

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIS
EKSTRAK VALERIAN (*Valeriana officinalis*)
TERHADAP GINJAL TIKUS WISTAR**

*SUBCHRONIC TOXICITY TEST OF VALERIAN (*Valeriana officinalis*) EXTRACT
ON WISTAR RAT'S KIDNEY*

**ARTIKEL
KARYA TULIS ILMIAH**

**Disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna mencapai derajat sarjana strata-1 kedokteran umum**

**MA'FUL HIDAYATULLOH
G2A006099**

**PROGRAM PENDIDIKAN SARJANA KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
TAHUN 2010**

UJI TOKSISITAS SUBKRONIS EKSTRAK VALERIAN (*Valeriana officinalis*) TERHADAP GINJAL TIKUS WISTAR

Ma'ful Hidayatulloh¹, Neni Susilaningsih²

Latar belakang: Valerian (*Valeriana officinalis*) merupakan herbal yang dipakai dalam pengobatan berbagai penyakit ringan seperti insomnia. Ekskresi obat terutama terjadi di dalam ginjal, sehingga risiko terjadinya kerusakan organ menjadi sangat besar. Uji toksisitas subkronis bertujuan untuk mengetahui lebih jauh karakteristik pengaruh toksik spesifik dari senyawa kimia pada organ atau jaringan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya efek pemberian valerian secara subkronis terhadap gambaran makroskopis dan mikroskopis ginjal.

Metode: Penelitian eksperimental dengan rancangan *Post Test Only Controlled Group Design* ini menggunakan 20 ekor tikus wistar jantan, dibagi menjadi 4 kelompok secara random, yaitu satu kelompok (K) diberi akuades, dan 3 kelompok perlakuan (P1, P2, P3) dengan dosis 9, 18, dan 36 mg/tikus lewat sonde lambung 1 kali per hari selama 3 bulan. Akhir bulan ke-3 tikus diterminasi untuk diukur volume ginjal dan diamati gambaran histopatologinya. Data makroskopis dianalisis dengan uji *Kruskal-Wallis* sedangkan data mikroskopis dianalisis dengan uji *One-Way Anova* dilanjutkan Uji *Post-Hoc*.

Hasil: Tidak terdapat perbedaan gambaran makroskopis secara bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan ($p = 0,053$), sedangkan terdapat perbedaan bermakna pada pengamatan gambaran mikroskopis ginjal antar kelompok yaitu; K-P1 $p = 0.001$, K-P2,P3, P1-P3 $p = 0.000$, dan P2-P3 $p = 0.006$. Namun, tidak didapatkan adanya perbedaan gambaran mikroskopis yang bermakna antara P1-P2 dengan $p = 0.054$.

Kesimpulan: Pemberian ekstrak Valerian secara subkronis tidak memberikan efek terhadap gambaran makroskopis ginjal tikus wistar, namun memberikan efek bagi gambaran mikroskopis organ tersebut.

Kata Kunci: Valerian, gambaran makroskopis ginjal, gambaran mikroskopis ginjal

¹ Mahasiswa program pendidikan S-1 kedokteran umum FK Undip

² Staf pengajar Bagian Histologi FK Undip, Jl. Dr. Sutomo No. 18 Semarang

***SUBCHRONIC TOXICITY TEST OF VALERIAN (Valeriana officinalis)
EXTRACT ON WISTAR RAT'S KIDNEY***

Background: *Valerian (Valeriana officinalis) is an herb that is used in the treatment of various ailments such as insomnia. Drug excretion mainly occurs in the kidney, so the risk of organ damage becomes very large. Subchronic toxicity test aims to find out more characteristics of the specific toxic effects of chemicals on organs or tissue. This study aimed to determine whether there is an effect of valerian subchronic of macroscopic and microscopic appearance of the kidney.*

Methods: *The experimental research design with Controlled Group Post Test Only Design was used 20 male wistar rats, divided into four groups randomly: one group (K) were given distilled water, and three treatment groups (P1, P2, P3) with a dose of 9 , 18, and 36 mg / rat via a stomach sonde times per day for three months. Three months to the end-terminated rats for renal volume measured and observed histopatologinya appearance. Macroscopic data were analyzed by Kruskal-Wallis, microscopic data were analyzed with One-Way Anova Test followed by Post-Hoc Test.*

Results: *There were no significant differences between the macroscopic appearance of the control group with treatment group ($p = 0.053$), whereas there were significant differences on the observation of microscopic image of the kidneys between groups, namely: K-P1 $p = 0,001$, K-P2, P3, P1-P3 $p = 0,000$, and P2-P3 $p = 0,006$. However, there was found no significant differences in microscopic images between P1-P2 with $p = 0,054$.*

Conclusion: *Subchronic extract Valerian treatment not give effect to the macroscopic appearance of kidney rats, but giving effect to the microscopic appearance of the organ.*

Keywords: *Valerian, kidney's macroscopic appearance, kidney's microscopic appearance*

PENDAHULUAN

Obat herbal sering dipromosikan sebagai produk alami dan aman untuk dikonsumsi, namun uji toksisitas membuktikan bahwa beberapa produk herbal dapat memberikan pengaruh buruk dan bersifat racun di dalam tubuh.¹ Salah satu produk herbal yang populer di masyarakat adalah Valerian, yang dipakai dalam pengobatan berbagai macam penyakit ringan termasuk insomnia, gangguan mood, ansietas, kram saat menstruasi, dan kondisi stress psikologik.²

Valerian akan mengalami proses kinetik di dalam tubuh, berupa proses absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi. Absorpsi merupakan proses pengambilan obat dari mukosa saluran cerna atau dari tempat-tempat tertentu dalam organ dalam ke dalam aliran darah. Distribusi obat ke seluruh tubuh terjadi saat obat mencapai sirkulasi. Selanjutnya obat harus masuk ke jaringan untuk bekerja. Proses distribusi kemudian diikuti proses metabolisme atau biotransformasi yaitu proses perubahan struktur kimia obat yang terjadi dalam tubuh dan dikatalisis oleh enzim. Molekul obat diubah menjadi lebih polar artinya lebih mudah larut dalam air dan kurang larut dalam lemak. Pada akhirnya kebanyakan senyawa aktif mengalami perubahan menjadi senyawa tidak aktif dan lebih mudah diekskresi, sehingga efek obat tersebut hilang. Ekskresi ginjal memegang tanggung jawab utama untuk eliminasi sebagian besar obat.³ Hasil metabolisme beberapa substansi kimia eksogen dan/metabolit yang bersifat reaktif dan berpotensi beracun akan dibawa masuk ke ginjal. Hal ini merupakan salah satu faktor kunci terjadinya toksisitas pada ginjal.⁴

Uji toksisitas subkronis adalah uji untuk mengetahui toksisitas suatu senyawa yang dilakukan pada hewan coba dengan sedikitnya tiga tingkat dosis, umumnya dalam jangka waktu 90 hari. Tujuan utama dari uji ini adalah untuk menentukan *no-observed-adverse-affect level* (NOAEL) dan mengetahui lebih jauh karakteristik pengaruh toksik spesifik dari senyawa kimia pada organ atau jaringan. NOAEL adalah dosis terukur secara eksperimen yang tidak menghasilkan efek merugikan.⁵

Studi dengan menggunakan spektrometri atom menunjukkan bahwa Valerian mengandung Al, Ca, Cd, Co, Cr, Fe, Li, Mn, Ni, Pb, V, dan Zn di dalamnya, dari hasil analisis sampel diperoleh kadar Pb sekitar 10-100 mg/kg, sementara Cd ditemukan mencapai 0,0125 mg/kg.⁶ Penelitian mengenai uji toksisitas akut Valerian terhadap ginjal mencit Balb/c menunjukkan terjadinya peningkatan pembengkakan sel epitel tubulus yang menyebabkan penyempitan lumen tubulus ginjal seiring peningkatan dosis Valerian.⁷

Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis perbedaan gambaran makroskopis dan mikroskopis ginjal tikus wistar setelah pemberian ekstrak valerian antara kelompok perlakuan dibanding kelompok kontrol dan antar kelompok perlakuan dengan dosis bertingkat.

METODE

Penelitian ini meliputi bidang farmakologi, histologi, dan patologi anatomi dan dilaksanakan di laboratorium farmakologi dan histologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan *post test only controlled group design* untuk variabel gambaran makroskopis dan mikroskopis ginjal tikus wistar. Penelitian ini menggunakan empat kelompok, yaitu tiga kelompok perlakuan dan satu kelompok kontrol, dengan randomisasi sederhana. Populasi penelitian adalah tikus wistar jantan yang diperoleh dari Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan (UPHP) LPPT Universitas Gajah Mada Yogyakarta, umur 2-3 bulan dengan berat badan 200 – 300 gram. Sampel diambil sebanyak 20 ekor tikus.

Tikus dikandangkan individual dan diberi pakan standar selama seminggu secara *ad libitum* untuk adaptasi.. Tikus kemudian dibagi menjadi empat kelompok yang ditentukan secara acak, yaitu kelompok kontrol (K) yang diberi aquades saja, kelompok perlakuan 1 (P1) diberi ekstrak Valerian dengan dosis 9 mg/tikus, kelompok P2 dengan dosis 18 mg/tikus, dan kelompok P3 dengan dosis 36 mg/tikus.

Ekstrak Valerian diberikan dengan sonde lambung. Pengamatan dilakukan selama 90 hari, kemudian pada hari berikutnya tikus dibunuh (terminasi) untuk dilakukan pengambilan ginjal lalu diamati kondisi makroskopisnya, dan selanjutnya diproses dengan metode baku histologi, kemudian dilakukan pemeriksaan mikroskopis setelah dilakukan pembuatan preparat sesuai prosedur.

Pemeriksaan makroskopis ginjal tikus wistar dilakukan dengan cara mengukur volume ginjal secara tidak langsung menggunakan gelas ukur. Pemeriksaan histopatologis ginjal tikus wistar dilakukan dengan mengamati dan menghitung jumlah kerusakan tubulus kontortus proksimal tiap 100 tubulus dalam lima lapangan pandang dengan perbesaran 400x. Sasaran yang dibaca adalah adanya penyempitan dan/atau nekrosis epitel tubulus kontortus proksimal karena sel epitel tubulus proksimal peka terhadap anoksia dan mudah hancur karena keracunan akibat kontak dengan bahan-bahan yang diekskresikan melalui ginjal, serta adanya hialin cast.^{8,9}

Data yang diperoleh kemudian diolah dengan program komputer SPSS 15.0 *for Windows*, dan diuji normalitas datanya menggunakan uji *Saphiro-Wilk*. Uji *Kruskall Wallis* digunakan untuk menganalisis gambaran makroskopis ginjal. Uji One Way Anova digunakan untuk menganalisis gambaran mikroskopis ginjal, kemudian dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc*.

HASIL

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan makroskopis ginjal adalah data numerik berupa data hasil pengukuran volume ginjal masing-masing kelompok. Data kemudian diolah dengan program komputer *SPSS for Windows*. Distribusi data setelah diuji dengan uji *Saphiro-Wilk* didapatkan distribusi data tidak normal, dengan hasil pada tabel 1.

Tabel 1. Nilai median, minimum, dan maksimum hasil pengukuran volume ginjal

Kelompok	N	Volume Ginjal (ml)		
		Median	Minimum	Maksimum
K	5	0,75	0,75	1,00
P1	5	0,75	0,50	1,00
P2	5	1,00	1,00	1,00
P3	5	0,75	0,75	1,00

Tabel 1 menunjukkan bahwa setiap kelompok memiliki nilai median yang sama yaitu, 0,75 ml, kecuali pada kelompok P2 yaitu 1,00 ml.

Hasil uji *Kruskall-Wallis* didapatkan nilai $p = 0,053$ yang menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna antar masing-masing kelompok.

Gambaran mikroskopis TC I Kontrol

Gambaran mikroskopis TC I Perlakuan 1

Gambaran mikroskopis TC I Perlakuan 2

Gambaran mikroskopis TC I Perlakuan 3

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan mikroskopis ginjal merupakan data numerik berupa jumlah kerusakan tubulus per 100 tubulus masing-masing

kelompok dengan distribusi data normal dan homogen. Deskriptif data tercantum dalam tabel 2.

Tabel 2. Nilai rerata dan simpang baku jumlah kerusakan tubulus

Kelompok	Jumlah Kerusakan per 100 Tubulus	
	Rerata	Simpang Baku
K	18,20	3,962
P1	27,80	2,950
P2	32,40	2,966
P3	39,40	3,975

Tabel 2 menunjukkan terdapat peningkatan nilai rerata jumlah kerusakan tubulus seiring dengan peningkatan dosis perlakuan.

Hasil uji *One Way Anova* menghasilkan nilai $p = 0,000$ yang artinya terdapat perbedaan bermakna pada paling tidak 2 kelompok perlakuan. Kemudian dilanjutkan dengan analisis *post hoc* untuk menilai perbedaan masing-masing kelompok dan didapatkan hasil seperti tercantum dalam tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji *Post Hoc* antar kelompok

Kelompo k	K	P1	P2	P3
K	-	0,001*	0,000*	0,000*
P1	0,001*	-	0,054	0,000*
P2	0,000*	0,054	-	0,006*
P3	0,000*	0,000*	0,006*	-

*Hasil analisis *post hoc* bermakna jika $p < 0,05$

Hasil analisis *post hoc*, didapatkan perbedaan bermakna antar masing-masing kelompok, kecuali antara kelompok P1 dengan kelompok P2.

PEMBAHASAN

Ginjal merupakan organ yang sangat efisien dalam proses eliminasi zat-zat toksik dari tubuh. Aliran darah ke ginjal yang tinggi dan peningkatan konsentrasi produk yang diekskresi diikuti reabsorpsi air dari cairan tubulus merupakan faktor utama yang terlibat dalam mempengaruhi kepekaan ginjal terhadap zat-zat toksik tersebut.⁴ Paparan zat-zat toksik yang berulang dapat menyebabkan terjadinya nekrosis tubular akut (NTA) nefrotoksik. NTA bersifat reversibel karena sel epitel dapat mengalami regenerasi sebagai bentuk aktivitas mitotik pada sel epitel tubulus yang masih ada. Regenerasi sel epitel total dan lengkap jika kerusakan tidak sampai pada membran basalis.¹⁰ Gambaran makroskopis ginjal yang mengalami NTA nefrotoksik berupa pembengkakan dan berwarna merah. Kerusakan khas terletak pada tubulus proksimal dimana terjadi penyempitan lumen dan nekrosis sel epitel tubulus, sedangkan pada tubulus distalis jarang ditemukan.⁹

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan makroskopis berupa pengukuran volume ginjal menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dan antara kelompok perlakuan yang satu dengan kelompok yang lain. Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak Valerian secara subkronis tidak memberikan dampak toksik yang nyata terhadap keadaan makroskopis ginjal dilihat dari volume ginjal masing-masing kelompok.

Tidak adanya perubahan yang bermakna dari gambaran makroskopis ginjal kemungkinan akibat dari beberapa hal, yaitu: 1) kerusakan ginjal belum sampai pada tingkat kerusakan anatomi, 2) paparan valerian diberikan pada tikus yang sebelumnya sehat, sehingga kerusakannya minimal, 3) jumlah sampel penelitian yang terbatas sehingga didapatkan distribusi data yang tidak normal.

Hasil pengamatan mikroskopis ginjal hanya ditemukan adanya penyempitan pada tubulus proksimal, tidak terdapat nekrosis sel epitel proksimal dan hialin cast tubulus distal sehingga kerusakan yang didapat minimal.

Kerusakan dalam tubulus ginjal hanya dilihat dari jumlah tubulus yang menyempit atau bahkan menutup yang dihitung per 100 tubulus dalam lima lapangan pandang.

Hasil pengamatan mikroskopis ginjal tikus wistar menunjukkan bahwa terdapat peningkatan rerata jumlah kerusakan tubulus seiring dengan peningkatan dosis perlakuan dan hasil uji beda menunjukkan ada suatu perubahan gambaran histopatologi yang bermakna antar tiap kelompok, kecuali antara P1 dan P2 dimana nilai $p > 0,05$. Hal ini membuktikan bahwa pemberian Valerian secara subkronis dengan dosis bertingkat memberikan efek terhadap gambaran mikroskopis, namun tidak memberikan dampak kerusakan yang nyata terhadap gambaran makroskopis ginjal dilihat dari ukuran volumenya.

Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa valerian mengandung logam-logam berat diantaranya Cd, Cr, dan Pb.⁶ Logam-logam berat ini sangat potensial menyebabkan kerusakan pada ginjal. Akumulasi logam berat Cd dapat menyebabkan disfungsi dan kerusakan tubulus proksimal yang dapat berkembang menjadi nefritis interstisial kronis. Cr bersifat karsinogenik pada manusia. Sedangkan Pb mudah masuk ke dalam sel-sel tubulus proksimal, dimana zat ini akan merusak dan menghambat fungsi mitokondria, sehingga mengganggu fungsi absorpsi sel.⁵

Sel epitel tubulus terutama peka terhadap anoksia, dan juga mudah hancur oleh keracunan kontak dengan bahan-bahan yang diekskresi melalui ginjal. Faktor predisposisi kerusakan tubulus akibat toksin antara lain: perubahan muatan listrik permukaan sel epitel tubulus, transport aktif ion dan asam organik, dan kemampuan untuk mengkonsentrasikannya. Cairan dari tubulus yang rusak dapat merembes ke luar ke dalam interstisium, mengakibatkan kenaikan tekanan interstisial dan kolaps dari tubulus.¹⁰

Perubahan bermakna secara mikroskopis pada penelitian ini kemungkinan disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain; 1) setiap zat larut dalam air yang diekskresi melalui ginjal memiliki potensi memberikan jejas pada epitel tubulus,

dan 2) kandungan logam berat pada valerian berupa Cd yang mencapai 0,0125 mg/kg –kadar nefrotoksik- dapat memberikan efek terhadap gambaran tubulus proksimal yang ditandai dengan pembengkakan epitel tubulus sehingga terjadi penyempitan tubulus.⁶ Penyempitan tubulus merupakan tanda khas NTA dimana kerusakannya minimal dan bersifat reversibel karena sel epitel tubulus proksimal mudah mengalami regenerasi.¹⁰

Perbedaan tidak bermakna yang terjadi antara P1 dan P2 dapat disebabkan oleh karena rentang dosis yang tidak terlalu jauh. Seperti yang telah disebutkan sebelumnya, P1 mendapatkan pemberian valerian sebesar 9 mg dan P2 mendapatkan 18 mg, berbeda dengan dosis perlakuan lain yang memiliki selisih besar yaitu P3 dengan dosis 36 mg.

SIMPULAN

Pemberian ekstrak Valerian secara subkronis tidak memberikan perbedaan gambaran makroskopis ginjal tikus wistar antara kelompok perlakuan dibanding kelompok kontrol dan antar kelompok perlakuan dengan dosis bertingkat, namun memberikan perbedaan gambaran mikroskopis ginjal baik antara kelompok perlakuan dibanding kelompok kontrol maupun antar kelompok perlakuan dengan dosis bertingkat.

SARAN

Penelitian yang serupa perlu dilakukan dalam melihat gambaran makroskopis ginjal tidak hanya dari pengukuran volume, akan tetapi menggunakan parameter lain, seperti massa, gambaran morfologi, dan yang lainnya supaya diketahui secara pasti ada atau tidaknya efek penggunaan valerian terhadap gambaran makroskopis ginjal dalam aspek pengamatan yang lain.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis memanjatkan puji syukur kepada Allah SWT dan mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada PT. Jamu Borobudur, dr. Noor Wijayahadi, M.Kes, Ph.D, dan dr. Ika Pawitra Miranti, M.Kes, Sp.PA.

DAFTAR PUSTAKA

1. Verhaegen M. Herbal medicine [homepage on the Internet]. c2009 [updated 2009 May 2; cited 2010 Feb 5]. Available from: <http://www.docstoc.com/docs/4025149/Herbal-medicine-Anesthesia-and-herbal-products-Marleen-Verhaegen-MD-PhD>.
2. U.S. Department of Health and Human Services. Chemical information review document for Valerian (*Valeriana officinalis* L. and oils) [homepage on the internet]. c2009 [cited 2009 Dec 31]. Available from: http://ntp.niehs.nih.gov/NTP/Noms/Support_Docs/Valerian_nov2009.pdf.
3. Wulandari, R. Profil farmakokinetik teofilin yang diberikan secara bersamaan dengan jus jambu biji (*Psidium Guajava* L.) pada kelinci jantan [Karya Tulis Ilmiah S-1]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta; 2009.
4. Hodgson E, Levi PE. Nephrotoxicity. In: Hodgson E, editor. A Textbook of modern toxicology, 3rd ed. New York: John Wiley & Sons, 2004; p. 273-75.
5. Schnellmann RG. Toxic responses of the kidney. In: Klassen CD. Casarett and doull's toxicology the basic science of poisons. 6th ed. Kansas: McGraw Hill; 2001. p. 491-510.
6. Arce S, Cerutti S CS. Determination of metal content in valerian root phytopharmaceutical derivatives by atomic spectrometry. J AOAC Int. 2005 Jan- Feb ;88 (1):221-5.
7. Al-Munawar NM. Uji toksisitas akut ekstrak Valerian (*Valeriana officinalis*) terhadap ginjal mencit Balb/c [Karya Tulis Ilmiah S-1]. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro; 2009.
8. Wijaya I, Miranti IP. Patologi ginjal & saluran kemih. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro; 2005.
9. Underwood JCE. Sarjadi, editor. Patologi umum dan sistemik. 2nd ed. Jakarta: EGC; 2000.
10. Cotran RS. Ginjal dan sistem penyalurannya. In: Robbins SL, Kumar V. Staf Pengajar Laboratorium Patologik Anatomik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, editor. Buku ajar patologi II. 4th ed. Jakarta: EGC, 1995; p. 203-04.