

Perubahan Mikrostruktur Ginjal Tikus Wistar pada Pemberian Ekstrak Daun Sirsak Jangka Panjang

Kemas Yasir¹, Maya Tejasari², Gemah Nuripah³

¹Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung,

²Departemen Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung,

³Departemen Kedokteran Jiwa, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung

Abstrak

Daun sirsak merupakan salah satu tanaman yang sering digunakan sebagai obat tradisional. Meski relatif aman, penggunaan obat tradisional memiliki potensi toksik. Sebagai organ ekskresi, ginjal sangat sensitif terhadap *drug-related toxic respon*. Kondisi ginjal secara pasti dapat ditentukan dengan melihat jaringan ginjal secara langsung. Penelitian ini bertujuan untuk melihat perubahan mikrostruktur ginjal yang diberi ekstrak daun sirsak jangka panjang. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in vivo* dengan Rancangan Acak Lengkap terhadap tikus galur wistar yang terbagi dalam empat kelompok, yaitu kelompok kontrol (normal), dan tiga kelompok perlakuan dengan dosis ekstrak daun sirsak 20 mg/kgBB; 40 mg/kgBB dan 80 mg/kgBB peroral selama 60 hari kemudian dikorbankan, diambil ginjalnya dan dibuat preparat. Kemudian preparat diamati menggunakan mikroskop cahaya. Karakteristik mikroskopik yang dievaluasi adalah jumlah *renal corpuscle* yang masih utuh dan perubahan struktur nefron. Hasil penelitian menunjukkan jumlah *renal corpuscle* yang masih utuh pada kelompok perlakuan lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol, namun hasil uji statistik menggunakan ANOVA test menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan antara hasil pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol dengan nilai $p > 0,05$. Selain itu ditemukan perubahan struktur nefron berupa nekrosis di tubulus, *cast* di tubulus distal dan *interstitial edema* yang menandakan cedera jaringan ginjal. Simpulan dari penelitian ini adalah terdapat kecenderungan penurunan jumlah *renal corpuscle* dan adanya cedera pada jaringan ginjal pada pemberian ekstrak daun sirsak jangka panjang.

Kata Kunci: Efek Jangka Panjang, Daun Sirsak, Ginjal, Nefron

Microstructural Changes of Kidney Wistar Rat in Long Term Use of Soursop Leaf Extract

Abstract

Soursop leaf is one of the plants that are often used as a traditional medicine. Although relatively safe, the use of traditional medicine has a toxic potential. As an organ of excretion, the kidneys are very sensitive to drug-related toxic responses. The exact condition of the kidneys can be determined by looking at the kidney tissue directly. This study aims to see changes in renal microstructure given soursop leaf extract long term. This study was an experimental in vivo study with a Completely Randomized Design. Wistar rats divided into four groups, control group (normal), and three groups with dosage of 20 mg / kgBW; 40 mg / kgBW and 80 mg / kgBW soursop leaf

Korespondensi: Kemas Yasir, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung, Jl. Hariang Banga No. 2, Bandung, Jawa Barat, E-mail: kemasyasir5@gmail.com

extract use orally for 60 days then sacrificed, taken the kidney and made preparations. Then the preparations were observed using a light microscope. The microscopic characteristics evaluated were the number of intact renal corpuscle and structural changes of nephron. The results showed that the amount of renal corpuscle in the treatment group was lower than the control, but the result of the statistical test using ANOVA test showed no significant difference between the results in the treatment group and the control group with $p > 0,05$. In addition, changes in the structure of nephrons in necrosis of the tubules, thrown in the distal tubules and interstitial edema that indicating injury. The conclusion of this study is a tend decrease of renal corpuscle count and kidney injury in long term use of soursop leaf extract.

Keywords: *Kidney, Long Term Effect, Nephron, Soursop Leaf*

Pendahuluan

Perhatian dunia terhadap obat-obatan tradisional semakin meningkat.¹ Di Indonesia, penggunaan obat tradisional telah berlangsung lama. Menurut Survei Nasional yang dilakukan oleh Badan Pusat Statistik pada tahun 2000 ada sekitar 15,6% masyarakat Indonesia menggunakan obat tradisional dan meningkat hingga 31,7% pada tahun 2001.² Namun penggunaan obat tradisional yang meningkat dari tahun ke tahun ini belum didukung dengan penelitian yang memadai mengenai efektifitas dan keamanannya.

Meski relatif aman, penggunaan obat tradisional memiliki potensi toksik. Untuk menghindari efek toksik ada enam aspek ketepatan yang harus diperhatikan, yaitu tepat takaran, tepat waktu dan cara penggunaan, tepat pemilihan bahan dan telaah informasi serta sesuai dengan indikasi.³ Penggunaan obat tradisional harus tepat waktu karena penggunaan dalam jangka panjang dikhawatirkan menstimulasi efek toksik.²

Salah satu tanaman yang sering digunakan sebagai obat tradisional adalah daun sirsak. Daun sirsak diketahui mengandung beberapa senyawa kimia, seperti *flavonoid, alkaloida, saponin, tannin, glikosida, glikosida antrakuinon, steroid/triterpenoid, dan kumarin*.^{4,5,6} Senyawa yang dikandung tersebut akan menimbulkan beberapa reaksi yang berperan dalam efek antioksidan, anti-tumoral, selektif sitotoksitas, anti-mikroba, dan anti-parasit.^{5,6} Namun, efek terapi yang ditimbulkan oleh daun sirsak tidak secepat obat sintesis sehingga masyarakat mengkonsumsi daun sirsak sebagai obat alternatif dalam jangka panjang.⁷

Obat sering dianalogikan sebagai pisau bermata dua, selain memiliki efek kuratif obat juga berpotensi menimbulkan toksik.⁷ Toksin dapat menyebabkan terjadinya gangguan ginjal akut melalui dua mekanisme, yaitu menyebabkan gangguan aliran darah dan reaksi oksidatif di tubulus ginjal sehingga menyebabkan gambaran mikrostruktur yang berbeda.⁸

Untuk menjadi obat herbal terstandar, perkembangan obat herbal tersebut harus melalui berbagai tahap pengujian dan pengembangan secara sistematis. Tahap tersebut meliputi pemilihan bahan, pengujian farmakologik untuk mengetahui khasiatnya, pengujian toksisitas, pengujian farmakodinamik, formulasi, standarisasi sediaan dan pengujian klinik.⁹ Selama ini penelitian terhadap daun sirsak hanya berfokus pada efek kuratif dan preventif terhadap berbagai macam penyakit saja, tetapi masih jarang penelitian mengenai efek toksik penggunaannya dalam jangka panjang. Penelitian ini termasuk kedalam uji toksisitas daun sirsak.

Dalam perjalanannya, obat yang masuk ke dalam tubuh akan dimetabolisme di hati, kemudian sisa metabolisemenya akan diekskresikan melalui ginjal. Sebagai organ ekskresi, ginjal sangat sensitif terhadap *drug-related toxic respon*. Sel epitel tubular sangat sensitif terhadap iskemia dan toksin. Ada beberapa faktor yang menjadi predisposisi dalam *tubular toxic injury*, meliputi aktivitas elektrik yang luas untuk reabsorpsi air, transport aktif untuk pertukaran ion dan asam organik. *Acute Tubular Necrosis* merupakan salah satu penyebab gagal ginjal akut tersering yang dikarakteristikan dengan adanya nekrosis di segmen *tubulus* (biasanya *tubulus proksimal*), *proteinaceous casts* di *tubulus distal* dan *Interstitial edema*.⁸

Metode

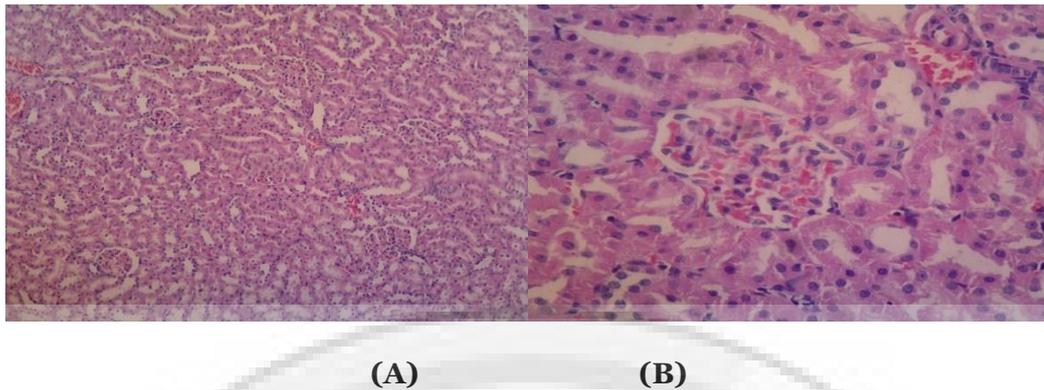
Subjek penelitian adalah tikus jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang memenuhi kriteria untuk hewan coba. Sebelum dilakukan penelitian ini subjek penelitian diadaptasi selama tujuh hari. Setelah diadaptasikan, subjek penelitian dibagi menjadi empat kelompok. Jumlah sampel dihitung menggunakan Rumus Federer dan didapatkan jumlah minimal untuk tiap perlakuan adalah enam ekor tikus, sehingga jumlah penelitian adalah 28 ekor tikus.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorium murni *in vivo* dengan desain penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL). Subjek dibagi menjadi empat kelompok terdiri atas kelompok I yang diberi pakan standar dan air minum, kelompok II diberi pakan standar peroral dan air minum kemudian diberikan ekstrak daun sirsak dengan konsentrasi 20 mg/kgBB/hari, kelompok III diberi pakan standar peroral dan air minum kemudian diberikan ekstrak daun sirsak dengan konsentrasi 40 mg/kgBB/hari, kelompok IV diberi pakan standar peroral dan air minum kemudian diberikan ekstrak daun sirsak dengan konsentrasi 80 mg/kgBB/hari. Semua subjek penelitian akan menjalani masa adaptasi selama tujuh hari. Setelah masa adaptasi, tikus akan diberi perlakuan sesuai dengan kelompoknya selama 60 hari. Kemudian tikus dikorbankan dengan cara dibedah, diambil organ ginjalnya, dan kemudian dibuat preparat dengan pewarnaan *Hematoxylin* dan *Eosin* (H&E). Pada pemeriksaan preparat, terlebih dahulu dibuat area lapang pandang dengan membuat kotak sebanyak Sembilan buah pada plastik mika. Selanjutnya preparat diperiksa dan diobservasi menggunakan mikroskop cahaya pada lima kotak untuk melihat perubahan jaringan ginjal. Preparat dibaca menggunakan mikroskop pada pembesaran 40x untuk menghitung jumlah *renal corpuscle* yang utuh dan pembesaran 400x untuk melihat perubahan struktur nefron.

Penelitian ini telah mendapat persetujuan etik yang dikeluarkan oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Unisba dengan Nomor: 118/Komite Etik.FK/III/2017

Hasil

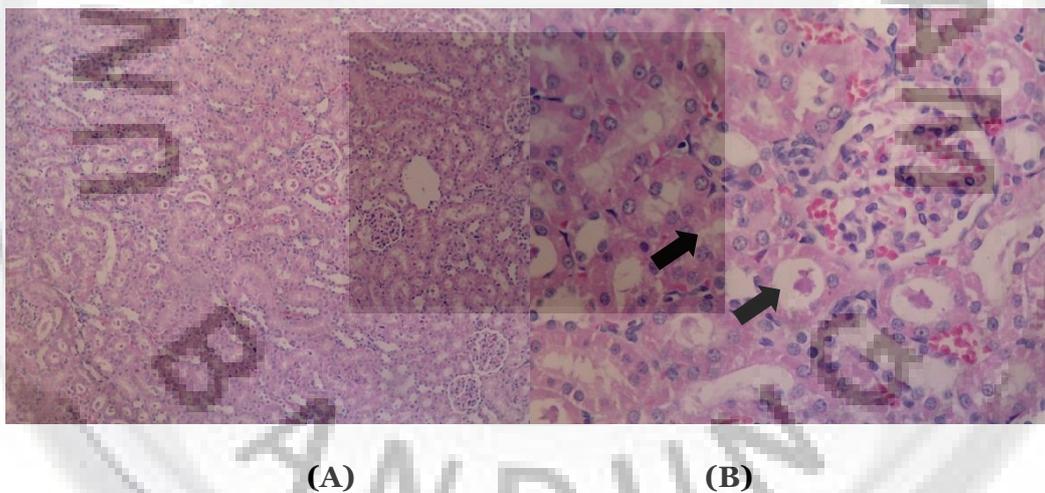
Hasil pembacaan preparat kelompok I (kontrol) didapatkan gambaran mikrostruktur jaringan ginjal dengan arsitektur nefron yang normal dan jumlah rata-rata *renal corpuscle* 160,14. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 1 berikut.



Gambar 1. Kelompok Kontrol

Pada gambar (A) Pembesaran 40x menunjukkan gambaran *renal corpuscle* yang utuh (B) Pembesaran 400x menunjukkan gambaran nefron yang normal

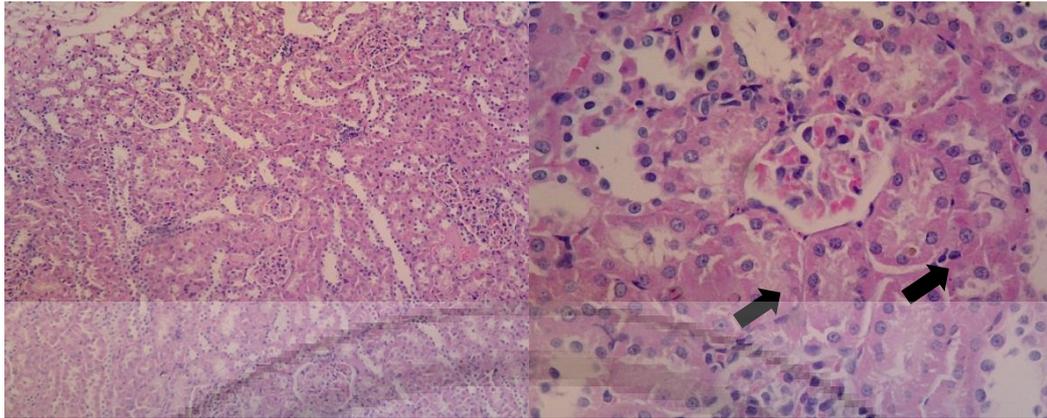
Pada kelompok II (perlakuan I) secara umum menunjukkan gambaran mikrostruktur ginjal yang mengalami kerusakan berupa adanya nekrosis di segmen tubulus dan adanya cast di tubulus distal. Selain itu, ditemukan jumlah *renal corpuscle* yang lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol dengan jumlah rata-rata 133,71. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 2 berikut.



Gambar 2. Kelompok Perlakuan I

Pada gambar (A) Pembesaran 40x menunjukkan jumlah *renal corpuscle* yang utuh lebih sedikit dibandingkan yang normal dan (B) Pembesaran 400x menunjukkan gambaran nefron yang rusak berupa nekrosis di segmen tubulus dan terdapat *cast* di tubulus distal

Pada kelompok III (perlakuan II) secara umum menunjukkan gambaran mikrostruktur ginjal yang mengalami kerusakan berupa adanya nekrosis di segmen tubulus dan *interstitial edema*. Selain itu, ditemukan jumlah *renal corpuscle* yang lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol dengan jumlah rata-rata 117,57. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 3 berikut.

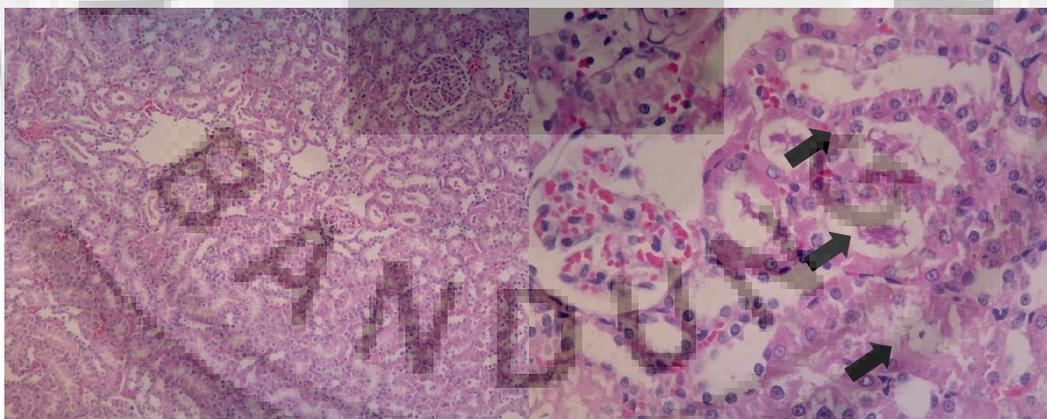


(A) (B)

Gambar 3 Kelompok Perlakuan II

Pada Gambar (A) Pembesaran 40x menunjukkan jumlah *renal corpuscle* yang utuh lebih sedikit dibandingkan yang normal (B) Pembesaran 400x menunjukkan gambaran nefron yang rusak berupa nekrosis di segmen tubulus dan *interstitial edema*

Pada kelompok IV (perlakuan III) secara umum menunjukkan gambaran mikrostruktur ginjal yang mengalami kerusakan berupa adanya nekrosis di segmen tubulus, adanya cast di tubulus distal dan *interstitial edema*. Selain itu, ditemukan jumlah *renal corpuscle* yang lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol dengan jumlah rata-rata 115,71. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 4 berikut.



(A) (B)

Gambar 4 Kelompok Perlakuan III

Pada gambar (A) Pembesaran 40x menunjukkan jumlah *renal corpuscle* yang utuh lebih sedikit dibandingkan yang normal (B) Pembesaran 400x menunjukkan gambaran nefron yang rusak berupa nekrosis di segmen tubule, terdapat *cast* di tubulus distal dan *interstitial edema*

Hasil penelitian menunjukkan kecenderungan penurunan jumlah *renal corpuscle* setelah diberi ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) jangka panjang:

Tabel 1. Rata-rata Jumlah Renal Corpuscle yang Utuh

Kelompok	Jumlah renal corpuscle yang utuh			
	Rata-rata	Standar Deviasi	Minimum	Maksimum
Kelompok I (Kontrol)	160,1429	43,22973	101,00	239,00
Kelompok II (Perlakuan I)	133,7143	35,93380	90,00	179,00
Kelompok III (Perlakuan II)	117,5714	45,32423	65,00	204,00
Kelompok IV (Perlakuan III)	115,7143	30,66874	83,00	172,00

Tabel 1 menunjukkan bahwa rata-rata jumlah *renal corpuscle* pada kelompok perlakuan lebih kecil dibandingkan pada kelompok kontrol.

Data dianalisis dengan menggunakan piranti lunak *SPSS (Statistical Package for Service Solution)*. Sebelum dilakukan analisis statistik, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dengan menggunakan *Saphiro Wilk Test* untuk melihat distribusi data numerik yang berjumlah kurang dari 50 sampel. Dari hasil uji normalitas didapatkan bahwa data jumlah *renal corpuscle* pada tikus di semua kelompok berdistribusi normal (nilai $p > 0,05$). Sampel pada penelitian ini dapat mewakili populasi.

Dikarenakan hasil uji normalitas sebagian besar berdistribusi normal, maka data dianalisis lebih lanjut dengan uji beda *ANOVA (Analysis of Variance)* untuk menilai perbedaan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

Pengaruh pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) terhadap jumlah *renal corpuscle* yang utuh pada mencit yang diberikan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) jangka panjang dapat dijelaskan pada Tabel 3

Tabel 3. Hasil Uji Beda

Perbandingan antar kelompok	Nilai p*)
Kelompok II, III, IV (perlakuan)-kelompok I (kontrol)	0,153

*ANOVA tes

Tabel 4.3 menunjukkan bahwa hasil uji beda menggunakan *ANOVA test* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan ($p > 0,05$)

Pembahasan

Daun sirsak mengandung beberapa zat aktif diantaranya *alkaloid, acetogenin, flavonoid, tannin, saponin, phenolic* dan beberapa kandungan kimia lainnya. *Annonaceius acetogenin* memiliki efek toksik sehingga berpotensi menimbulkan kerusakan pada jaringan ginjal terutama kerusakan pada sel epitel tubular ginjal sangat sentitif terhadap toksin. Toksin menyebabkan terjadinya *acute tubular injury* melalui berbagai mekanisme sehingga didapatkan gambaran nefron yang tidak normal.

Penelitian ini merupakan penelitian pertama yang melihat efek pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) jangka panjang terhadap kerusakan jaringan

ginjal. Berdasarkan hasil penelitian ini didapatkan bahwa terdapat penurunan jumlah *renal corpuscle* yang utuh pada ginjal tikus yang diberikan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) jangka panjang yang mengindikasikan adanya kerusakan jaringan ginjal. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) jangka panjang dengan konsentrasi 80 mg/kgBB memberikan efek paling besar merusak jaringan ginjal. Selain itu pada kelompok perlakuan ditemukan adanya beberapa perubahan gambaran nefron berupa nekrosis di segmen tubulus, adanya *cast* di tubulus distal dan *interstitial edema*.

Hal ini sejalan dengan penelitian Rana yang menyimpulkan bahwa penggunaan ekstrak daun sirsak dengan dosis tinggi menimbulkan efek toksik pada ginjal mencit.¹⁰ Penelitian lain yang dilakukan oleh Mutia tentang uji toksisitas sub kronis ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) jangka panjang mempunyai efek yang signifikan terhadap fungsi dan rasio berat ginjal.¹¹ Zat toksik yang terkandung dalam daun sirsak mengganggu aktivitas elektrikal, merubah struktur epitel dan merusak membrane sel sehingga terbentuk gambaran menyerupai *acute tubular necrosis* pada manusia. Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak daun sirsak jangka panjang menyebabkan cedera pada jaringan ginjal.

Setelah perlakuan, terdapat kecenderungan penurunan rata-rata jumlah *renal corpuscle* yang utuh, namun secara perhitungan statistik perbedaan jumlah *renal corpuscle* tersebut menunjukkan hasil yang tidak bermakna. Berdasarkan uji statistik menggunakan *ANOVA test* menunjukkan perbedaan jumlah *renal corpuscle* yang tidak signifikan antara kelompok perlakuan dan kontrol dengan nilai $p > 0,05$.

Simpulan

Pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) jangka panjang dapat menyebabkan perubahan mikrostruktur jaringan ginjal berupa cedera jaringan.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung, Laboratorium Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran dan Laboratorium Ilmu Hayati Institut Teknologi Bandung.

Daftar Pustaka

1. WHO. General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine World Health Organization. World Heal Organ. 2000:1-73. doi:WHO/EDM/TRM/2000.1.
2. Suwigyo CT. Penggunaan Obat Tradisional. 2007;2006:1-7.
3. Kanto. Tingkat Manfaat Efektifitas Dan Keamanan Tanaman Obat Dan Obat Tradisioanal. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI; 2008.
4. Purwatresna E. Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Air Dan Etanol Daun Sirsak Secara in Vitro Melalui Inhibisi Enzim A -Glukosidase. Dep Biokimia Fakltas Mat dan Ilmu Pengetah Alam Inst Pertan Bogor. 2012.
5. Adewole SO, Ojewole JAO. Protective effects of *Annona muricata* Linn. (Annonaceae) leaf aqueous extract on serum lipid profiles and oxidative stress in hepatocytes of streptozotocin-treated diabetic rats. African J Tradit Complement Altern Med. 2009;6(1):30-41.

6. Patel S, Patel JK. A review on a miracle fruits of *Annona muricata*. *J Pharmacogn Phytochem*. 2016;5(51):137-148.
7. Wisda PM. *Manfaat dan Khasiat Rebusan Daun Sirsak*. Yogyakarta. 2016.
8. Vinay K. *Robbin and Cotran Pathologic Basis of Disease*. eight edit. Philadelphia: Elsevier; 2010.
9. DEPKES RI. *Kebijakan Obat Tradisional Nasional*. 2007:26.
10. Bitar R, Fakhoury R, Fahmi R, Borjac J. *Histopathological Effects of the Annona muricata Aqueous Leaves Extract on the Liver and Kidneys of Albino Mice Translational Medicine Histopathological Effects of the Annona muricata Aqueous Leaves Extract on the Liver and Kidneys of Albino Mice*. 2017;(May)
11. Harissa M. *Uji toksisitas sub kronis dari ekstrak etanol daun sirsak terhadap hati dan ginjal pada mencit putih*. 2012.

