PENGARUH EKSTRAK ETANOL MENGKUDU (*Morinda citrifolia L)* TERHADAP DIABETIK NEFROPATI PADA TIKUS *SPRAQUE DAWLEY* YANG DIINDUKSI *STREPTOZOTOCIN* (STZ)

Effect of Ethanol Noni (Morinda citrifolia L) Extract on Diabetic Neophropathy Spraque Dawley Rats Induced Streptozotocin (STZ)

Murnah, Indranila KS

Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

ABSTRAK

Latar belakang: Mengkudu (*Morinda citrifolia L*) telah diketahui secara ilmiah memiliki beberapa bahan aktif polifenol, antioksidan dan flavonoid yang berperan menurunkan stress oksidatif, kemampuan meregenerasi fungsi ginjal melalui pengukuran berbagai ekstraselular matriks protein dan faktor pertumbuhan. Perbaikan fungsi ginjal diukur berdasarkan mikroalbuminuria (MAU) dan ekspresi VEGF ginjal.Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh pemberian *Morinda citrifolia L* terhadap mikroalbuminuria dan ekspresi VEGF ginjal pada diabetes nefropati tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi *streptozotocin.*

Metode: Penelitian menggunakan desain *randomized post test only control group.* Tiga puluh ekor tikus jantan Sprague *Dawley*, dibagi dalam lima kelompok: kontrol positif yang diinduksi streptozotocin; dan empat kelompok perlakuan yang diinduksi streptozotocin dan diberi ekstrak Morinda Citrifolia L dosis bertingkat 50; 100; 200; 400mg/kg BB selama dua minggu. Kadar gula darah, mikroalbuminuria dan ekspresi VEGF pada tikus urin dan jaringan ginjal dinilai berdasarkan uji non parametrik Kruskal Wallis dilanjutkan uji Mann Whitney dengan α <0,05.

Hasil: Pemeriksaan kadar gula darah, mikroalbuminuria dan ekspresi VEGF ginjal pada keempat kelompok yang diberi ekstrak *Morinda citrifolia L*, semuanya menunjukkan perbedaan bermakna dibandingkan kontrol positif, membuktikan bahwa pemberian ekstrak secara bermakna memperbaiki kadar albumin dalam urin dan ekspresi VEGF ginjal, namun perbaikan ini belum mampu mencapai keadaan normal. Perbaikan yang ditunjukkan oleh gambaran imunohistokimia ekspresi VEGF sejalan dengan peningkatan dosis ekstrak yang diberikan.

Simpulan: Ekstrak Morinda citrifolia L, memiliki efek perbaikan terhadap fungsi ginjal yang dideteksi melalui mikroalbumnuria dan ekspresi VEGFakibat induksi streptozotocin.

Kata kunci: Mengkudu, diabetes nefropati, mikroalbuminuria,ekspresi VEGF-IHC.

ABSTRACT

Background: *Morinda citrifolia L leaf has been proven contains active polyphenol, antioxidant and flavonoid, these active compound have potential effect as reduced stress oxidative, developed renal function regeneration through protein extracellular matrix and growth factor. Early detection of renal function was used microalbuminuria (MAU) and VEGF expression of renal. This study aimed to observe the effect of Morinda citrifolia L leaf on decreased microalbuminuria and expression VEGF-IHC of diabetes nephropathy of Sprague Dawley rat Induced by Streptozotocin.*

Method: *This study was an aminal experimental with a randomized post test only control group design. Thirty Sprague Dawley rat were divided into five group; a positive control group induced by streptozotocin; and four group induced by streptozotocin, then administered with extract of Morinda citrifolia L leaf for two weeks. Extract doses for each groups are 50; 100; 200; 400 mg/kgBW. The measure of blood glucose, microalbuminuria and expression VEGF of urine and renal tissue was observed and evaluated by non parametric Kruskal Wallis continued with Mann Whitney, the level of significance used was a p value of < 0,05.*

Result: *There were a significant difference on measured of blood glucose, microalbuminuria and expression VEGF between four groups administered with Morinda citrifolia L leaf extract compared with positive control. It proven that Morinda citrifolia L leaf extract had potential effect in repairing the measure of microalbuminuria and expression VEGF renal, althoughit could not reach a normal condition yet. Mayer's hematoxillin staining and VEGF –IHC of renal showed better result parallel with dose increasing level.*

Conclusion: *Extract of Morinda citrifolia L leaf has potential effect in repairing the renal function by microalbuminuria and expression VEGF caused by streptozotocin.*

Keywords: *Morinda citrifolia L, diabetes nephropathy, microalbuminuria, expression VEGF-IHC.*

PENDAHULUAN

Latar belakang

Diabetik Nefropatik (DN) merupakan salah satu komplikasi mikrovaskuler yang serius akibat hiperglikemi yang bersifat kronis. Diabetik Nefropatik adalah penyebab penyakit ginjal kronik, di Indonesia prevalensinya meningkat 2-3 kali lebih cepat, sedangkan di Rumah Sakit Dokter Kariadi Semarang pada tahun 2000 menduduki urutan kedua penyebab penyakit ginjal kronik setelah glomerulonefrotis. Prevalensi DN menduduki angka teratas sebagai penyebab penyakit gagal ginjal terminal sebanyak 30%-40% merupakan penderita DMT2.[2] Petanda klinis awal terjadinya gangguan fungsi ginjal dibetes nefropati adalah

mikroalbuminuria (MAU).[3] Penelitian menunjukkan hubungan erat antara mikroalbuminuria dengan kerusakan yang terjadi pada ginjal. MAU merupakan petanda awal diabetes nefropati berkaitan dengan hipergfiltrasi glomerulus, penebalan membran basalis, dan ekspansi matriks ekstraseluler mesangial.[4]

VEGF (*vascular endothelial growth factor)*, dalam patogenesis diabetes nefropati mengalami perubahan patobiologik melalui jalur protein kinase C, AGEs, ROS yang mempengaruhi peningkatan sitokin dan faktor pertumbuhan. VEGF yang merupakan produk podosit, sel mesangial dan endotel, peningkatannya sebagai sitokin proinflamasi, terlihat pada sekresi VEGF yang berlebihan di dalam serum, urine dan ginjal dari tikus diabetes.[1,6]Peningkatan ekspresi VEGF menurut patogenesisnya terkait mikroalbuminuria, dijelaskan dengan antagonis reseptor VEGF dan neutralisasi antibodi VEGF.[1,] Perubahan komplikasi DN melalui ekspresi gen dievaluasi terhadap perubahan produksinya dalam bentuk ekspresi VEGF ginjal tikus diabetes nefropati yang diinduksi Streptozotocin.[5]

Mengkudu (*Morinda citrifolia L*) adalah tanaman obat tradisional dengan senyawa kimia utama berupa alkaloid *xeronin*, *guecertin*, flavonoid, polisakarida, vitamin A, vitamin C, antraquinon (moridon, nordam, nakantal, ribiandin, glikosida antraquinon), asam amino esensial dan non esensial yang lengkap. Di Indonesia tanaman ini belum memiliki acuan ilmiah yang dapat dimanfaatkan secara optimal sebagai salah satu bentuk pengobatan alternatif.[6]

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian true experiment menggunakan pendekatan *the post test only control group design.*

Kriteria inklusi: Umur 12 – 16 minggu**,** jenis kelamin jantan**,** berat badan: 150 – 250 gr**,** kondisi sehat dan tidak ada kelainan anatomik**,** kadar glukosa darah normal (80 – 120mg/dl). Kriteria eksklusi: Tikus mengalami diare selama penelitian, aktivitas terlihat abnormal, kadar glukosa darah tikus tidak normal, tikus gagal menjadi tikus DN setelah diinduksi STZ., tikus mati selama perlakuan. Subyek penelitian dipilih secara rancangan acak lengkap (*Completely randomized design*) dan rancangan acak sederhana.

Hewan tikus di induksi STZ untuk menjadikan hiperglikemia dan mikroalbuminuria dengan dosis 40 mg/kgBB, setelah 8 minggu diperiksa kadar

gula darah dan mikroalbuminuria. Ditemukan dosis efektif adalah 40 mg/kgBB dengan angka kematian terkecil; dan tercapai mikroalbuminuria pada minggu ke 8. Setelah itu dilakukan pemberian ekstrak *Morinda citrifolia L* secara oral sonde selama 2 minggu. Sedangkan keluaran (outcome) yang diharapkan adalah status diabetik, kadar gula darah, MAU dan gambaran VEGF ekspresi ginjal hewan coba yang dibuat hiperglikemik.

Hasil Penelitian

Tabel 1. Hasil analisis ekstrak buah mengkudu

Jenis uji	Hasil	Satuan	Metode
Total fenolat	18,5	Mg asam galat/gr ekstrak	Spektroskopi
Kadar flavonoid	18,3	Mg quecertin /gr ekstrak	Spektroskopi
Antioksidan	EC_{50} 104,25	-	DPPH

Karakteristik berat badan, gula darah, volume urine pada hewan coba sebelum induksi STZ, setelah induksi STZ dan setelah pemberian MC ditampilkan pada tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik hewan coba sebelum induksi STZ

Karakteristik	K (+) n=6	X1 n=6	X2 n=6	X3 n=6	X4 n=6	P
Berat badan (g)	193,4 ± 5,90	245,7± 3.85	232,4 ± 1,55	213,2 ± 10,11	217,3 ± 5,31	<0,001*
Glukosa darah (mg/dL)	85,2 ± 3,92	92,3 ± 10,46	84,0 ± 5,62	83,8 ± 5,15	86,2 ± 7,62	0,4¥
Volume urin (ml/hr)	19,6 ± 6,06	22,4 ± 4,12	22,3 ± 5,85	17,8 ± 3,23	20,6 ± 3,10	0,4*

***Uji One Way ANOVA** **¥Uji Kruskall-Wallis**

Hasil uji statistik menunjukkan ada perbedaan yang bermakna pada berat badan sebelum induksi SRZ antara kelompok penelitian (p<0,001). Gula darah hewan coba dari hasil uji statistik menunjukkan perbedaan tersebut adalah tidak bermakna (p=0,4). Volume urin dari hasil uji statistik menunjukkan perbedaan tersebut adalah tidak bermakna (p=0,4).

Efek metabolik STZ induksi diabetes pada berat badan, kadar glukosa darah,

volume urin dan kadar albumin dalam urin ditampilkan pada tabel 3.

Tabel 3. Berat badan, kadar glukosa darah, dan volume urin hewan coba setelah induksi STZ

Variabel	K (+) n=6	X1 n=6	X2 n=6	X3 n=6	X4 n=6	P
Berat badan (g)	182,1 ± 23,73	219,4 ± 38,23	213,0 ± 23,50	221,2 ± 47,89	206,2 ± 53,86	0,7¥
Glukosa darah (mg/dL)	498,0 ± 60,51	497,8 ± 193,33	561,3 ± 39,84	484,8 ± 193,44	500,2 ± 194,12	0,9¥
Volume urin (ml/hr)	19,57 ± 6,06	22,4 ± 4,13	22,3 ± 5,85	17,83 ± 3,32	20,62 ± 3,12	0,4*

***Uji One Way ANOVA** **¥Uji Kruskall-Wallis**

Tabel 3. Hasil uji statistik perbedaan berat badan tersebut adalah tidak bermakna (p=0,7). Kadar glukosa darah pasca induksi STZ pada semua kelompok adalah > 300 mg/dL. Kadar glukosa darah dari hasil uji statistik perbedaan tersebut adalah tidak bermakna (p=0,9). Volume urin dari hasil uji statistik perbedaan tersebut adalah tidak bermakna (p=0,4).

Berat badan, berat ginjal, kadar glukosa darah, volume urin, kadar al bumin dalam urin dan skor eksresi VEGF jaringan ginjal hewan coba setelah pemberian ekstrak MC ditampilkan pada tabel 4.

Tabel 4. Pengaruh pemberian ekstrak MC terhadap hewan coba

Variabel	K (+) n=6	X1 n=6	X2 n=6	X3 n=6	X4 n=6	p
Berat badan (g)	191,7 ± 26,74	208,1± 43,93	198,4 ± 20,86	197,3 ± 18,07	186,7± 20,31	0,7*
Berat ginjal (g)	2,07 ± 0,19	2,55 ± 0,51	2,22 ± 0,09	2,07 ± 0,21	2,27 ± 0,15	0,2¥
Glukosa darah (mg/dL)	327,3 ± 104,05	417,3 ± 79,95	427,7 ± 93,64	462,8 ± 48,99	389,8± 56,11	0,07*
Volume urin(ml/hr)	62,5 ± 30,12	92,3 ± 6,65	73,8 ± 17,83	62,2 ± 30,18	52,8 ± 32,25	0,1*

***Uji One way ANOVA** **¥Uji Kruskall Wallis**

Tabel 4. Menunjukkan Gula darah seluruh kelompok penelitian baik kelompok K(+) maupun yang mendapat MC berbagai dosis masih > 300 mg./dL. Kadar gula darah yang terendah adalah pada kelompok (+), selanjutnya adalah kelompok X4, X2 dan tertinggi adalah pada kelompok X3, namun hasil uji statistik menunjukkan perbedaan tersebut adalah tidak bermakna (p=0,07).

Kadar albumin dalam urin hewan coba yang STZ-induksi diabetes yang

mendapat MC berbagai dosis ditampilkan pada tabel 5.

Tabel 5. Kadar albumin dalam urin hewan coba yang STZ-induksi diabetes yang mendapat MC berbagai dosis. Jumlah hewan coba masing-masing kelompok n=6.

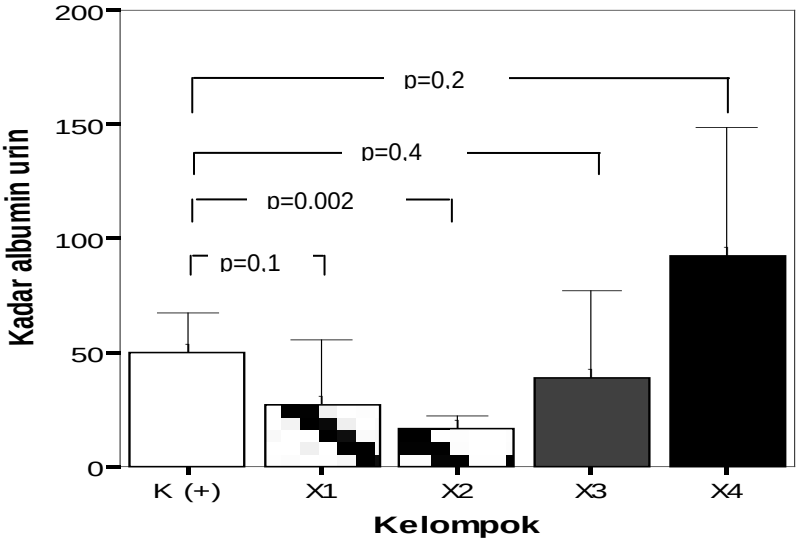
Kelompok	Rerata ± SB	Median	Minimum	Maximum
K (+)	49,91 ± 17,044	52,91	30,07	67,3
X1	26,97 ± 28,299	14,65	5,5	80,6
X2	16,31 ± 5,606	14,275	10,6	25,61
X3	38,92 ± 37,616	15,96	12,6	88,6
X4	92,22 ± 56,084	96,85	13,21	158,09

Uji Kruskal Wallis p=0,03.

Uji Mann-Whitney:

- X1 vs K(+) p=0,1
- X2 vs K(+) p=0,002
- X3 vs K(+) p=0,4
- X4 vs K(+) p=0,2
- X1 vs X2 p=0,9
- X1 vs X3 p=0,4
- X1 vs X4 p=0,03
- X2 vs X3 p=0,4
- X2 vs X4 p=0,03
- X3 vs X4 p=0,2

Tabel 5. Kadar albumin urin yang paling rendah adalah pada kelompok X2 dan berikutnya adalah pada kelopok X1, X3, K(+) dan tertinggi adalah pada kelompok X4. Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada kadar albumin dalam urin antara kelompok penelitian (p=0,03). Perbandingan kadar albumin dalam urin hewan pada kelompok penelitian juga ditampilkan pada gambar 1.



Gambar 1. Perbandingan kadar albumin dalam urin hewan coba pada kelompok penelitian (n masing-masing kelompok = 5). Diagram batang menunjukkan rerata dengan *error bar* 1 SD.

Hasil uji statistik antar kelompok penelitian menunjukkan rerata kadar albumin dalam urin kelompok X1 adalah lebih rendah dibanding kelompok K(+), namun perbedaan tersebut tidak bermakna (p=0,1). Selanjutnya pada gambar 1 juga tampak rerata kadar albumin urin kelompok X2 adalah lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok K(+) dengan p=0,002.

Skor ekspresi VEGF jaringan ginjal hewan coba dengan STZ induksi diabetes setelah pemberian MC berbagai dosis ditampilkan pada tabel 6.

Tabel 6. Skor ekspresi VEGF jaringan ginjal hewan coba yang STZ-induksi diabetes yang mendapat MC berbagai dosis. Jumlah hewan coba masing-masing kelompok n=6.

Kelompok	Rerata ± SB	Median	Minimum	Maximum
K (+)	2,50 ± 0,047	2,52	2,43	2,55
X1	2,37 ± 0,070	2,36	2,30	2,46
X2	2,22 ± 0,069	2,22	2,13	2,33
X3	1,76 ± 0,054	1,77	1,67	1,82
X4	1,68 ± 0,062	1,68	1,60	1,75

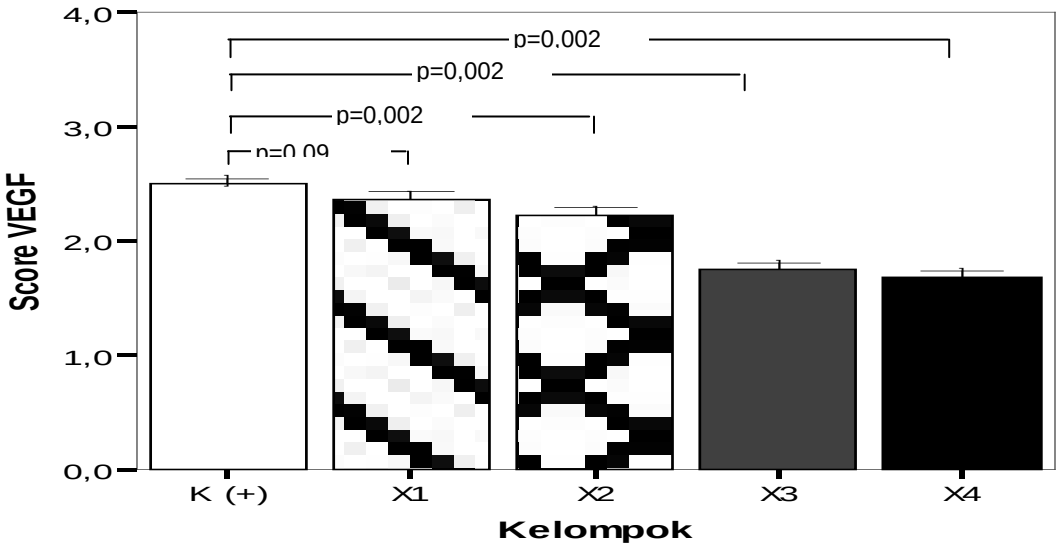
Uji Kruskal Wallis p<0,001

Uji Mann-Whitney:

- X1 vs K(+) p=0,009
- X2 vs K(+) p=0,002
- X3 vs K(+) p=0,002
- X4 vs K(+) p=0,002
- X1 vs X2 p=0,01
- X1 vs X3 p=0,002
- X1 vs X4 p=0,002
- X2 vs X3 p=0,002
- X2 vs X4 p=0,002
- X3 vs X4 p=0,07

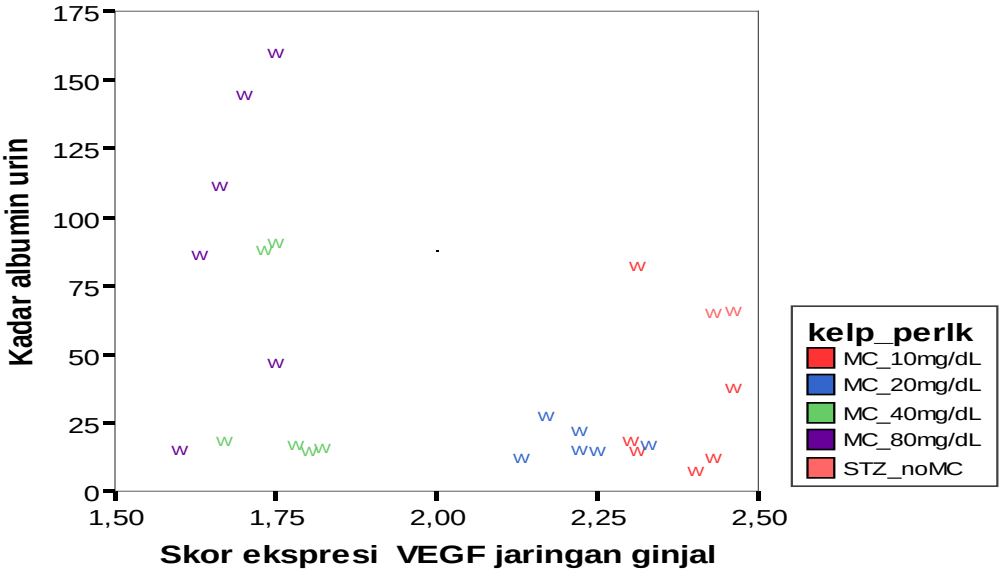
Tabel 6. menunjukkan rerata skor ekspresi VEGF jaringan ginjal hewan coba yang paling tinggi adalah kelompok K(+), selanjutnya adalah kelompok X1, X2, X3 dan yang paling rendah adalah kelompok X4. Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada skor ekspresi VEGF antara kelompok penelitian (p<0,001). Perbandingan skor ekspresi VEGF pada kelompok penelitian juga ditampilkan pada gambar 2. Hasil analisis perbandingan skor ekspresi VEGF antar kelompok menunjukkan skor ekspresi VEGF jaringan ginjal hewan coba kelompok X1 adalah lebih tinggi secara bermakna dibanding kelompok X2 (p=0,01), X3 (p=0,002) dan kelompok X4 (p=0,002). Skor ekspresi VEGF jaringan ginjal hewan coba kelompok X2 adalah lebih tinggi dibanding kelompok X3 (p=0,002) dan X4 (p=0,002). Skor ekspresi VEGF jaringan ginjal hewan coba kelompok X3 adalah

lebih tinggi dibanding kelompok X4 namun perbedaan tersebut tidak bermakna (p=0,07).



Gambar 2. Perbandingan skor ekspresi VEGF jaringan ginjal hewan coba pada kelompok penelitian (n masing-masing kelompok = 5). Diagram batang menunjukkan rerata dengan *error bar* 1 SD.

Hubungan antara kadar albumin dalam urin dengan skor eskpresi VEGF jaringan ginjal hewan coba ditampilkan pada gambar3.



Gambar 3. Hubungan antara ekspresi skor VEGF dengan kadar albumin dalam urin pada hewan coba STZ induksi diabetes yang mendapat MC berbagai dosis

Hasil uji korelasi Spearman menunjukkan koefisien korelasi antara skor ekspresi VEGF jaringan ginjal dengan kadar albumin dalam urin adalah –0,19 menunjukkan bahwa arah korelasi positif dengan kekuatan korelasi tidak bermakna, (p=0,3), menunjukkan bahwa korelasi antara kadar albumin urin dengan score VEGF adalah tidak bermakna.

Hasil uji korelasi Spearman pada kelompok K(+), X1 dan X2 menunjukkan koeffisien korelasi antara skor ekspresi VEGF jaringan ginjal dengan albumin dalam urin adalah 0,51 , (p=0,03) menunjukkan bahwa korelasi antara kadar albumin dalam urin dengna ekspresi VEGF jaringan ginjal adalah bermakna.

Pembahasan

Kadar Glukosa Darah Pasca Induksi *Streptozotocin*

Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian STZ dalam dosis 40mg/kgbb, untuk menginduksi kerusakan pulau Langerhans dan sel β pankreas. Induksi STZ multipel dosis rendah menyebabkan *delayed onset* diabetes melalui aksi kombinasi kerusakan sel β dan cedera imunologik.[7]

Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah setelah suntikan STZ intraperitoneal, telah terjadi hiperglikemia pada semua kelompok adalah > 300 mg/dL Kadar glukosa darah terendah adalah kelompok X3, selanjutnya adalah kelompok X1, K(+), dan tertinggi adalah X2. Proses perubahan konsentrasi glukosa darah akibat induksi STZ merupakan refleksi dari abnormalitas fungsi sel β dan menginduksi organ lain secara *reversible*,seperti ginjal dan medulla adrenal. STZ masuk kedalam sel β pankreas melalui reseptor yang sama dengan glukosa yaitu GLUT-2, hal ini menjelaskan penelitian West, *et al* yang mengamati bahwa respon awal STZ adalah menghilangkan respon sel β terhadap glukosa,[8] yang dengan adanya STZ kemungkinan menyebabkan terhalangnya ikatan glukosa dengan GLUT-2. Kemudian terjadi respon umpan balik temporer diikuti oleh kerusakan dan hilangnya respon sel β secara permanen. Bleasel, et al mengatakan pemberian dosis 65mg/KgBB/iv; pencapaian kadar glukosa urin 500mg/Dl dan glukosa darah diperoleh 300-400mg/dL, selama dua minggu maka dikatakan hewan coba berada

pada kondisi diabetes nefropati. Pada induksi kadar 40mg/kgBB tidak menunjukkan kematian dan kesakitan. Kadar mikroalbuminuria terjadi peningkatan pada minggu kedelapan dengan nilai terendah 7 mg/dl dan kadar tertinggi 219mg/dl.[8]

Pengaruh Pemberian *Ekstrak Buah Morinda citrifolia L* Terhadap kadar MAU

Hasil uji statistik antar kelompok penelitian menunjukkan rerata kadar albumin dalam urin kelompok X2 adalah lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok K(+) dengan p=0,002. Rerata kadar albumin urin kelompok X2 lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok X4 (p=0,03).

Kadar AGEs dalam darah meningkat dalam perkembangan komplikasi mikrovaskuler pada *renal mesangial cell growth* yang terjadi selama diabetes nefropati. Ikatan AGEs dengan reseptor AGEs (RAGE) memicu timbulnya *reactive oxygen species* (ROS) dan aktivasi NF-κB terhadap sel target, endothelium, sel mesangial dan makrofag dengan respons peningkatan permeabilitas vaskuler, sehingga terjadi *transvascular albumin leakage* yang menimbulkan mikroalbuminuria.

Morinda citrifolia L dari hasil penelitian mengandung antioksidan yaitu karetonoid , vitamin C dan vitamin A, dimana antioksidan memiliki efek protektif pada nefropati diabetes pada model mencit DMT2, terutama pada hiperglikemi , fokus pada sel mesangial.[9] Produksi ROS , mengakaktifasi *nuclear transcription factor kappaB (NFκB*) dan *activator protein-1(AP-1*) dan ekspresi *transforming growth factor-beta1*(TGFβ1) dan *monocyte chemotractant protein-1* (MCP-1) menunjukkan paparan kadar glukosa tinggi menginduksi produksi ROS pada mitokondria kultur sel mesangial merupakan hasil aktifasi faktor transkripsi dan produksi sitokin memegang peranan penting pada ekspansi mesangial, dan merupakan gambaran pathogenesis diabetes nefropati .[9] Akumulasi karotenoid pada mitokondria kultur human sel mesangial menurunkan produksi ROS-modified protein pada mitokondria. Karotenoid mencegah progresifitas diabetes nefropati melalui efek *ROS scavenging* pada mitokondria sel mesangial dan

diharapkan sangat bermanfaat pada pengelolaan diabetes nefropati .[9]

Pengaruh Pemberian *Ekstrak Buah Morinda citrifolia L* Terhadap Ekspresi VEGF Ginjal

Penelitian hasil skor ekspresi VEGF jaringan ginjal hewan coba dengan STZ, induksi diabetes setelah pemberian MC berbagai dosis dari hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada skor ekspresi VEGF antara kelompok penelitian ($p<0,001$). Perbandingan skor ekspresi VEGF pada kelompok penelitian juga ditampilkan pada gambar 3.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *vascular endothelial growth factor* (VEGF) berpengaruh terhadap patogenesis terjadinya mikroalbuminuria pada pasien diabetes. VEGF meningkatkan permeabilitas kapiler pada berbagai organ dan berperan pada regulasi permeabilitas glomerulus pada ginjal. Hasil analisis ekstrak buah mengkudu secara spektroskopi mengandung senyawa kimia yaitu fenolat merupakan turunan dari senyawa polifenol yang menunjukkan kerja sebagai inhibitor ekspresi dari VEGF, suatu pro-angiogenik mayor dan faktor proaterosklerotik pada VSMCs melalui pencegahan aktifasi redoks-sensitif dari p38 MAPK-pathway. Potensi inhibitor dari polifenol pada SMCs terlihat bahwa *presenting hydroxyl residu* pada posisi 3' dapat menghambat induksi $PDGF_{AB}$ dan ekspresi VEGF melalui pencegahan aktivasi p28 MAPK dan JNK, polifenol memiliki keistimewaan aktifitas sebagai *radical scavenging.*[4]

Quecertin senyawa flavonoid yang berperan sebagai antioksidan karena dapat menangkap radikal bebas (*free radical scavengers*) dengan melepaskan atom hidrogen dari gugus hidroksilnya .Pemberian atom hidrogen menyebabkan radikal bebas stabil dan berhenti melakukan gerakan ekstrim, sehingga tidak merusak lipida, protein dan DNA yang menjadi target kerusakan sel.[10] Antioksidan dapat mempengaruhi jalur MAPK melalui modulasi ROS, atau langsung mengaktifasi MAPK, dan memiliki efek protektif pada DN pada hewan coba mencit DMT-2, terutama pada hiperglikemia, fokus pada sel mesangial. Antioksidan mencegah progresifitas DN melalui efek ROS scavenging pada mitokondria sel mesangial dan diharapkan sangat bermanfaat pada pengelolaan DN.[11]

Reaksi pembentukan AGEs diduga turut mendasari komplikasi pada diabetes mellitus, akibat diabetes scara umum mempercepat terjadinya aterosklerosis, nefropati, neuropati, retinopati serta katarak. Aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh ekstrak mengkudu berperan dalam menghambat laju pembentukan AGEs dan senyawa dikarbonil, dan karena ekstrak mengkudu mempunyai kandungan kimia lain seperti vitamin C, vitamin E yang bersifat antioksidan.[12]

Hasil penelitian menunjukkan pemberian ekstrak mengkudu dapat mengurangi ekspresi VEGF yang dapat dilihat dari gambar hispatologik ginjal dan salah satu jalur melalui menghambat laju pembentukan AGEs.

Hasil uji imunohistokimia menunjukkan pemberian ekstrak mengkudu dapat menunjukkan ekspresi VEGF lebih kecil dibandingkan dengan kontrol (+) karena adanya senyawa flavonoid menjadikan ikatan lemah terhadap ikatan HIF 1 α yang dibandingkan dengan ikatan ATP pada kedua protein kinase sehingga ekspresi VEGF tidak terhambat.[12]

Hubungan antara kadar albumin dalam urin dengan skor ekspresi VEGF

Berdasarkan hasil uji statistik hubungan antara kadar albumin dalam urin dengan skor eskpresi VEGF jaringan ginjal hewan coba, hasil uji korelasi Spearman menunjukkan koefisien korelasi antara skor ekspresi VEGF jaringan ginjal dengan kadar albumin dalam urin adalah -0,19 (p=0,3). Sedangkan pada kelompok K(+), X1 dan X2 menunjukkan koeffisien antara skor ekspresi VEGF jaringan ginjal dengan albumin dalam urin adalah 0,51, (p=0,03). Pada kelompok X3 dan X4 terjadi peningkatan kembali kadar albumin dalam urin dapat dilihat pada gambar 1.

Hiperglikemia menyebabkan peningkatan DAG (*Diacylglycerol*), yang selanjutnya mengaktivasi protein kinase-C, utamanya pada isoform β dan δ. Aktivasi PKC menyebabkan beberapa akibat patogenik melalui pengaruhnya terhadap *endothelial nitric oxide synthetase* (eNOS), endotelin-1 (ET-1), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), transforming growth factor-β (TGF- β) dan plasminogen activator

inhibitor-1 (PAI-1), dan aktivasi NF-kB dan NAD(P)H oxidase, penelitian ini mengimplikasikan kausal meningkat albumin terglikasi dalam pengembangan kelainan kontribusi untuk nefropati diabetes. menipisnya glomerular dari protein nephrin dan berlebih dari VEGF menyertai peningkatan ekskresi albumin urin dan kolagen IV yang mencirikan diabetes *db/db* tikus, dan keempat kelainan yang dilemahkan dengan pemberian senyawa yang menghambat proses percepatan glikasi nonenzimatik albumin ditemukan di hiperglikemia diabetes binatang. Penelitian ini konsisten bahwa peningkatan konsentrasi albumin terglikasi memberikan kontribusi kerusakan podosit pada diabetes, dan memberikan pada relevansi vivo dan in vitro bahwa paparan sel epitel dalam budaya untuk albumin terglikasi berkurang ekspresi nephrin[17] . Hasil lebih lanjut melibatkan albumin terglikasi di genesis dari VEGF glomerular peningkatan yang ditemukan pada diabetes, kemungkinan berhubungan dengan produksi-albumin terglikasi diinduksi TGF-β1,[17] yang sendiri merupakan stimulus ampuh sekresi VEGF[19]. Penurunan dalam ekspresi TGF-β1 ginjal, VEGF, dan albumin kemih dan kolagen tipe IV dalam menanggapi 23CPPA konsisten dengan laporan bahwa terapi anti-VEGF mengurangi albuminuria pada hewan pengerat, bahwa podosit adalah sumber utama dari VEGF pada glomerulus dan bahwa yang diturunkan dari VEGF podocyte dapat beroperasi dalam loop autokrin untuk mempromosikan produksi kolagen IV, mengubah permeabilitas penghalang penyaringan.[1,15]

Penelitian menunjukkan bahwa albumin terglikasi memberikan kontribusi untuk kerusakan podosit pada diabetes, mungkin melalui satu atau lebih mekanisme patologi yang diusulkan oleh Mundel dan Shankland[15] (yaitu, gangguan pada kompleks diafragma celah dan rakit lipid tersebut; kelainan pada glomerular basement membran interaksi-podosit, kelainan dari sitoskeleton aktin dan protein yang terkait seperti α-actinin-4, dan perubahan dalam domain apikal dari podosit, seperti netralisasi beban permukaan sel negatif). Kerusakan dan kerugian podosit diyakini penentu penting dalam pengembangan glomerulosclerosis dan gagal ginjal progresif yang dihasilkan, mungkin timbul dari berkurangnya dukungan ke loop kapiler glomerulus yang mendasari dan kurangnya gaya yang berlawanan untuk tekanan kapiler hidrostatik yang dapat menyebabkan

penggundulan membran basal, menonjol keluar dari lingkaran kapiler, pembentukan synechiae, protein inspissated, hyalinosis, dan progresif jaringan parut[16] ,

Simpulan

1. Ekstrak mengkudu kelompok X2 dapat menurunkan kadar albumin urin secara bermakna dibandingkan dengan kelompok lain dan kelompok kontrol (+).
2. Ekstrak mengkudu dapat menurunkan skor ekspresi VEGF jaringan ginjal hewan coba sesuai dosis kelompok X1, X2, X3 dan yang paling rendah adalah kelompok X4, dibandingkan dengan kelompok kontrol (+).
3. Penurunan ekspresi VEGF jaringan ginjal tidak berpengaruh terhadap kadar albumin dalam urin.

Saran

Penelitan ini perlu dilakukan lebih lanjut untuk melengkapi konsep dalam pemikiran penelitian ini antara lain:

Pengaruh *Morinda citrifolia L* terhadap Nitrit oksida, TGF –β, dan ekspansi matriks mesangial laminin, kolagen, fibronectin pada ginjal diabetes nefropati untuk melihat gambaran fungsi ginjal yang lain.

Daftar Pustaka

1. Wang B, Suzuki H, Kato M. Roles of mono-ubiquinated Smad4 in the formation of Smad transcriptional complexes. Biochemical and biophysical research communications 2008;376: 288-92.
2. Permana H. pathogenesis nefropati diabetik . Dalam Naskah Lengkap Simposium Endokrinologi Klinik VIII 2010. Editor : Hartini et al. Pusat informasi Ilmiah Bag. Ilmu Peny. Dalam FK UNPAD/RS Hasan Sadikin Bandung 2010;26-47.
3. Remuzzi G, Perico N, Macia M, and Ruggenenti P. The role of rennin-angiotensin-aldosterone system in the progression of chronic kidney disease. Kidney Int. 2005; 68(9): S57-65.
4. Lindenmeyer MT, Mathias K, Boucherot A, Berra S, Yoshinari Y, Anna H, et al. Interstitial Vascular rarefaction and reduced VEGF-A expression in Human Diabetic

Nephropthy. J Am Soc Nephrol 2007;18:1765-76.
5. Bo F-R, Knut B-J, Torsten D, Gorm J, and Jan SJ. Microalbuminuria: An important diagnostic tool. Am.J. Diab. Complications. 1994;8(3):137-45.
6. Graves DR, Liu R,Alikhani, Al-Mashat H, and Trackman PC. Diabetes-enchanced inflammation and apoptosis- Impact on periodontal pathology. J Dent Res 2006;85(1):15-21.
7. Dronavalli S, Duka I, and Bakris GL. The pathogenesis of diabetic nephropathy. Nature clinical practice endocrinology & metabolisme, 2008;4(8): 444-52.
8. Wagener FADT, Dekker D, Berden JH, Xcharstuhl A, and van der Vlag J. The role of reactive oxygen species in apoptosis of the diabetic kidney. Apoptosis 2009;14:1451-8.
9. Kang YS, Park YG, Kun BK, Han SY, Jee YH, Han KY, Lee MH, Song HK, Cha DR, Kang SW, and Han DS. Angiotensin II stimulator the synthesis of vascular endothelial growth factor through the p38 mitogen activated protein kinase pathway in cultured mouse podocytes. J. Endocrinol 2006;36:377-88.
10. Manabe E, Handa O, Naito Y, Mizushima K, Akagiri S, Adachi S,et al. Astaxanthin protects mesangial cells from hyperglycemia-induced oxidative signaling. J. Cell. Bioch, 2007;103: 1925-37.
11. Wiwanitkit V. Glucosuria and albuminuria in diabetic nephropathy: a consideration at nanolevel. J. Diab. Complic. 2007 ;21: 164-5.
12. Verzola D, Bertolotto MB, Villaggio B, Ottonello L, Dallegri F, Salvatore F,et al. Oxidative stress mediate apoptotic changes induces by Hyperglycemia in human kidney cells. J Am Soc Nephrol 2004;15:S85-7.
13. Doublier S, Salvidio G, Lupia E: Nephrin expression is reduced in human diabetic nephropathy. Diabetes 2003 51 :1023–1030.
14. Foster RR, Hole R, Anderson K, : Functional evidence that vascular endothelial growth factor may act as an autocrine factor in human podocytes. Am J Physiol 2003 284 :F1263–F1273.
15. Kriz W, Grets N, Lemley DK: Progression of glomerular disease: Is the podocyte the culprit ? Kidney Int 1998 54 :687–697.
16. Kriz W: Podocyte is the major culprit accounting for the progression of chronic renal disease. Microsc Res Tech 2002 57 :189–195.