga* Linn) adalah salah satu tanaman yang mengandung flavonoid, dan sudah digunakan sebagai obat-obatan. Penelitian terhadap flavonoid yang sudah dilakukan adalah proteksi terhadap hepar tikus. Pada penelitian ini diketahui bahwa

flavonoid mampu melindungi kerusakan sel hepar setelah dirusak karbontetraklorida (Yanwirasti dkk. 1996). Karena itu dilakukan pula penelitian proteksi flavonoid kencur terhadap sel tubuli proksimal ginjal yang sebelumnya sudah dirusak karbon-tetraklorida.

## II. METODOLOGI PENELITIAN

### 2.1. Subyek penelitian

Sebagai subyek penelitian digunakan 25 ekor tikus galur wistar dengan umur 2 – 2,5 bulan atau berat 180 – 200 gr., diberi makanan pelet dan minum seckukupnya.

### 2.2. Metode Percobaan

Karena penelitian difokuskan untuk mengetahui daya hambat kerusakan sel epitel tubulus ginjal yang diinduksi dengan karbon-tetrakhlorida, maka sebagai kontrol adalah jaringan ginjal yang sudah dirusak oleh karbon-tetrakhlorida. Untuk menghilangkan variabel sehingga kerusakan epitel tubulus ginjal hanya disebabkan oleh karbon-tetrakhlorida, maka dilihat juga sel epitel tubulus ginjal normal sebagai pembanding.

Tikus dibagi atas tiga kelompok yaitu:

1. Kelompok perlakuan 10 ekor yang diberi senyawa flavonoid secara oral selama 8 hari, dosis 10 mg/kg BB. Hari ke 9 tikus diberi karbon-tetrakhlorida yang diencerkan dengan minyak kelapa.
2. Kelompok kontrol positif, 10 ekor mendapat suntikan karbon-tetrakhlorida pada waktu yang sama dengan kelompok perlakuan.
3. Kelompok kontrol negatif 5 ekor yang tersisa tidak mendapat flavonoid dan karbon-tetrakhlorida.

Pada hari kedua dan ke empat setelah pemberian karbon-tetrakhlorida, dari masing masing kelompok dikorbankan 5 ekor tikus (kecuali kelompok 3 dilakukan pada hari pertama), untuk diamati keadaan jaringan ginjalnya. Untuk persiapan pembuatan sediaan jaringan ginjal setelah dilaparotomi, ginjal diperfusi dengan Natrium fisiologis melalui vena renalis. Kedua ginjal difiksasi dengan formalin 10%. Kemudian dilanjutkan dengan pembuatan preparat histologis.

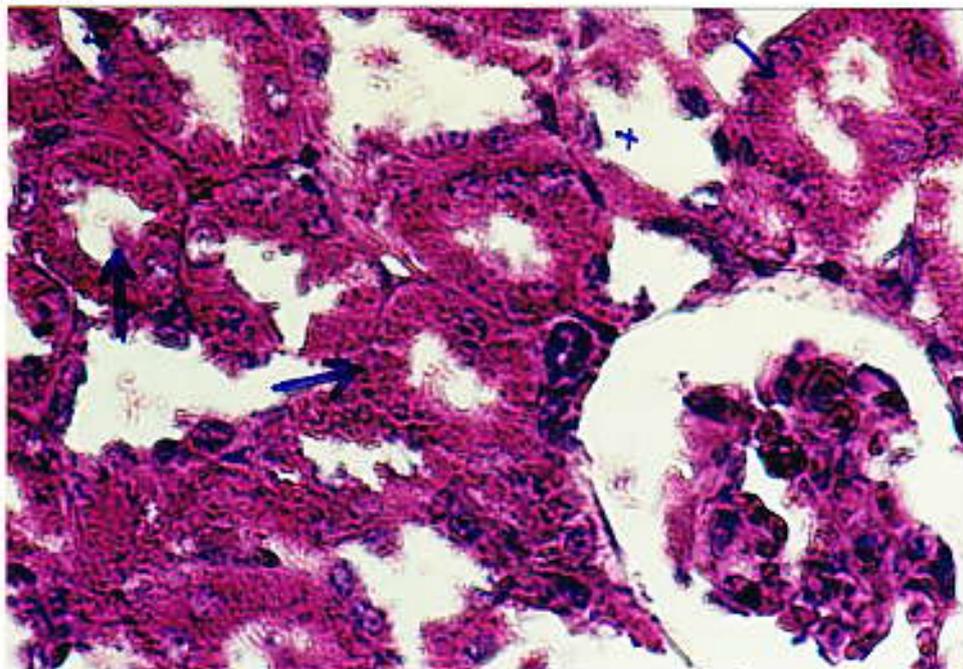
### 2.3. Cara pengamatan

Setiap tikus diambil ginjalnya dan di fiksasi dengan formalin 10%, kemudian diambil bagian untuk pembuatan preparat blok paraffin.

Jaringan tersebut diproses sebagai berikut yaitu dilakukan dehidrasi dengan memasukkan jaringan kedalam aseton, benzol dan dimasukkan kedalam lilin cair dalam oven ( $60^{\circ}$ ) selama 6 jam, dibuat blok paraffin. Preparat dibuat dengan memotong blok paraffin dengan mikrotom setebal 0,1 mikron dan diberi pewarnaan haematoksilin dan eosin. Dari sediaan diamati perubahan jaringan yang terjadi dengan mikroskop cahaya, dengan memperhatikan perubahan secara kualitas pada epitel tubulus kontortus proksimal. Untuk membuktikan adanya perubahan dan kerusakan epitel tersebut pada kelompok perlakuan dan kontrol positif dilakukan pemotretan. dengan pembesaran 400 kali.

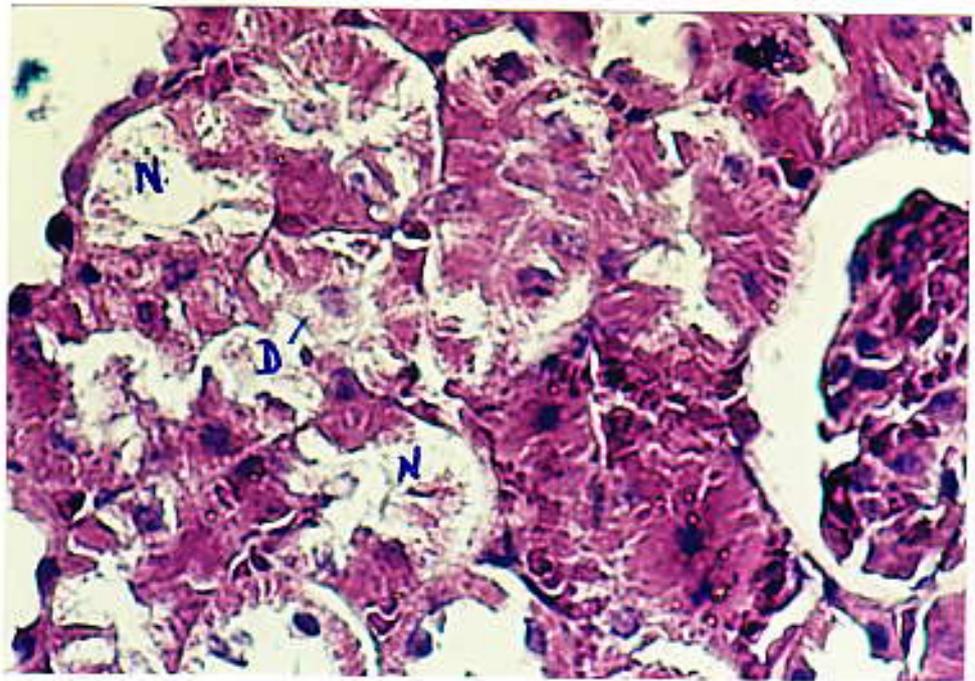
### III. Hasil dan pembahasan.

Dari hasil pengamatan secara mikroskopik pada kelompok I yang tidak diberi apa-apa (kontrol negatif) terlihat bahwa epitel tubulus kontortus proksimal kolumnar rendah dan mempunyai "brush border" di permukaannya. Bentuk "brush border" ini tidak selalu bagus, ada yang sesuai dengan permukaan epitel yang bulat dan ada yang compang-camping. Sitoplasma berbutir-butir halus (granular), berwarna kemerah-merahan (eosinofilik), menonjol ke dalam lumen dan inti terletak dibagian basal Epitel tubulus kontortus distalis kubis rendah, batas tidak jelas. Sitoplasma kurang eosinofilik dan tidak mempunyai "brush border" (lihat gambar 3.1)



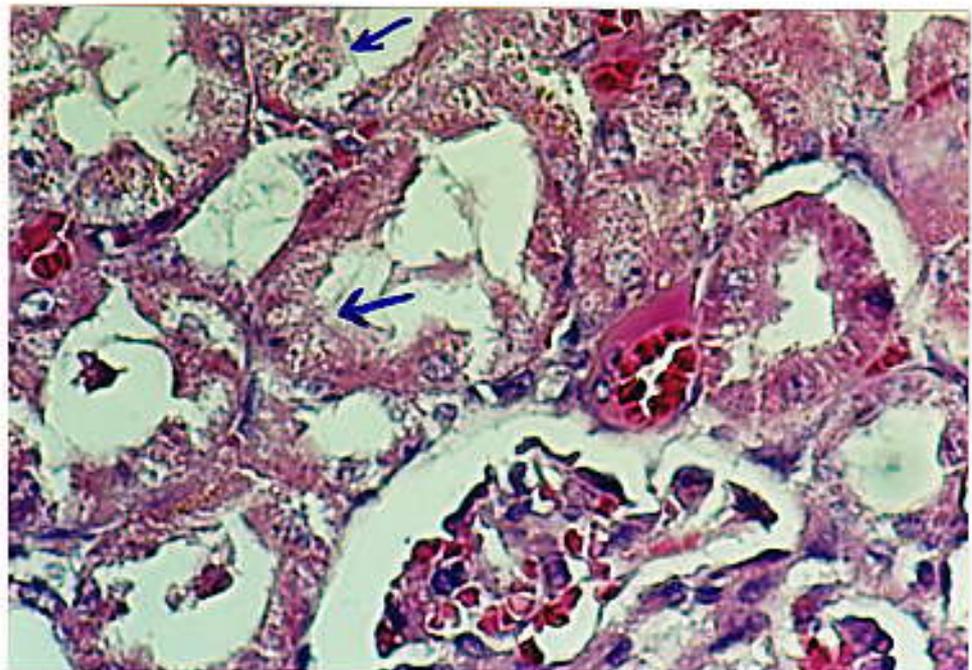
Gambar 3.1. Tubulus kontortus proksimal (tanda panah).  
Tubulus kontortus distal (tanda silang).

Pengamatan mikroskopik pada kelompok kontrol positif yang diberi  $\text{CCl}_4$  pada hari ke dua terlihat bahwa epitel tubuli kontortus proksimal mengalami degenerasi dan nekrosis, serta dalam lumen terdapat debris. Epitel tubulus kontortus distal tidak terpengaruh (gambar 3.2).



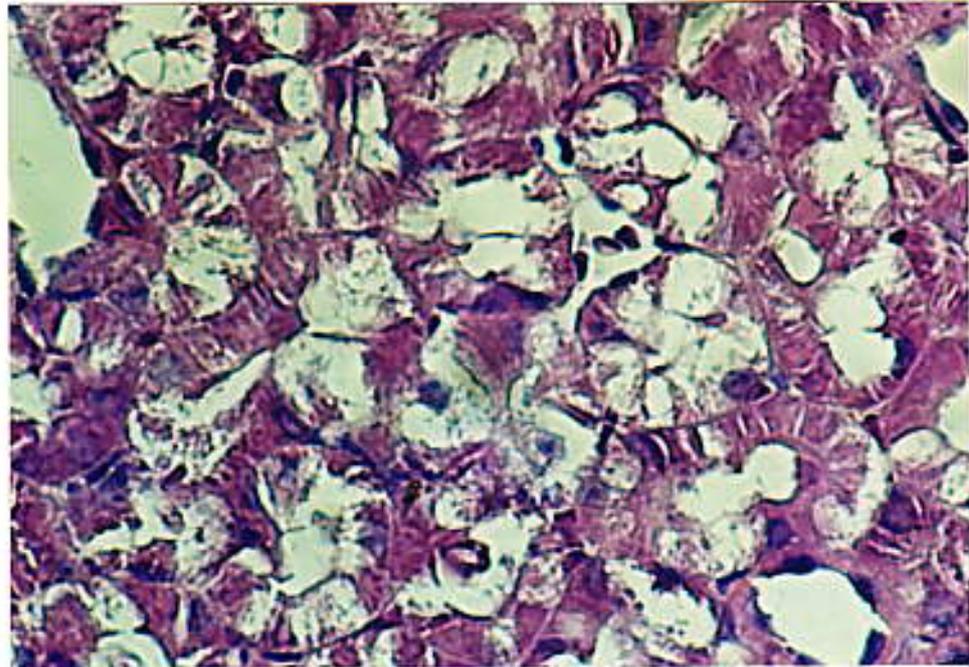
Gambar 3.2. Epitel tubulus k proksimal yang mengalami degenerasi dan nekrosis

Sedangkan sediaan yang dibuat dari kelompok perlakuan yang diberi flavonoid dan  $\text{CCl}_4$  pada hari kedua tampak jaringan hiperemia. Beberapa epitel tubuli proksimal berdegenerasi (gambar 3.3)

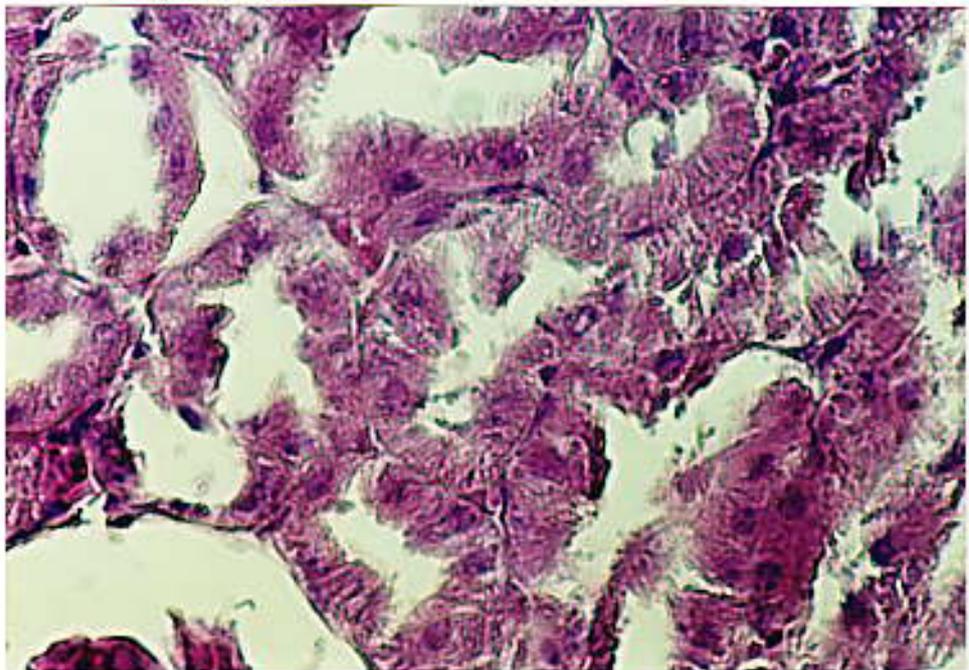


Gambar 3.3. Epitel tubuli k. proksimal berdegenerasi.

Perubahan yang terjadi pada hari ke 4 setelah pemaparan  $\text{CCl}_4$  pada kelompok kontrol positif tampak daerah tubulus proksimal yang mengalami nekrosis lebih banyak dibandingkan dengan hari ke 2 (gambar 3.4)



Gambar 3.4. Nekrosis epitel yang luas pada tubulus k. proksimal.



Gambar. 3.5. Epitel masih baik.

Sedangkan pada kelompok perlakuan pada hari ke 4, tampak kerusakan epitel tubulus proksimal tidak jelas, "brush border" masih utuh (gambar 3.5)

Dengan hasil pemeriksaan histo-patologis diatas dapat dijelaskan bahwa flavonoid yang diberikan dengan dosis 10 mg./kg.b.b mempunyai efek proteksi terhadap epitel tubulus proksimal ginjal. Dan efek yang optimal tampak jelas pada hari ke 4 yang menunjukkan epitel tubulus kontortus proksimal normal. Menurut penelitian Yanwirasti, dkk. efek toksin  $CCl_4$  pada sel hepar yang hebat terjadi pada hari kedua dan pada hari ke 4 sudah mulai terjadi perbaikan. Jika dibandingkan dengan kerusakan tubulus ginjal terlihat kerusakan lebih hebat terjadi pada hari ke empat. Ini menunjukkan bahwa fungsi ginjal sebagai organ yang mengeluarkan  $CCl_4$  akan maksimal ekskresinya pada hari ke empat. Juga hasil proteksi flavonoid pada pada hari kedua tersebut sudah menunjukkan hasil yang baik.

Jadi flavonoid yang dikeluarkan melalui urine pada penelitian ini tampak maksimal hasil proteksinya pada hari ke 4.

## **Kepustakaan**

- Anderson, J.R. 1985 Muirs. Textbook of pathology, 12 th. Edition, Baltimore: Edward Arnold.
- Bast, A. c.s. 1991. Oxidants and antioxidants. State of Art. Am. J. 91 Suppl. 3c. paper sc-25
- Bertrand, Y. c.s. 1985. Dept. Anesthesiology Saint-Camilla Hospital B-Namur Belgi: Intensice Care Med. P. 65-67
- Bhatta Charya, R.K. 1989. Flavonoids modulations of carcinogenesis, Symposium on flavonoids in Biology and Medicine Singapore.
- Fawcett, B. 1986. Textbook of Histology, W.B. Saunders and Febiger. Philadelphia.
- Gilman G. 1985. Pharmacological basis of the therapeutic, 7 th. Ed. Mac Millan Publishing Co.
- Loggia, R.D. c.s. 1989. Antiinflammatory activity of flavonoids from Ginkgo biloba aadn then phospholipide complexes. Symposium on flavonoids in biology and Medicine. Singapore.
- Mindarti, H. dkk. 1994. Pemeriksaan komponen minyak atsiri rimpang kencur. Seminar Tanaman Obat Indonesia (TOI). Bandung
- Pince Mail, J. c.s. 1984. Flavonoids as antioxidans. Symposium on flavonoids in Biology and Medicine. Singapore.
- Ramzi S. Cotran, M.D; Vinay Kumar, M.D; Stanley L. Robbis, M.D. Robbins Pathologic Basis of Disease, 1989, 4 th edition, W.B. Saunders, page 1048-1050
- Reilly, P.M. c.s. 1991. Pharmacologic, Approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolits. Am. J. Surg. 161, 488.