

Pengaruh Dekokta Eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) dan Nekrosis Sel Tubulus Proksimal Ginjal Tikus Wistar Jantan dengan Induksi Oral Kadmium Klorida (CdCl_2) Subkronis Dosis Rendah

Wika Yuli Deakandi*, Rio Risandiansyah**, Arif Yahya**

*Mahasiswa Kedokteran Universitas Islam Malang

** Staff Pengajar Universitas Islam Malang

Email: Wika.deakandi@yahoo.com

ABSTRAK

Pendahuluan: Kadmium merupakan logam berat polutan yang memiliki toksisitas tinggi. Paparan kadmium dosis rendah dalam jangka panjang dapat menimbulkan kerusakan jaringan ginjal yang diduga akibat dari peningkatan ROS. Eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) diketahui memiliki kandungan antioksidan yang dapat menghambat radikal bebas. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian eceng gondok dalam pencegahan kerusakan organ ginjal yang ditandai dengan penurunan kadar Malondialdehid (MDA) dan jumlah nekrosis sel tubulus proksimal ginjal pada tikus wistar jantan yang diinduksi kadmium klorida (CdCl_2) subkronis dosis rendah. **Metode:** Penelitian ini menggunakan metode ekperimental laboratorium secara *in vivo* menggunakan 30 tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan yang dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan (6 tikus/kelompok). Kelompok kontrol negatif diberi makan dan minuman standar, kelompok kontrol positif diberi CdCl_2 (5 mg/KgBB) secara oral selama 28 hari. Kelompok perlakuan CdCl_2 (5 mg/KgBB) ditambah pemberian eceng gondok dengan dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB selama 28 hari. Pada hari ke 29 tikus dikorbankan dan jaringan ginjal diambil untuk pemeriksaan kadar MDA dan histopatologi. **Hasil:** Pada tikus yang diinduksi CdCl_2 (5 mg/KgBB) secara oral selama 28 hari memicu kerusakan pada jaringan ginjal yang dibuktikan dengan peningkatan persentasi jumlah nekrosis sel tubulus proksimal ginjal ginjal ($73,189 \pm 10,556$ %) dan kadar MDA jaringan ginjal ($1,131 \pm 0,135$ ng/200mg) secara signifikan dibandingkan kontrol negatif (MDA: $0,179 \pm 0,021$, nekrosis ginjal: $35,777 \pm 2,593$ %). Pemberian dekokta eceng gondok pada dosis 200 mg/KgBB, 400 mg/KgBB dan 800 mg/KgBB secara signifikan dapat menurunkan kadar MDA (masing-masing $0,456 \pm 0,067$ ng/200mg, $0,394 \pm 0,054$ ng/200mg, $0,528 \pm 0,141$ ng/200mg) dan persentase nekrosis sel tubulus proksimal ginjal (masing-masing $53,729 \pm 4,875$ %, $49,755 \pm 6,892$ %, $50,552 \pm 4,566$ %) dibandingkan dengan kontrol positif (MDA: $1,131 \pm 0,135$ ng/200mg, nekrosis ginjal: $73,189 \pm 10,556$ %). **Kesimpulan:** Pemberian dekokta eceng gondok pada dosis 200 mg/KgBB, 400 mg/KgBB dan 800 mg/KgBB dapat mencegah kerusakan organ ginjal akibat paparan kadmium klorida (CdCl_2) subkronis dosis rendah.

Kata Kunci: Eceng gondok, *E. crassipes*, kadmium klorida, subkronis, MDA, nekrosis ginjal

The Effects of Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) Decocta on Kidney Malondialdehyde (MDA) Levels and Proximal Tubular Cell Necrosis in Male Wistar Rats Induced With Subchronic Low Dose Cadmium Chloride (CdCl₂) Orally

Wika Yuli Deakandi*, Rio Risandiansyah**, Arif Yahya**

*Student of the Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

** Lectures of the Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

Email: Wika.deakandi@yahoo.com

ABSTRACT

Introduction: Cadmium is a heavy metal pollutant which has high toxicity. Long term exposure to cadmium at low dose is able to induce kidney damage, possibly due to an increase in ROS. Water hyacinth (*E. crassipes*) is known to contain antioxidants that can prevent free radical damage. The purpose of the research is to investigate the effect of water hyacinth in preventing kidney damage, characterized by a decrease in MDA levels and renal proximal tubular cell necrosis of male wistar rats induced using subchronic CdCl₂ at low dosage, administered orally.

Methods: This is an *in vivo* laboratory experiments using 30 male wister rats (*Rattus norvegicus*), which were divided into 5 treatment groups (6 rats/groups). The negative control group was fed by standard food and drink while the positive control are treatment groups were given CdCl₂ (5 mg/KgBB) orally for 28 days. The treatment groups were also given water hyacinth decocta with a dosage of 200 mg/KgBB, 400 mg/kgBB and 800 mg/kgBB for 28 days. On the 29th day of treatment, the rats have to be sacrificed and its kidney tissue were examined for histopathology and MDA.

Results : Oral administration of CdCl₂ (5 mg/kg) for 28 days significantly induced kidney damage which was evident from the increased levels of MDA (1,131 ± 0,135 ng/200mg) and the proportion of necrosis of the kidney proximal tubule cells (73,189 ± 10,556 %), which was higher than the negative control group (MDA:0,179±0,021, kidney necrosis:35,777±2,593%). The addition of water hyacinth decoction at the doses of 200 mg/kg, 400 mg/kg and 800 mg/kg significantly decrease the MDA levels of kidney tissue (0,456±0,067 ng/200mg, 0,394±0,054 ng/200mg, 0,528±0,141 ng/200mg, respectively) and the percentage of proximal renal necrosis (53,729±4,875 %, 49,755±6,892%, 50,552±4,566%, respectively) compared to positive control group (MDA:1,131±0,135ng/200mg, kidney necrosis:73,189±10,556%).

Conclusions: Decocta of water hyacinth at the doses of 200mg/KgBB, 400 mg/KgBB and 800 mg/KgBB were able to prevent renal organ damage due to subchronic exposure CdCl₂.

Keywords: Water Hyacinth, *E. Crassipes*, Cadmium Chloride, Subchronic, MDA, kidney necrosis

PENDAHULUAN

Kadmium merupakan logam berat yang memiliki toksisitas tinggi. Di dalam ginjal, logam ini memiliki waktu paruh yang panjang yaitu 10-30 tahun. Manusia dapat terpapar kadmium melalui asap rokok, asap kendaraan bermotor, makanan laut maupun polusi lingkungan¹. Seringkali, paparan kadmium ini terjadi dalam jangka panjang dan dalam dosis rendah yang kemudian akan berakumulasi di dalam tubuh dan menimbulkan gangguan kesehatan dimana ginjal merupakan target utama paparan kadmium jangka panjang^{2,3}.

Kadmium masuk ke tubuh melalui makanan, sebanyak 5-6% akan diserap di usus dengan bantuan *Divalent Metal Transporter 1* (DMT-1) dan *Metal Transporter Protein 1* (MTP-1) menuju *enterocyte*. Setelah itu kadmium akan memasuki sirkulasi sistemik dan menuju berbagai target organ^{4,5}. Target organ pertama adalah hepar dimana kadmium yang berikatan dengan albumin akan melepaskan ikatannya lalu memasuki sel hepatosit untuk diakumulasi membentuk ikatan Cd-MT dan pelan-pelan kembali ke sirkulasi menuju organ ginjal^{6,7}. Selain itu, kadmium bebas maupun kadmium yang berikatan dengan GSH di sirkulasi juga akan memasuki ginjal. Di ginjal, kadmium menyebabkan peningkatan radikal bebas melalui mekanisme *molecular ionic mimicry* yaitu dengan menggantikan ikatan Fe dan Cu dengan MT maupun ferritin sehingga menyebabkan terjadinya reaksi fenton yang menghasilkan radikal hidroksil². Kadmium juga menggantikan ikatan logam CuZnSOD sehingga kerja enzim SOD menurun⁸. Peningkatan ROS ini menyebabkan stress oksidatif yang memicu peningkatan kadar *Malondialdehyde* (MDA) sebagai produk akhir dari peroksidasi lemak dan perubahan seluler yang mengarah pada terjadinya nekrosis sel.

Eceng gondok (*E. crassipes*) merupakan tanaman air yang sering disebut sebagai tanaman pengganggu karena pertumbuhannya yang cepat. Eceng gondok biasanya digunakan sebagai fitoremediasi karena kemampuannya mengabsorpsi logam berat seperti Cd⁹. Secara *in vitro* diketahui bahwa eceng gondok memiliki kandungan flavonoid dan fenolik yang memiliki efek antioksidan¹⁰. Tanaman ini juga mengandung *metallothionein* yaitu suatu protein antioksidan yang mengandung gugus thiol dan berperan sebagai *scavenger* ROS maupun pengikat logam berat di lingkungan perairan yang terkontaminasi^{2,11}.

Pada penelitian sebelumnya, eceng gondok terbukti mampu menurunkan kadar arsenik pada tubuh tikus dengan kandungan antioksidan yang dimilikinya¹². Namun, efek eceng gondok sebagai antioksidan untuk mencegah kerusakan organ ginjal akibat paparan kadmium klorida (CdCl₂)

selama ini belum pernah dibuktikan. Oleh karena itu, penelitian yang membuktikan efek antioksidan eceng gondok terhadap kerusakan organ ginjal perlu dilakukan.

METODE PENELITIAN

Desain, Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode penelitian eksperimental laboratorium secara *in vivo* dengan desain penelitian *control group post test only design*. Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Balai Materia Medica Batu, Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang pada bulan Maret-Mei 2017.

Subjek Penelitian

Hewan coba pada penelitian ini terdiri dari 30 ekor tikus wistar jantan berusia 2-3 bulan dengan berat 150-250 gr yang terbagi dalam 5 kelompok (setiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus) yaitu kelompok A (kelompok tanpa perlakuan), kelompok B (induksi CdCl₂), Kelompok C (CdCl₂ + Eceng gondok 200 mg/kgBB), kelompok D (CdCl₂ + Eceng gondok 400 mg/kgBB) dan kelompok E (CdCl₂ + Eceng gondok 800 mg/kgBB). Dalam setiap kandang masing-masing terdapat dua ekor tikus. Sebelum diberi perlakuan, hewan coba diadaptasi selama 7 hari. Penelitian ini telah dinyatakan laik etik Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya dengan nomor surat 654-KEP-UB.

Pembuatan dan Induksi CdCl₂

Serbuk CdCl₂ ditimbang menggunakan timbangan digital dengan dosis 5 mg/kgBB tikus, lalu dilarutkan dalam akuades dengan perbandingan 1:1 yang kemudian akan diberikan selama 4 minggu perlakuan secara *ad libitum*.

Pembuatan dan Pemberian Dekokta Eceng Gondok

Eceng gondok segar diambil dari waduk di daerah Ngantang, Malang, Jawa Timur dan telah disertifikasi oleh UPT Materia Medica Batu dengan nomor surat 074/015/102.7/2017. Eceng gondok kemudian dibersihkan dengan air dan ditiriskan dalam keadaan akar, batang dan daun terpisah. Tanaman lalu dikeringkan di rumah kaca pada suhu ± 45°C selama 6 hari. Setelah kering, simplisia kemudian dihaluskan secara terpisah menggunakan saringan mesh 90.

Pembuatan dekokta diawali dengan memanaskan air pada panci bagian bawah hingga suhu 90°C menggunakan kompor listrik. Setelah mencapai suhu 90°C, pada panci bagian atas dimasukkan simplisia eceng gondok yang telah ditimbang dengan perbandingan akar, batang dan daun sebesar 1:1:1. Setelah itu simplisia dilarutkan dengan akuades dengan perbandingan 1:20, kemudian panci ditutup. Proses dekoktasi berlangsung selama 30 menit dan diaduk setiap 10 menit. Setelah 30 menit panci atas diangkat dan didinginkan dengan diberikan air es dibagian luar panci. Hasil dekok yang sudah dingin kemudian disaring menggunakan *vacum* dan corong *buchner* yang telah dilapisi kertas saring.

Hasil dekokta yang telah disaring dituangkan pada beberapa gelas *beaker* yang sebelumnya telah ditimbang untuk dimasukkan ke dalam oven selama ±24 jam pada suhu 60 °C. Hasil dari oven ini disebut dengan rendemen yang nantinya akan dibuat konsentrasi dalam 1 ml akuades dengan dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB yang kemudian disondekan pada tikus selama 4 minggu perlakuan.

Pengambilan Ginjal Hewan Coba

Pembedahan hewan coba dilakukan setiap 2 tikus per hari. Tikus dibius dengan *chloroform* sebelum dilakukan pembedahan. Tikus dibedah mengikuti linea media abdomen menuju thoraks dengan gunting bengkok hingga seluruh bagian terbuka. Setelah itu, organ ginjal diambil dan dibersihkan dengan PBS.

Pemeriksaan Kadar MDA

Pemeriksaan kadar MDA dilakukan di laboratorium Farmakologi Universitas Brawijaya Malang menggunakan metode *Thiobarbituric Acid* (TBA). Jaringan ginjal 200 mg yang telah digerus dicampur dengan 2 ml *buffer* Tris HCl lalu dimasukkan pada tabung reaksi. Setelah itu, TCA 100% 200 µl, HCl 1N 200 µl, 100 µl Na-Thio 1% secara berturut-turut ditambahkan. Larutan dipanaskan pada suhu 100°C selama 20 menit kemudian disentrifugasi pada 3.500 rpm selama 10 menit. supernatan diambil dan ditambahkan dengan akuades sampai 3 ml. Kadar MDA (absorbansi) diukur dengan spektrofotometer pada λ=532 nm.

Pemeriksaan Histopatologi

Pembuatan preparat histologi dilakukan di laboratorium Patologi Anatomi Universitas Brawijaya Malang. Sediaan mikroskopis ginjal

dibuat dengan metode parafin. Larutan fiksasi yang digunakan formalin 10% dan pewarnaannya menggunakan Haematoxylin-Eosin. Penghitungan sel dilakukan di laboratorium Histologi Universitas Islam Malang menggunakan mikroskop trinokuler.

Pengamatan awal pada perbesaran 100X untuk melihat gambaran keseluruhan dari struktur histologi ginjal. Penghitungan jumlah sel yang mengalami nekrosis (piknosis, karioreksi dan kariolisis) dilakukan pada 5 lapang pandang pada perbesaran 400X. Data yang diperoleh dipresentasikan dengan cara:

$$\frac{\sum \text{sel nekrosis tubulus proksimal}}{\sum \text{sel tubulus proksimal yang terlihat}} \times 100\%$$

Penghitungan pada tiap lapang pandang diulang 3 kali dimana hasil akhir merupakan nilai rata-rata¹³.

Analisa Data

Data diolah menggunakan *software* SPSS versi 20 dengan komputerisasi. Data yang diperoleh diuji normalitas dengan metode *Kolmogorov-Smirnov* dan homogenitas dengan metode *Levene*. Data dinyatakan normal dan homogen apabila P>0,05. Selanjutnya data dianalisa secara statistik parametrik menggunakan *One way Anova (Analysis of Varians)* dan dilanjutkan dengan *Least Significant Difference (LSD)*. Hasil dinyatakan bermakna apabila p<0,05.

HASIL PENELITIAN

Karakteristik Populasi

Penelitian ini menggunakan hewan coba *Rattus norvegicus* strain wistar yang memiliki karakteristik seperti pada tabel 1.

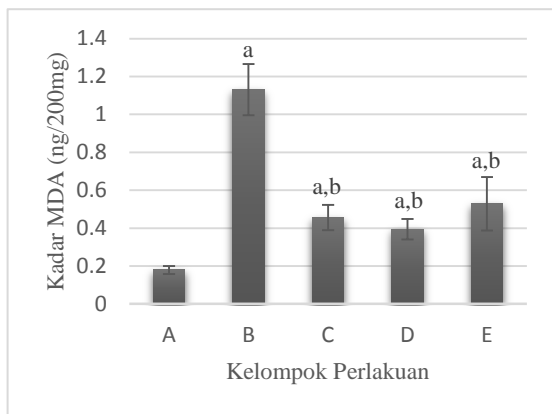
Tabel 1. Karakteristik populasi pada penelitian.

Komponen	Kelompok				
	A	B	C	D	E
Jumlah tikus per kelompok	6	6	5	5	6
BB awal (g)	175 ± 18,974	196 ± 29,298	195,6 ± 18,064	198,2 ± 23,328	196,5 ± 16,897
BB akhir (g)	231,167 ± 23,651	246 ± 37,283	223,8 ± 27,317	238,4 ± 33,946	237,833 ± 21,757
Usia awal (minggu)	9 – 12	9-12	10-13	10-13	10-13
Lama adaptasi (hari)	7-9	10-11	14-20	15-21	16-22
Usia akhir (minggu)	13-16	13-16	14-17	14-17	14-17
Rerata asupan CdCl ₂ (ml/20ml)	-	14,473	12,926	14,841	16,0744

Keterangan : (A) kelompok tanpa perlakuan, (B) induksi CdCl₂, (C) CdCl₂ + Eceng Gondok 200 mg/kgBB, (D) CdCl₂ + Eceng Gondok 400 mg/kgBB, (E) CdCl₂ + Eceng Gondok 800 mg/kgBB.

Efek Eceng gondok terhadap Kadar MDA Jaringan Ginjal pada Tikus Wistar yang Diinduksi CdCl₂

Hasil pemeriksaan kadar MDA jaringan ginjal tikus wistar setelah pemberian perlakuan CdCl₂ dan dekokta eceng gondok dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Hasil pemeriksaan kadar MDA jaringan tikus wistar setelah pemberian perlakuan CdCl₂ dan eceng gondok.

Keterangan: Rerata ± SD, A (0,179± 0,021), B (1,131 ±0,135), C (0,456 ± 0,067), D (0,394 ± 0,054), E (0,528 ± 0,141), (a) Berbeda signifikan jika dibandingkan dengan A (p<0,05) dan (b) Berbeda signifikan jika dibandingkan dengan B (p<0,05).

Pemberian eceng gondok selama 28 hari pada tikus wistar jantan yang diinduksi CdCl₂ menunjukkan bahwa kadar MDA jaringan ginjal

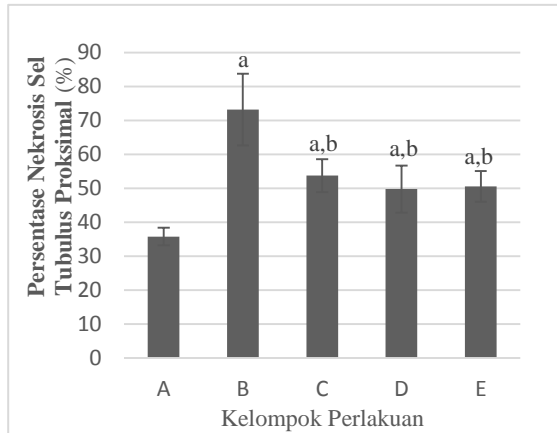
tikus pada kelompok dengan induksi CdCl₂ tanpa pemberian eceng gondok (B) meningkat secara signifikan (p<0,05) dibandingkan dengan kelompok kontrol tanpa perlakuan (A).

Kadar rata-rata MDA jaringan ginjal pada kelompok perlakuan yang diberikan eceng gondok dosis 200 mg/KgBB (C), 400 mg/KgBB (D) dan 800 mg/KgBB (E) lebih rendah secara signifikan (p<0,05) dibandingkan dengan kelompok yang induksi CdCl₂ tanpa pemberian eceng gondok (B). Perbandingan kelompok perlakuan yang diberikan eceng gondok dosis 200 mg/KgBB (C), 400 mg/KgBB (D) dan 800 mg/KgBB (E) lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan kelompok tanpa perlakuan (A). Perbandingan variasi dosis pemberian eceng gondok antar perlakuan dosis 200 mg/KgBB (C), 400 mg/KgBB (D) dan 800 mg/KgBB (E) menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan (p>0,05).

Efek Eceng gondok terhadap Jumlah Nekrosis Sel Tubulus Proksimal Ginjal pada Tikus Wistar yang Diinduksi CdCl₂.

Hasil perhitungan persentase jumlah nekrosis sel tubulus proksimal ginjal dapat dilihat pada gambar 2. Struktur histologi ginjal di tiap kelompok perlakuan dengan perbesaran 100X (gambar 3) secara keseluruhan memperlihatkan pada kelompok B terdapat perubahan struktur sel tubulus proksimal (bentuk tubulus menghilang) sedangkan pada kelompok A, C, D dan E tidak memperlihatkan perbedaan gambaran nekrosis yang nyata dan tidak terjadi perubahan struktur tubulus proksimal. Gambaran nekrosis sel tubulus proksimal ginjal dengan perbesaran 400X pada

setiap kelompok perlakuan terlihat pada gambar 4. Persentase jumlah nekrosis sel tubulus proksimal ginjal adalah jumlah sel tubulus proksimal yang mengalami nekrosis (yang ditandai dengan piknosis, karioreksi dan kariolisis) dibagi dengan jumlah keseluruhan sel tubulus proksimal yang terlihat pada satu lapang pandang dikali dengan 100%.

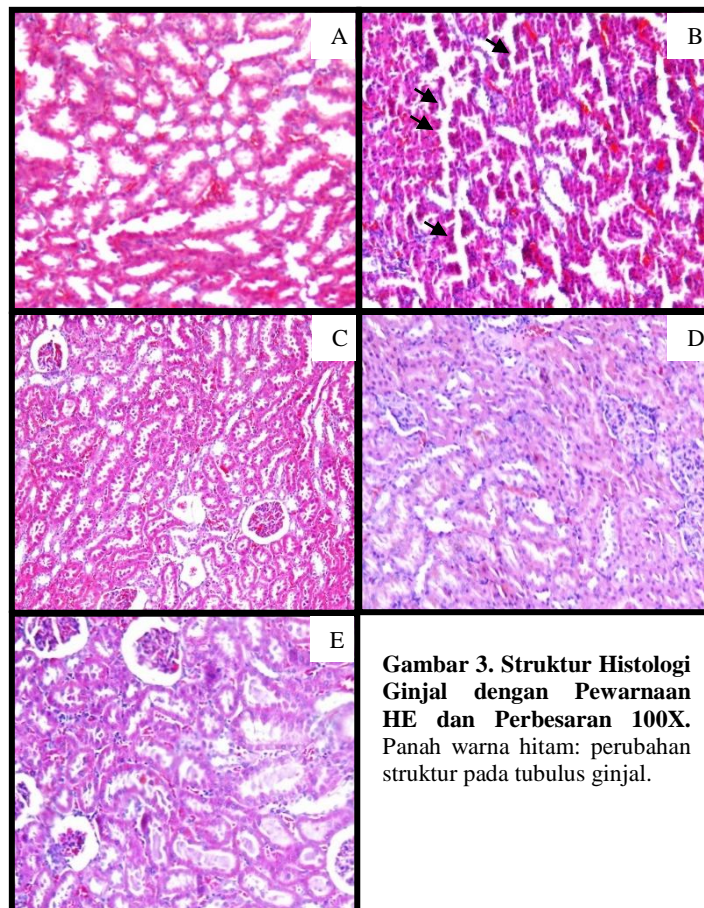


Gambar 2. Hasil penghitungan persentase nekrosis sel tubulus proksimal ginjal tikus wistar yang diinduksi kadmium klorida (CdCl₂).

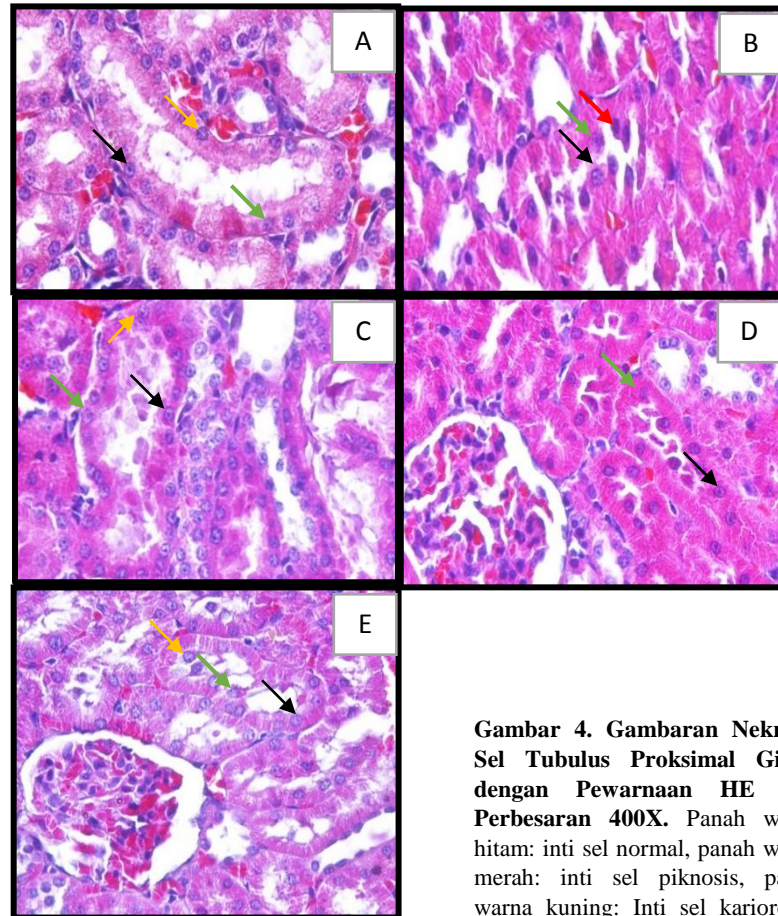
Keterangan: Rerata ± SD, A (35,777 ± 2,593), B (73,189 ± 10,556), C (53,729 ± 4,875), D (49,755 ± 6,892), E (50,552 ± 4,566), (a) Berbeda signifikan jika dibandingkan dengan A (p<0,05) dan (b) Berbeda signifikan jika dibandingkan dengan B (p<0,05).

Pemberian eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) pada hewan coba menunjukkan bahwa persentase jumlah nekrosis sel tubulus proksimal pada kelompok dengan induksi CdCl₂ tanpa pemberian eceng gondok (B) secara signifikan (p<0,05) lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol tanpa perlakuan (A).

Persentasi rata-rata jumlah sel nekrosis pada kelompok perlakuan yang diberikan eceng gondok dosis 200 mg/KgBB (C), 400 mg/KgBB (D) dan 800 mg/KgBB (E) lebih rendah secara signifikan (p<0,05) dibandingkan dengan kelompok dengan induksi CdCl₂ tanpa pemberian eceng gondok (B). Pada kelompok perlakuan yang diberikan eceng gondok dosis 200 mg/KgBB (C), 400 mg/KgBB (D) dan 800 mg/KgBB (E) memiliki rata-rata persentase jumlah sel nekrosis yang lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan kelompok tanpa perlakuan (A). Perbandingan variasi dosis pemberian eceng gondok antar kelompok perlakuan dosis 200 mg/KgBB (C), 400 mg/KgBB (D) dan 800 mg/KgBB (E) menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan (p>0,05).



Gambar 3. Struktur Histologi Ginjal dengan Pewarnaan HE dan Perbesaran 100X. Panah warna hitam: perubahan struktur pada tubulus ginjal.



Gambar 4. Gambaran Nekrosis Sel Tubulus Proximal Ginjal dengan Pewarnaan HE dan Perbesaran 400X. Panah warna hitam: inti sel normal, panah warna merah: inti sel piknosis, panah warna kuning: Inti sel karioreksi, panah warna hijau: inti sel kariolisis.

PEMBAHASAN

Karakteristik Populasi

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus strain wistar (*Rattus norvegicus*) dengan jenis kelamin jantan berusia antara 2-3 bulan dan berat badan antara 150-200 gram dalam kondisi sehat. Tikus sehat ditandai dengan mata bening, bulu halus dan gerakan aktif. Hewan coba tikus strain wistar digunakan karena hewan ini mudah didapatkan, tahan terhadap kondisi laboratorium dan berbagai perlakuan serta mempunyai sensitifitas yang tinggi terhadap obat. Pemilihan tikus berjenis kelamin jantan dikarenakan tikus jantan tidak terpengaruh oleh siklus hormonal yang dapat mempengaruhi hasil penelitian, sedangkan usia antara 2-3 bulan dipilih karena tikus sudah cukup dewasa sehingga ukuran organ tidak terlalu kecil dan menjadi mudah diambil.

Distribusi usia tikus yang digunakan pada tiap kelompok perlakuan sama meskipun berbeda 4 minggu dengan kelompok kontrol sehingga usia bukan merupakan faktor yang mempengaruhi hasil penelitian.

Pada penelitian ini, setiap kandang terdapat dua ekor tikus. Namun karena tikus dalam setiap kandang merupakan tikus dengan kelompok perlakuan yang sama dan asupan air minum yang diminum tikus antar kelompok B hingga E rata-rata sama yaitu 14,6/20 ml sehingga tidak mempengaruhi hasil penelitian. Pada kelompok C dan D terdapat data yang dieksklusi karena terjadi kematian dan tikus yang sakit pada saat penelitian sedang berjalan.

Efek CdCl₂ terhadap Kadar MDA Jaringan Ginjal pada Tikus Wistar

Hasil penelitian menunjukkan peningkatan kadar MDA jaringan ginjal secara signifikan pada kelompok yang diinduksi CdCl₂ tanpa pemberian eceng gondok (kelompok B) dibandingkan dengan kelompok tanpa perlakuan (kelompok A) hal ini menunjukkan bahwa pemberian kadmium klorida pada dosis 5mg/KgBB selama 28 hari mampu meningkatkan kadar MDA jaringan ginjal pada tikus wistar. Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan induksi CdCl₂ dosis 5mg/KgBB yang diberikan selama 28 hari dapat menyebabkan terjadinya kerusakan ginjal tikus, yang dibuktikan dengan penurunan aktifitas enzim antioksidan seperti SOD, CAT, dan GPx

serta peningkatan secara signifikan marker peroksidasi lipid yaitu MDA dan perubahan gambaran histopatologi seperti nekrosis tubulus, degenerasi dan penebalan membran basalis¹⁴.

Kadmium diketahui dapat menginduksi peningkatan radikal bebas di dalam tubuh secara tidak langsung melalui pemindahan *redox-active metals*, penurunan *redox scavengers*, menghambat kerja enzim antioksidan, dan mengganggu kerja mitokondria dengan menghambat rantai transpor elektron². Kadmium bebas memiliki mekanisme *molecular ionic mimicry* yang dapat menggantikan ikatan logam Cu dan Zn dengan SOD karena afinitasnya yang tinggi, hal ini menyebabkan penurunan kerja enzim SOD sehingga meningkatkan radikal superoksida (O_2^-).

Kadmium semakin meningkatkan ROS dengan mengganggu rantai respirasi di mitokondria dengan mempercepat masuknya H^+ melalui Pi/H^+ *symporter*. Hal ini menyebabkan terjadinya gangguan potensial listrik dan menghambat transport elektron melalui ikatan dengan semiubiquinon dan sitokrom B₅₆₆ pada sitokrom b kompleks III sehingga terjadi akumulasi semiubiquinon pada sisi Q₀. Selanjutnya, terjadi ketidakstabilan dari semiubiquinon sehingga cenderung mendonorkan elektron ke molekul oksigen dan membentuk O_2^- ^{15,5}.

Metallothionein yang merupakan tranporter dari logam Fe maupun Cu yang berperan sebagai pengikat ion logam juga akan cenderung berikatan dengan kadmium bebas sehingga akan meningkatkan jumlah Fe^{2+} dan Cu^+ bebas. Selain itu, ferritin yang merupakan protein intraseluler yang berfungsi sebagai penyimpanan zat besi paling utama di dalam tubuh juga cenderung mengikat kadmium dibandingkan Fe, sehingga Fe bebas semakin meningkat. Bertemunya Fe^{2+} dan Cu^+ bebas dengan radikal hidrogen peroksida (H_2O_2) menyebabkan terbentuknya radikal hidroksil melalui reaksi fenton¹⁶.

Peningkatan ROS akibat kadmium ini menyebabkan peningkatan kadar MDA di ginjal. MDA merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid dapat terjadi jika oksidan seperti radikal bebas menyerang lipid yang mengandung ikatan rangkap karbon terutama *polyunsaturated fatty acid* (PUFA). Radikal bebas terutama radikal hidroksil ($OH\cdot$) menginisiasi pembentukan radikal lemak dan dengan menambahkan oksigen akan membentuk *peroxyl radical* yang sangat reaktif dan menyerang asam lemak lain dengan menghilangkan atom hidrogen dari PUFA *diallyl carbon* membentuk *lipid hydroperoxide* (LOOH) dan radikal bebas baru. Peroksidasi lipid ini akan mengalami propagasi dan

dari proses tersebut akan menghasilkan produk akhir berupa MDA^{17,18}.

Efek Eceng gondok terhadap Kadar MDA Jaringan Ginjal pada Tikus Wistar yang $CdCl_2$

Kadar MDA jaringan ginjal pada kelompok perlakuan pemberian dekoka eceng gondok (*E. crassipes*) dosis 200 mg/KgBB, 400 mg/KgBB, dan 800 mg/KgBB secara signifikan lebih rendah dibandingkan dengan kelompok dengan induksi $CdCl_2$ tanpa pemberian eceng gondok (kelompok B). Pada kelompok perlakuan dosis 200 mg/KgBB terjadi penurunan kadar MDA 60%, kelompok perlakuan dosis 400 mg/KgBB terjadi penurunan kadar MDA 65% dan kelompok perlakuan dosis 800mg/KgBB terjadi penurunan kadar MDA 53% dibandingkan kelompok dengan induksi $CdCl_2$. Nilai IC₅₀ terhadap kadar MDA jaringan ginjal adalah 456 mg/KgBB.

Pada penelitian sebelumnya membuktikan bahwa eceng gondok mengandung senyawa antioksidan terutama flavonoid dan asam fenolik. Penurunan kadar MDA dengan pemberian eceng gondok kemungkinan karena kandungan antioksidan tersebut. Flavonoid dan asam fenolik sebagai antioksidan eksogen dapat berperan sebagai pereduksi radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen sehingga menghentikan reaksi berantai dan mengubah radikal bebas menjadi molekul yang lebih stabil¹⁹. Selain itu, asam fenolik dan flavonoid juga dapat berkonjugasi dengan logam transisi seperti Cu^+ atau Fe^{2+} untuk mencegah pembentukan radikal bebas yang disebabkan oleh logam bebas. Cu^+ atau Fe^{2+} ini dapat berinteraksi dengan hidrogen peroksida melalui reaksi fenton membentuk radikal hidroksil dimana radikal hidroksil merupakan radikal bebas paling reaktif yang dapat menyerang membran lipid sel menyebabkan peroksidasi lipid²⁰. Hal ini juga didukung oleh penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa eceng gondok memiliki *Fe²⁺ chelating activity* yang tinggi terutama pada ekstrak air yang dapat menghambat proses terjadinya peroksidasi lipid dengan mengikat logam Fe^{2+} ^{21,22}.

Selain itu, pencegahan kerusakan jaringan ginjal akibat kadmium klorida yang ditandai dengan penurunan kadar MDA diduga juga disebabkan adanya kandungan protein yang memiliki gugus *thiol* pada eceng gondok. Gugus *thiol* ini biasanya berperan dalam detoksifikasi kontaminasi logam berat seperti kadmium di lingkungan perairan²³. Pada kelompok perlakuan dosis 200mg/kgBB, 400mg/kgBB, dan 800 mg/KgBB kadar rata-rata MDA lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol tanpa perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa dengan pemberian eceng gondok dengan dosis

200mg/kgBB, 400mg/kgBB, dan 800 mg/KgBB dapat menurunkan kadar rata-rata MDA jaringan ginjal akibat paparan kadmium klorida secara signifikan namun penurunan ini tidak dapat mendekati kadar MDA normal pada tikus wistar. Hal ini terjadi kemungkinan karena telah ada kerusakan jaringan ginjal terlebih dahulu akibat paparan kadmium klorida secara terus menerus, sedangkan pemberian eceng gondok dilakukan hanya sekali dalam sehari sehingga eceng gondok hanya dapat mencegah kerusakan lebih lanjut tanpa mampu memperbaiki kerusakan sel yang disebabkan oleh kadmium klorida sebelumnya. Selain itu, dapat juga disebabkan karena akumulasi kadmium yang tinggi pada jaringan ginjal sehingga antioksidan endogen maupun antioksidan dari eceng gondok tidak mampu mengatasi stress oksidatif yang ditimbulkan oleh kadmium.

Antara variasi dosis dekokta eceng gondok yang diberikan, kadar MDA jaringan ginjal memiliki perbedaan yang tidak signifikan. Hal ini diduga disebabkan pada dosis 200 mg/KgBB semua bahan aktif yang memiliki kandungan antioksidan pada eceng gondok sudah mampu meredam semua radikal bebas yang ada. Antioksidan ini akan bereaksi dengan senyawa radikal sehingga akan terbentuk senyawa non radikal pada tahap terminasi sehingga dengan peningkatan dosis eceng gondok yang diberikan tidak dapat menyebabkan penurunan kadar MDA secara signifikan²⁴.

Efek Kadmium Klorida terhadap Jumlah Nekrosis Sel Tubulus Proksimal Ginjal pada Tikus Wistar

Hasil penelitian menunjukkan antara kelompok yang diinduksi CdCl₂ (kelompok B) dengan kelompok kontrol tanpa perlakuan apapun (kelompok A) memiliki persentase nekrosis sel tubulus proksimal ginjal yang berbeda signifikan. Hasil ini sesuai dengan hasil kadar MDA jaringan ginjal, hal ini menunjukkan bahwa peningkatan peroksidasi lipid akibat kadmium (yang ditandai dengan peningkatan kadar MDA) menyebabkan terjadinya nekrosis pada sel.

Kadmium menyebabkan nekrosis pada sel tubulus proksimal karena uptake kadmium di sel tubulus proksimal melalui kanal kalsium dan mekanisme endositosis. Kadmium mengganggu fungsi pompa Na/K-ATPase pada membran sel sehingga menyebabkan akumulasi natrium di intrasel dan difusi kalium keluar sel. Hal ini menyebabkan terjadinya retensi air di dalam sel sehingga terjadi pembengkakan pada sel yang berujung pada kematian sel²⁵.

Selain itu, terjadinya peroksidasi lipid akibat peningkatan ROS oleh kadmium menyebabkan kerusakan membran dan mengganggu

permeabilitas membran sehingga menyebabkan gangguan fungsi dari sel²⁶. Pada mitokondria, produk dari peroksidasi lipid dapat mengganggu fosforilasi oksidatif dan membran potensial di mitokondria. Selain itu, peroksidasi lipid juga menyebabkan ketidakstabilan membran plasma dan membran intraseluler yang menyebabkan terjadinya eflux Ca²⁺ ke dalam sitosol. Beberapa mekanisme inilah yang berperan terhadap terjadinya nekrosis pada sel tubulus proksimal ginjal²⁷. Terjadinya nekrosis pada sel disertai dengan perubahan morfologi dimana inti sel akan menyusut, memiliki batas yang tidak teratur dan berwarna gelap, proses ini dinamakan piknosis. Selain itu, inti sel juga dapat hancur dan membentuk fragmen materi kromatin yang menyebar di dalam sel, proses ini disebut karioreksi. Pada keadaan yang lain, inti sel akan mengalami kariolisis dimana inti sel tidak dapat diwarnai dan benar-benar menghilang²⁸.

Efek Eceng gondok terhadap Jumlah Nekrosis Sel Tubulus Proksimal Ginjal pada Tikus Wistar yang Diinduksi CdCl₂

Persentase jumlah nekrosis sel tubulus proksimal ginjal pada kelompok pemberian Eceng gondok dosis 200 mg/KgBB, 400 mg/KgBB dan 800 mg/KgBB lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan kelompok dengan pemberian CdCl₂ (kelompok B). Hal ini juga bersesuaian dengan hasil pemeriksaan kadar MDA jaringan ginjal pada tikus wistar. Nilai IC₅₀ dekokta eceng gondok terhadap jumlah nekrosis sel tubulus proksimal ginjal yaitu 1174 mg/KgBB. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kemungkinan eceng gondok memiliki kemampuan untuk mencegah kerusakan sel tubulus proksimal ginjal akibat paparan CdCl₂.

Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa eceng gondok memiliki kandungan asam fenolik. Asam fenolik diketahui memiliki kemampuan untuk mencegah kerusakan dan melindungi ginjal dari paparan toksik melalui mekanisme scavenger ROS seperti radikal hidroksil dan radikal superoksida²⁹. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, eceng gondok juga memiliki kandungan flavonoid dan *metallothionein* yang dapat berperan sebagai antioksidan eksogen.

Persentase nekrosis sel tubulus proksimal ginjal antar variasi dosis 200 mg/KgBB, 400mg/KgBB dan 800 mg/KgBB memiliki perbedaan yang tidak signifikan. Hal ini diduga disebabkan pada dosis 200 mg/KgBB semua bahan aktif yang memiliki kandungan antioksidan pada eceng gondok sudah mampu meredam semua radikal bebas yang ada. Antioksidan ini akan bereaksi dengan senyawa radikal sehingga akan terbentuk senyawa non radikal pada tahap terminasi sehingga dengan peningkatan dosis eceng gondok yang diberikan

tidak dapat menyebabkan penurunan persentase jumlah nekrosis sel tubulus proksimal secara signifikan²⁴.

Pada kelompok kontrol tanpa perlakuan apapun (kelompok A) didapatkan presentase nekrosis sel tubulus proksimal ginjal sebesar $35,777 \pm 2,593\%$. Presentase ini termasuk tinggi pada kelompok kontrol normal dibandingkan dengan penelitian lain. Pada penelitian tersebut disebutkan bahwa persentase nekrosis sel tubulus proksimal ginjal tikus wistar yang diinduksi isoniazid dimana pada tikus kelompok kontrol normal persentase nekrosis selnya sebesar $2,5 \pm 2,5\%$ ³⁰. Selain itu, tikus kelompok kontrol normal pada penelitian lain yang menggunakan paparan radiasi gamma persentase nekrosis selnya rata-rata hanya sebesar $4,821\%$ ³¹.

Nilai IC_{50} yang berbeda antara MDA dan nekrosis sel tubulus proksimal ginjal menunjukkan eceng gondok hanya dapat mencegah kerusakan sel akibat peroksidasi lipid tapi tidak dapat mencegah kerusakan sel akibat mekanisme yang lain. Nekrosis pada sel dapat terjadi secara fisiologis maupun patologis. Secara fisiologis adanya ROS di dalam tubuh yang dihasilkan dari metabolisme sel melalui rantai respirasi dan *respiratory burst* (sel fagositik mengkonsumsi oksigen dalam jumlah besar selama proses fagositosis terutama melalui NADPH oxidase) dapat berperan menyebabkan nekrosis pada sel. Pada kondisi patologis, nekrosis sel dapat terjadi akibat peningkatan ROS sehingga terjadi ketidakseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas di dalam tubuh yang menyebabkan terjadi stress oksidatif, iskemia yang disebabkan oleh penyumbatan aliran darah ke jaringan yang diikuti oleh reperfusion, kondisi stress, hipoglikemia, inflamasi, perubahan suhu ekstrim dan kekurangan gizi^{26,32}.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian dekokta eceng gondok (*E. crassipes*) pada dosis 200 mg/KgBB, 400 mg/KgBB dan 800 mg/KgBB dapat menurunkan kadar MDA ginjal dan persentase nekrosis sel tubulus proksimal ginjal tikus wistar yang diinduksi $CdCl_2$ subkronis secara signifikan dibandingkan dengan kelompok tanpa perlakuan.
2. Variasi dosis pemberian eceng gondok antar perlakuan dosis 200 mg/KgBB, 400 mg/KgBB dan 800 mg/KgBB menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan dalam menurunkan kadar MDA dan persentase nekrosis sel tubulus proksimal ginjal dan tidak mengikuti *dose response curve*.

SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, peneliti memberikan saran untuk pengembangan dan kemajuan ilmu pengetahuan sebagai berikut :

1. Perlunya penelitian lanjutan dengan penambahan variasi dosis untuk melihat *dose response curve*, menentukan *therapeutic window* dan melihat nilai IC_{50} pada nekrosis sel tubulus proksimal ginjal.
2. Diperlukannya uji toksisitas baik subkronis, maupun kronis untuk melihat keamanan dekokta eceng gondok.
3. Diperlukan adanya uji kandungan kadmium di dalam dekokta eceng gondok
4. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk melihat efek induksi kadmium klorida pada glomerulus ginjal
5. Perlu dilakukan pengamatan lebih lanjut untuk mengetahui jumlah kebutuhan air minum tiap tikus dalam sehari agar dosis induksi kadmium klorida yang diberikan tepat.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada dosen pembimbing, penguji dan Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Faroon, O., Ashizawa, A., Wright, S. *Toxicological Profile for Cadmium. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (US)*. Atlanta (GA). 2012., 280-290.
2. Nair, A. R., DeGheselle, O., Smeets, K., Van Kerkhove, E, and Cuypers, A. *Cadmium-induced pathologies: Where is the oxidative balance lost (or not)?*, International Journal of Molecular Sciences. 2013., 14(3):6116–6143.
3. Susiyeti, F. *Analisis Risiko Kesehatan Pencemaran Logam Kadmium pada Ikan di Kampung Nelayan Muara Angke Kelurahan Pluit Kecamatan Penjaringan Jakarta Utara tahun 2010*. 2010., 1-73.
4. ATSDR. *Cadmium Toxicity. Case Studies in Environmental Medicine (CSEM) Cadmium Toxicity*. 2011., 1–63.
5. Arroyo, V.S., Flores, K.M., Ortiz, L.B., Gómez-Quiroz, L.E., Gutiérrez-Ruiz, M.C. *Liver and Cadmium Toxicity*, J Drug Metabol Toxicol. 2012., 5(001):1-7.
6. Singh, P., Gupta, S., Mogra, P., Sankhala. *Biological and Physical Sciences Molecular Mechanism of Cadmium Toxicity through Oral Route*. V. Journal of Chemical. 2015., 5(2):1538–1545.
7. Mbarek, S., Saidi, T., González-Costas, J. M., González-Romero, E, and Ben Chaouacha

- Chekir, R. *Effects of dietary cadmium exposure on osmoregulation and urine concentration mechanisms of the semi-desert rodent Meriones shawi*, Journal of Environmental Monitoring. 2012.,14(8):2212.
8. Chater, S., Douki, T., Garrel, C., Favier, A., Sakly, M, and Abdelmelek, H. *Cadmium-induced oxidative stress and DNA damage in kidney of pregnant female rats*, Comptes Rendus – Biologies. 2008.,331(6):426–432.
 9. Rezania, S., Ponraj, M., Talaiekhosani, A., Mohamad, S. E., Md Din, M. F., Taib, S. M., Sairan, F. M. *Perspectives of phytoremediation using water hyacinth for removal of heavy metals, organic and inorganic pollutants in wastewater*, Journal of Environmental Management. 2015.,163(August):125–133.
 10. Kumar, S., Kumar, R., Dwivedi, A., and Pandey, A. K. *In vitro antioxidant, antibacterial, and cytotoxic activity and in vivo effect of Syngonium podophyllum and Eichhornia crassipes leaf extracts on isoniazid induced oxidative stress and hepatic markers*, BioMed Research International. 2014., (2014):7-10.
 11. Romanova, T.E and Shuvaeva, O.V. *Identification of the binding forms of cadmium during accumulation by water hyacinth*. Chemical Speciation & Bioavailability. 2015.,27(3):139–145.
 12. Quayum, S. L. *Effect of water hyacinth root extract on arsenic level in different organs of arsenic-treated rat*, Bangladesh pharmacological Society. 2007.2(2017):73–80.
 13. Fahrimal, Y., Rahmawati., Aliza, D. *Gambaran Histopatologis Ginjal Tikus Putih (Rattus norvegicus) Jantan Yang Diinfeksi Trypanosoma Evansi Dan Diberi Ekstrak Daun Sernai (Wedelia biflora) Histopathology of Male Rat(Rattus norvegicus)Kidney Infected with Trypanosoma evansi and Treated with Sernai Leaves Extract (Wedelia biflora)*, Jurnal Medika Veterinaria. 2014.,166-170.
 14. Thangapayandiyan, S., Sumedha, N.C., Miltonprabu. *Mentha piperita protects against Cadmium induced oxidative renal damage by restoring antioxidant enzyme activities and suppressing inflammation in rats*, International Journal of Pharmacology and Toxicology. 2013., 1 (2):17-28.
 15. Gobe, G and Crane, D. *Mitochondria , reactive oxygen species and cadmium toxicity in the kidney*, Toxicology Letters. 2010., 198(1):49–55.
 16. Thévenod, F and Wolff, N. A. *Iron transport in the kidney: implications for physiology and cadmium nephrotoxicity*. Metallomics. 2016., 8:1-16.
 17. Mohammed, M.T., Kadhim, S.M., Jassimand, A.M.N., Abbas, S.I. *Free radicals and human health*, International Journal of Innovation Sciences and Research. 2015.,4(6):218-223.
 18. Ayala, A., Muñoz, M., Argielles, S., Lipid Peroxidation : *Production , Metabolism , and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal*. Hindawi Publishing Corporation. 2014.,(2014):1-31.
 19. Inggrid, HM and Santoso H. *Ekstraksi Antioksidan dan Senyawa Aktif dari Buah Kiwi (Actinidia deliciosa)*. Universitas Katolik Parahyangan. 2014., 14-15.
 20. Dai, J and Mumper, R.J. *Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties*. Molecules. 2010.,7313–7352.
 21. Surendraraj, a., Farvin, K. H. S, and Anandan, R. *Antioxidant Potential of Water Hyacinth(Eichornia crassipes) : In Vitro Antioxidant Activity and Phenolic Composition*, Journal of Aquatic Food Product Technology. 2013.,22(1):11–26.
 22. Tyagi, T and Agarwal, M. *Antioxidant Properties and Phenolic Compounds in Methanolic Extracts of Eichhornia crassipes*. Research Journal of Phitochemistry. 2017., 11:85-89.
 23. Bodo, R., Azzouz, A., Hausler, R., *Antioxidative activity of water hyacinth components*. Plant Science. 2004., 1(2014):893–899.
 24. Kesuma, K and Yenrina, R. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang. Andalas University Press. 2015.
 25. Kumar, V., Cotran, R.S., Robbins, S.L. *Buku Ajar Patologi Robbins*, 2007., 2(7):3-13.
 26. Sarma, AD., Mallick, AR, and Ghosh, AK. *Free Radicals and Their Role in Different Clinical Conditions : An Overview*, International Journal of Pharma Sciences and Research. 2010.,1(3):185–192.
 27. Vanlangenakker, N., Berghe, TV., Krysko, DV., Festjens, N., Vandenabeele, P. *Molecular Mechanisms and Pathophysiology of Necrotic Cell Death*. 2008., 207–220.
 28. Sylvia, A. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*. 2006.,1(6): 120-123.
 29. Akomolafe SF, Akinyemi AJ, Anadozie SO. *Phenolic Acids (Gallic and Tannic Acids) Modulate Antioxidant Status and Cisplatin Induced Nephrotoxicity in Rats*. Hindawi Publishing Corporation. 2014.,(2014):1-7.
 30. Fakhmiyogi, Muhartono, Fiana DN, *The Effect of Adminstrating Ethanol Ekstrak 40% of Mangosteen Peel (Garcinia mangostana L.) Toward A Liver Histopathology and The Male Strain Sprague dawley of The Kidney of White Rats (Rattus norvegicus) That Are Inducted By Isoniazid*.

Faculty of Medicine Lampung
University.2016.

31. Donuata, P.B., Rifa, M. & Juswono, U.P., *Pengaruh Paparan Radiasi Gamma Dan Pemberian Ekstrak Bagian Putih Buah Semangka (Citrullus vulgaris Schrad) Terhadap Kesehatan Ginjal Pada Hewan Coba Mencit*. 2014., 2(4):387–395.
32. Duprez,L., Vanlangenakker, N., Festjens, N., Herreweghe, FV.,Berghe, TV., Vandenabeele. *Necrosis:Molecular Mechanism and Physiological Roles*.2009., 600-602.