

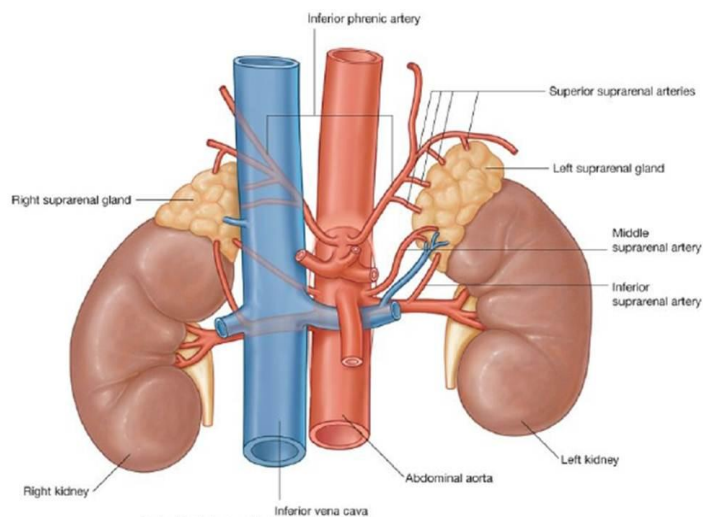
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ginjal

2.1.1 Anatomi Ginjal

Ginjal merupakan organ yang berada di rongga abdomen, berada di belakang peritoneum, dan terletak di kanan kiri columna vertebralis sekitar vertebra T12 hingga L3.¹³ Ginjal pada orang dewasa berukuran panjang 11-12 cm, lebar 5-7 cm, tebal 2,3-3 cm, berbentuk seperti biji kacang dengan lekukan menghadap ke dalam, dan berukuran kira-kira sebesar kepalan tangan manusia dewasa. Berat kedua ginjal kurang dari 1% berat seluruh tubuh atau kurang lebih antara 120-150 gram.¹⁴



Gambar 1. Anatomi Ginjal¹⁴

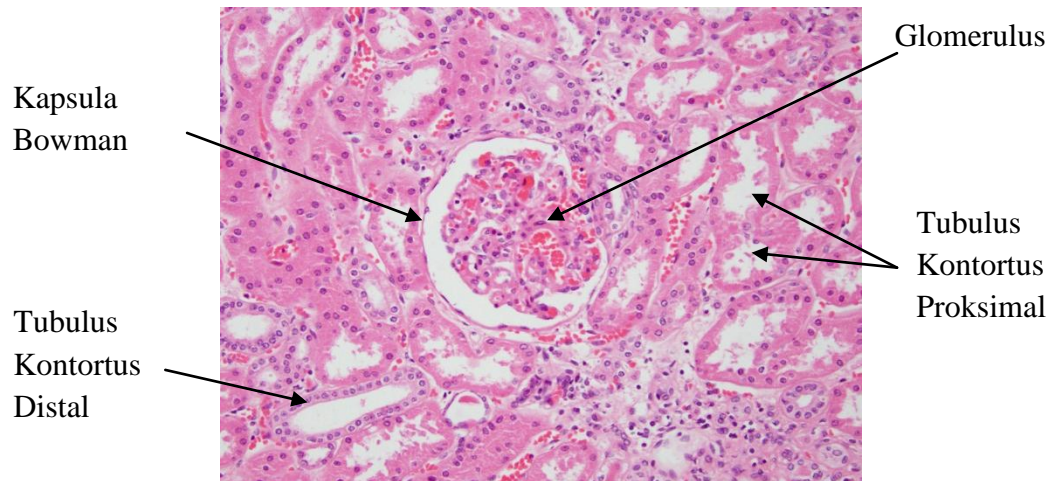
Kedua ginjal dibungkus oleh dua lapisan lemak yaitu lemak pararenal dan lemak perirenal yang dipisahkan oleh sebuah fascia yang disebut fascia gerota.

Dalam potongan frontal ginjal, ditemukan dua lapisan ginjal di distal sinus renalis, yaitu korteks renalis (bagian luar) yang berwarna coklat gelap dan medulla renalis (bagian dalam) yang berwarna coklat terang. Di bagian sinus renalis terdapat bangunan berbentuk corong yang merupakan kelanjutan dari ureter dan disebut pelvis renalis. Masing-masing pelvis renalis membentuk dua atau tiga kaliks mayor dan masing-masing kaliks mayor tersebut akan bercabang lagi menjadi dua atau tiga kaliks minor.¹³

Vaskularisasi ginjal berasal dari arteri renalis yang merupakan cabang dari aorta abdominalis di distal arteri mesenterica superior. Arteri renalis masuk ke dalam hilus renalis bersama dengan vena, ureter, pembuluh limfe, dan nervus kemudian bercabang menjadi arteri interlobaris. Memasuki struktur yang lebih kecil, arteri interlobaris ini berubah menjadi arteri interlobularis lalu akhirnya menjadi arteriola aferen yang menyusun glomerulus.¹³

Ginjal mendapatkan persarafan melalui pleksus renalis yang seratnya berjalan bersama dengan arteri renalis. Impuls sensorik dari ginjal berjalan menuju korda spinalis segmen T10-11 dan memberikan sinyal sesuai dengan level dermatomnya. Oleh karena itu, dapat dimengerti bahwa nyeri di daerah pinggang (flank) bisa merupakan nyeri alih dari ginjal.¹⁵

2.1.2 Histologi Ginjal



Gambar 2. Histologi Ginjal¹⁶

Unit fungsional setiap ginjal adalah tubulus uriniferus mikroskopik. Tubulus ini terdiri atas nefron (*nephronum*) dan duktus koligen (*ductus coligens*) yang menampung curahan dari nefron. Jutaan nefron terdapat di setiap korteks ginjal. Nefron, selanjutnya terbagi lagi menjadi dua komponen yaitu korpuskulum ginjal (*corpusculum renale*) dan tubulus ginjal (*renal tubules*).¹⁷

Terdapat dua jenis nefron yaitu nefron kortikal (*nephronum corticale*) yang terletak di korteks ginjal, sedangkan nefron jukstamedularis (*nephronum juxtamedullare*) terdapat di dekat perbatasan korteks dan medulla ginjal. Meskipun semua nefron berperan dalam pembentukan urin, nefron jukstamedularis membuat kondisi hipertoniik di interstisium medulla ginjal yang menyebabkan produksi urin yang pekat.¹⁷

Korpuskulum ginjal merupakan segmen awal setiap nefron yang terdiri atas kumpulan kapiler yang disebut glomerulus serta dikelilingi oleh dua lapis sel

epitel yang disebut kapsul glomerulus (*capsula glomerularis Bowman*). Stratum viseral atau lapisan dalam (*pars internus*) kapsul terdiri atas sel epitel khusus bercabang, yaitu podosit (*podocytus*) yang berbatasan dan membungkus kapiler glomerulus. Stratum parietal atau lapisan luar (*pars externus*) kapsul glomerulus terdiri atas epitel selapis gepeng. Setiap korpuskulum ginjal mempunyai polus vaskularis, tempat masuknya arteriol aferen dan keluarannya arteriol eferen. Filtrat dihasilkan oleh glomerulus yang merupakan ultrafiltrat mirip dengan plasma tetapi tidak mengandung protein lalu masuk ke spatium kapsular meninggalkan korpuskulum ginjal di polus urinarius, tempat tubulus kontortus proksimal berasal.¹⁷

Dua jenis tubulus mengelilingi korpuskulum ginjal. Kedua tubulus ini adalah tubulus kontortus proksimal dan tubulus kontortus distal. Bagian tubulus ginjal yang berawal dari korpuskulum ginjal sangat berkelok atau melengkung sehingga disebut tubulus kontortus proksimal (*tubulus proximalis pars convolute*). Tubulus kontortus proksimal terbentuk dari satu lapisan sel kuboid dengan sitoplasma bergranula eosinofilik, mitokondria memanjang, dan memperlihatkan lumen kecil tidak rata dengan *brush border* serta banyak lipatan membrane sel basal yang dalam. Adanya mikrovili (*limbus microvillus*) di sel tubulus kontortus proksimal meningkatkan luas permukaan dan mempermudah absorpsi bahan yang terfiltrasi. Batas sel tubulus kontortus proksimal juga tidak jelas karena interdigitasi membran lateral dan basal yang luas dengan sel-sel di sekitarnya.^{17,18}

Tubulus kontortus proksimal yang terletak di korteks, selanjutnya turun ke dalam medulla untuk menjadi ansa henle. Ansa henle (*ansa nephroni*) terdiri dari

beberapa bagian yaitu bagian descendens tebal yang merupakan kelanjutan dari tubulus kontortus proksimal, segmen descendens dan ascendens yang tipis, serta bagian ascendens tebal yang merupakan awal dari tubulus kontortus distal (*tubulus distal pars convolute*). Bagian ascendens dari loop terletak di samping bagian descendens dan meluas ke dalam medulaginjal. Nefron dengan glomerulus yang terletak dekat corticomedullary (*nefronjuxtamedullary*) memiliki loop Henle yang relatif panjang dan memanjang jauh ke medula. Sebaliknya, sebagian besar lengkung Henle dari nefron superfisial umumnya terletak di medula ray. Segmen tipis loop mempunyai lumen yang sempit dan dindingnya tersusun atas sel epitel skuamus.^{17,18}

Pars tebal *ascendens loop henle* berlanjut menjadi tubulus kontortus distal di korteks ginjal. Berbeda dengan tubulus kontortus proksimal, tubulus kontortus distal tidak memperlihatkan limbus microvilosus (*brush border*), selnya lebih kecil, dan lebih banyak nukleus ditemukan per tubulus. Membran basolateral sel tubulus kontortus distal menunjukkan banyaknya interdigitasi dan keberadaan mitokondria memanjang di dalam lipatan ini. Fungsi utama tubulus distal adalah secara aktif mereabsorpsi ion natrium dan filtrat tubuli menuju kapiler peritubuler ke sirkulasi sitemik untuk mempertahankan keseimbangan asam-basa cairan tubuh dan darah.¹⁷

Filtrat glomerulus yang berasal dari kontortus distal mengalir menuju ke tubulus koligens. Tubulus koligens bukan merupakan bagian nefron. Sejumlah tubulus koligens pendek bergabung membentuk beberapa duktus koligens yang lebih besar. Sewaktu duktus koligens turun ke arah papilla medulla, duktus ini

disebut duktus papilaris. Duktus koligens yang lebih kecil dilapisi oleh epitel kuboid turpulas pucat. Jauh di dalam medulla, epitel di duktus ini berubah menjadi silindris. Di ujung setiap papilla, duktus papilaris mengalirkan isinya ke dalam kaliks minor. Daerah papilla yang memperlihatkan lubang di duktus papilaris yaitu area kribrosa. Korteks ginjal juga memperlihatkan banyak radius medularis terpulas pucat yang berjalan vertikal dari basis piramid menuju korteks. Radius medularis terutama terdiri dari duktus koligens, pembuluh darah, dan bagian lurus dari sejumlah nefron yang menembus korteks dari basis piramid.¹⁷

2.1.3 Fisiologi Ginjal

Ginjal memerankan berbagai fungsi tubuh yang sangat penting bagi kehidupan, yakni menyaring (filtrasi) sisa hasil metabolisme dan toksin dari darah serta mempertahankan homeostatis cairan dan elektrolit yang kemudian dibuang melalui urine.¹⁵ Pembentukan urin adalah fungsi ginjal yang paling esensial dalam mempertahankan homeostatis tubuh. Pada orang dewasa sehat, kurang lebih 1200 ml darah, atau 25% *cardiac output*, mengalir ke kedua ginjal. Pada keadaan tertentu, aliran darah ke ginjal dapat meningkat hingga 30% (pada saat latihan fisik) dan menurun hingga 12% dari *cardiac output*.¹⁵

Proses pembentukan urine yang pertama terjadi adalah filtrasi, yaitu penyaringan darah yang mengalir melalui arteria aferen menuju kapiler glomerulus yang dibungkus kapsula bowman untuk menjadi filtrat glomerulus yang berisi zat-zat ekskresi. Kapiler glomerulus tersusun atas sel endotel, membrana basalis dan sel epitel. Kapiler glomeruli berdinding porous (berlubang-

lubang), yang memungkinkan terjadinya filtrasi cairan dalam jumlah besar (± 180 L/hari). Molekul yang berukuran kecil (air, elektrolit, dan sisa metabolisme tubuh, di antaranya kreatinin dan ureum) akan difiltrasi dari darah, sedangkan molekul berukuran lebih besar (protein dan sel darah) tetap tertahan di dalam darah. Oleh karena itu, komposisi cairan filtrat yang berada di kapsul Bowman, mirip dengan yang ada di dalam plasma, hanya saja cairan ini tidak mengandung protein dan sel darah.¹⁹

Volume cairan yang difiltrasi oleh glomerulus setiap satuan waktu disebut sebagai rerata filtrasi glomerulus atau *Glomerular Filtration Rate* (GFR). Selanjutnya cairan filtrat akan direabsorpsi dan beberapa elektrolit akan mengalami sekresi di tubulus ginjal, yang kemudian menghasilkan urine yang akan disalurkan melalui duktus koligentes. Proses dari reabsorpsi filtrat di tubulus proksimal, ansa henle, dan sekresi di tubulus distal terus berlangsung hingga terbentuk filtrat tubuli yang dialirkan ke kalises hingga pelvis ginjal.^{19,20}

Ginjal merupakan alat tubuh yang strukturnya amat rumit, berperan penting dalam pengelolaan berbagai faal utama tubuh. Beberapa fungsi ginjal:

- a. Regulasi volume dan osmolalitas cairan tubuh
- b. Regulasi keseimbangan elektrolit
- c. Regulasi keseimbangan asam basa
- d. Ekskresi produk metabolit dan substansi asing
- e. Fungsi endokrin
 - Partisipasi dalam eritropoiesis
 - Pengatur tekanan arteri

- f. Pengaturan produksi 1,25-dihidroksi vitamin D3
- g. Sintesa glukosa^{19,20}

2.1.4 Patologi Ginjal

2.1.4.1 Degenerasi dan Nekrosis

Dalam keadaan normal, sel berada pada keadaan homeostasis, di mana terdapat keseimbangan sel dengan lingkungan sekitar. Sel yang terjejas merupakan satu rangkaian perubahan biokimia atau morfologi yang terjadi ketika kondisi homeostasis mengalami gangguan hebat. Perubahan tersebut bisa kembali ke kondisi normal (*reversible*) atau tidak (*irreversible*). Terdapat bermacam-macam penyebab jejas pada sel, baik sebab eksogen (dari luar tubuh) seperti trauma fisik (panas,dingin, suntukan jarum), kimiawi (racun, obat, bahan toksik), dan biologi (virus, bakteri, parasit, jamur) maupun sebab endogen (dari dalam tubuh) seperti kelainan genetik, metabolit, hormon, sitokin, dan substansi bioaktif yang lain.²¹

Sebagian besar perbedaan jejas reversibel dan ireversibel terletak pada penilaian kualitatif. Apabila trauma yang dialami oleh sel ringan sehingga perubahan seluler yang terjadi segera teratasi dan sel kembali dalam kondisi normal, disebut jejas yang reversibel. Sedangkan apabila sel tidak mampu kembali ke kondisi normal, maka keadaan ini disebut jejas ireversibel.²¹

Pada makhluk hidup/manusia, jejas ireversibel akan diikuti dengan kematian sel, di mana di dalam sel akan terjadi reaksi degradatif berupa autolisis (penghancuran oleh enzim intraseluler, misalnya protease, lipase) atau heterolisis

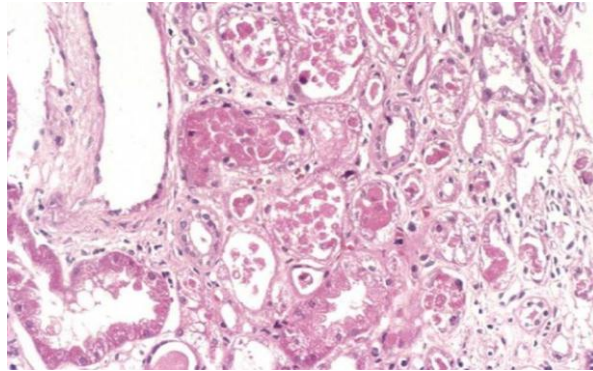
(penghancuran oleh enzim dari luar sel, misal bakteri, leukosit). Kematian sel di dalam organisme hidup disebut nekrosis. Sel yang mengalami kematian mempunyai perubahan inti yang tipikal, antara lain piknosis (penggumpalan kromatin), karioreksis (fragmentasi material inti), dan kariolisis (kromatin inti menjadi lisis). Seiring waktu sekitar satu sampai dua hari, inti pada sel yang nekrosis sama sekali menghilang, sementara itu sitoplasma berubah menjadi masa asidofil suram bergranula.²¹

Perubahan reversibel dan ireversibel dapat terjadi pada morfologi ginjal akibat bermacam-macam agen penyebab jejas terutama agen kimiawi maupun radikal bebas. Perubahan reversibel yang mungkin terjadi pada ginjal antara lain adalah degenerasi sel tubulus, inflamasi sel tubulus, dan terbentuknya cast atau silinder, sedangkan perubahan ireversibel dari sel tubulus antara lain adalah atrofi atau dilatasi lumen, fibrosis sel tubulus, dan yang paling berat adalah nekrosis sel tubulus. Perubahan ireversibel biasanya ditandai dengan hilangnya *brush border* dan inti sel yang memipih.²¹

2.1.4.2 Nekrosis Tubular Akut

Nekrosis Tubular Akut (NTA) adalah suatu kelainan klinikopatologi yang secara morfologik ditandai oleh destruksi sel epitel tubulus dan klinik dengan gangguan faal ginjal akut. NTA dibedakan atas NTA iskemik dan NTA nefrotoksik. Nekrosis Tubular Akut (NTA) iskemik dapat terjadi karena berkurangnya aliran darah ke ginjal, misalnya pada pasien yang mengalami syok akibat perdarahan, trauma, luka bakar, trauma, obstruksi usus, reaksi transfusi,

dan operasi. Karena epitel tubulus-tubulus ginjal terutama tubulus proksimal sangat peka terhadap suatu iskemia, maka jaringan ini akan mengalami kerusakan dalam batas-batas tertentu, walaupun sisa jaringan ginjal lainnya tampak seperti tidak mengalami kelainan. Iskemia adalah penyebab paling sering, dan lamanya iskemia akan menentukan luasnya cedera yang terjadi dan prognosis kembalinya fungsi ginjal. Penelitian menunjukkan bahwa iskemia selama 25 menit atau kurang berakibat pada kerusakan ringan yang masih reversibel, sedangkan iskemia 2 jam menimbulkan kerusakan berat yang ireversibel.²²



Gambar 3. Nekrosis Tubular Akut

NTA nefrotoksik disebabkan oleh berbagai bahan yang bersifat racun, misalnya logam berat (merkuri/Hg), bahan organik (karbon tetraklorida), maupun obat-obatan (gentamisin, antibiotika lain atau bahan kontras pemeriksaan radiologik). Kerusakan ginjal akibat zat nefrotoksik terlihat dari adanya penyempitan tubulus proksimal, nekrosis sel epitel tubulus proksimal, adanya *hyalin cast* di tubulus distal, pecahnya sel darah merah, koagulasi intravaskular, pengendapan kristal oksalat dan asam urat, serta hipoksia jaringan. Tampak juga degenerasi tubulus proksimal yang mengandung debris, tetapi membrana basalis utuh.²³

Nekrosis tubular akut (NTA) adalah *Acute Kidney Injury* (AKI) yang disebabkan oleh cedera iskemia atau nefrotoksik pada epitel tubulus ginjal, sehingga dapat terjadi kerusakan dan kematian epitel tubulus. dengan gejala klinis oliguria yang dilanjutkan diuresis. Perjalanan klinik dari NTA dibedakan atas tahap awal, *maintenance*, dan penyembuhan. Tahap awal berlangsung selama 36 jam, ditandai dengan penurunan pengeluaran kemih (oliguria) dilanjutkan dengan tahap *maintenance* yang berlangsung dari hari kedua sampai keenam di mana pengeluaran kemih turun drastis sampai 50-400 ml/hari disertai tanda-tanda uremia. Adanya kerusakan tubulus menyebabkan retensi cairan, sehingga terjadi uremia, hiperkalemia, edem, ketidakseimbangan elektrolit, asidosis, peningkatan *blood urea nitrogen* (BUN) sekitar 25-30mg/dl per-hari, dan kreatinin kira-kira 2,5mg/dl per-hari.^{22,24}

Tahap penyembuhan ditandai dengan peningkatan pengeluaran urin mencapai 3 liter per hari. Gangguan keseimbangan elektrolit dapat terjadi pada tahap ini. Risiko terkena infeksi besar sehingga 25% penderita meninggal pada tahap ini. Setelah penyembuhan, epitel tubulus diganti dengan sel yang belum memiliki kemampuan selektif, sehingga urin mudah lewat tanpa absorpsi yang mengakibatkan dehidrasi dan hilangnya elektrolit tertentu.²²

2.1.5 Faktor-faktor yang Berpengaruh pada Kerusakan Ginjal

Hal-hal yang mempengaruhi kerusakan ginjal, antara lain :

1. Obat atau zat kimia toksik

Obat-obatan yang bersifat nefrotoksik misalnya *acetaminophen*, NSAID, dan aminoglikosida. Sedangkan contoh zat kimia toksik adalah pewarna sintetis metanil yellow, rodhamin B, amaranth.^{22,23}

2. Dosis

Semakin tinggi dosis suatu zat yang diberikan maka akan semakin tinggi pula kerusakan sel yang diakibatkan.^{22,23}

3. Nutrisi

Keadaan gizi atau nutrisi diperlukan untuk mempertahankan fungsi fisiologi dari suatu sel.^{22,23}

4. Usia

Pada usia lanjut akan terjadi kemunduran fungsi ginjal sehingga ginjal lebih rentan mengalami kerusakan.^{22,23}

5. Jenis Kelamin

Jenis kelamin berkaitan dengan proses hormonal yang berpengaruh terhadap proses metabolisme di dalam tubuh.^{22,23}

6. Penyakit/Infeksi

Penyakit pendahulu atau penyerta akan memperberat terjadinya kerusakan ginjal akibat terganggunya fungsi fisiologis maupun perubahan morfologi.^{22,23}

7. Alkohol

Konsumsi alkohol yang berlebihan dan dalam jangka waktu panjang akan merusak ginjal ataupun memperparah kerusakan yang telah terjadi.^{22,23}

8. Stress

Stress pada organ ginjal dapat menyebabkan sel mengalami cedera.^{22,23}

2.2 Metanil yellow

2.2.1 Deskripsi Metanil yellow



Gambar 4. Metanil yellow

Metanil yellow (kadang disebut kuning metanil atau *acid yellow*) merupakan zat warna sintesis berwarna kuning kecokelatan, berbentuk padat atau serbuk, bersifat larut dalam air dan alkohol, agak larut dalam benzena dan eter, serta sedikit larut dalam aseton. Metanil yellow merupakan senyawa kimia azo aromatik amin yang dibuat dari asam metanilat dan difenilamin. Pewarna ini biasanya digunakan sebagai pewarna tekstil, cat, kertas, aluminium, detergen, kayu, bulu, sabun, lilin, dan kosmetik.⁴

Seiring waktu, penggunaan metanil yellow mulai disalahgunakan, salah satunya adalah penggunaan zat warna tersebut dalam makanan. Penyalahgunaan

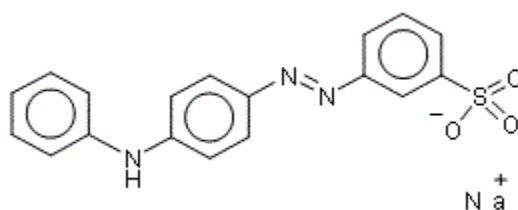
metanil yellow untuk pangan telah ditemukan untuk beberapa jenis pangan, diantaranya kerupuk, mie, tahu, dan pangan jajanan lainnya yang berwarna kuning. Azis Eko Astomo dari Universitas Muhammadiyah Surakarta menemukan penggunaan zat pewarna metanil yellow dalam jelly yang diperjualbelikan di pasar Kecamatan Jebres Kotamadya Surakarta.⁵ Hasil penelitian lain yang dilakukan oleh Chrisna Ayuningtias di Binjai Utara dan Binjai Kota menemukan bahwa dari 20 roti isi selai, didapatkan hasil bahwa 16,7% selai yang ada didalam roti isi menggunakan zat pewarna metanil yellow.²⁵ Selain itu, Azizahwati dkk. yang melakukan penelitian di Tangerang menemukan pula penyalahgunaan zat warna non pangan tersebut di pasaran.²⁶ Survey yang dilakukan oleh SEAFast Center IPB di 4500 sekolah dasar tahun 2008 menemukan Pangan Jajanan Anak Sekolah (PJAS) mengandung bahan berbahaya seperti metanil yellow sebesar 3,7%, formalin 12,9%, Boraks 9,7%, Rhodamin B 4% , dan Amaranth 5%. Laporan tahunan yang dilakukan oleh Badan POM pada tahun 2012 juga mendapatkan zat warna metanil yellow pada beberapa sampel makanan dan minuman yang diujikan.²⁷ Ciri pangan dengan pewarna metanil yellow biasanya berwarna kuning menyolok, cenderung berpendar, dan banyak memberikan titik-titik warna karena tidak homogen (misalnya pada kerupuk).⁴

Pada umumnya, metanil yellow yang merupakan pewarna sintetik bersifat lebih stabil daripada kebanyakan pewarna alami. Pewarna ini dapat menghasilkan warna yang tetap cerah meskipun sudah mengalami proses pengolahan dan pemanasan. Oleh karena itu, pewarna ini dapat digunakan pada hampir semua jenis pangan. Selain itu, pewarna ini memiliki harga yang lebih terjangkau dan

intensitas warna yang sangat kuat, sehingga pada penggunaannya dalam pangan hanya perlu ditambahkan beberapa miligram pewarna per kilogram pangan. Hal demikianlah yang membuat masyarakat khususnya para penjual tertarik untuk menggunakan zat pewarna non-pangan tersebut dalam jajanan yang mereka jual.

2.2.2 Struktur Kimia Metanil yellow

Menurut *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA), zat warna sintetis dapat digolongkan dalam beberapa kelas menurut struktur kimianya, yaitu azo, triaril metana, quinolin, xantin, dan indigoid.⁴ Metanil yellow yang berbentuk padatan serbuk berwarna kuning hingga coklat ini mempunyai nama IUPAC 3-[(E)-2-[4-(phenylamino) phenyl]diazen-1-yl]benzene-1-sulfonic acid, rumus rumus molekul $C_{18}H_{14}N_3NaO_3S$ dan massa molekul sebesar 375,38 Dalton. Senyawa ini larut dalam air (25 mg/ml at 20 °C) dan alkohol, cukup larut dalam benzena dan eter, serta sedikit larut dalam aseton.²⁹



Gambar 5. Struktur Kimia Metanil yellow

Senyawa yang memiliki sinonim *Benzenesulfonic acid* ini memiliki tingkat toksisitas akut yang rendah dan akan menjadi sangat berbahaya ketika terkontaminasi dengan logam berat.⁴ Metanil yellow tidak boleh dicampurkan (*incompatible*) dengan oksidator dan bahan-bahan mudah terbakar seperti

anhidrida maleat dan nitrosil perklorat yang dapat menyebabkan ledakan kuat, kalsium hipoklorit dan natrium hipoklorit yang menyebabkan terbentuknya kloroamina, akrolein yang menyebabkan terjadinya reaksi polimerisasi bersifat eksoterm, maupun dengan tri iso-butyl aluminum yang membentuk reaksi hebat.³⁰

Tabel 2. Data Metanil yellow²⁹

No	Keterangan	Penjelasan
1.	Berat Molekul	375,38 g/mol
2.	Rumus Molekul	C ₁₈ H ₁₄ N ₃ O ₃ SNa
3.	Komposisi	C (61.18%), H (4.28%), N (11.89%), O (13.58%), S (9.07%)
4.	Komposisi isotope	C (61.18%), H (4.28%), N (11.89%), O (13.58%), S (9.07%)
5.	Indeks refraksi	n _D ²⁰ ~1.65
6.	Nomor CAS	587-98-4
8.	<i>Merck Index</i>	14.5928
9.	pH	1.2-2.3
11.	Titik Leleh	>250°C
12.	Golongan	<i>Dyes, azo</i>
13.	Kelarutan	Larut dalam air, alkohol, sedikit larut dalam benzen, dan agak larut dalam aseton
14.	Sinonim	<i>Benzenesulfonic acid</i> , 3-((4-(phenylamino)phenyl)azo)-, <i>monosodium salt</i> ; m-(p-Anilinophenylazo)- <i>benzenesulfonic acid sodium salt</i> ; <i>M-Sulfanilic acid azo-phenylamine sodium</i> ; Sodium phenylaminobenzene metasulfonate; Metaniline yellow; C.I. <i>Acid Yellow 36, Monosodium salt</i>
15.	Data Toksisitas	<ul style="list-style-type: none"> • LD₅₀ tikus – oral : 5 mg/kg • LD₅₀ mencit – intraperitoneal : 1 mg/kg • LD₅₀ mencit – intravena : 200 mg/kg • LD₅₀ oral – mencit : >488 mg/kg berat badan

2.2.3 Bahaya Metanil yellow

Beberapa pewarna azo termasuk metanil yellow telah dilarang digunakan pada pangan karena efek toksiknya. Namun, efek toksik tersebut bukan disebabkan oleh pewarna itu sendiri melainkan akibat adanya degradasi pewarna yang bersangkutan. Terlebih lagi, beberapa produk hasil degradasi pewarna azo diketahui bersifat mutagenik atau karsinogenik, sehingga beberapa pewarna azo kemudian dilarang digunakan dalam pangan.^{4,27}

Tingkat toksisitas pewarna azo tergolong rendah, sehingga dosis toksik akut pewarna azo tidak akan tercapai dengan mengkonsumsi pangan yang mengandung pewarna azo dengan kadar rendah. Kebanyakan pewarna azo (baik pewarna untuk pangan maupun tekstil) memiliki nilai LD50 dengan kisaran 250 – 2000 mg/kg berat badan, yang mengindikasikan bahwa dosis letal dapat dicapai jika seseorang mengkonsumsi beberapa gram pewarna azo dalam dosis tunggal. Berdasarkan perhitungan, rata-rata orang dewasa akan memerlukan lebih dari 100 kg pangan yang mengandung pewarna azo dalam satu hari untuk mencapai dosis letal.^{29,31}

Metanil yellow termasuk senyawa kimia azo aromatik amin yang mempunyai beberapa efek berbahaya baik apabila terhirup, tertelan, terapar ke mata maupun ke kulit. Senyawa *aromatic amin* (amina aromatik) merupakan iritan kuat yang dapat menyebabkan edema dan pendarahan paru, nekrosis dan radang pada ginjal, nekrosis hati dan methemoglobinemia, reaksi alergi yang parah pada paparan senyawa jangka pendek dan menyebabkan kanker pada saluran kencing, khususnya pada kandung kemih sebagai efek paparan jangka

panjang. Selain itu, apabila tertelan dapat menyebabkan mual, muntah, nyeri perut, diare, demam, tidak enak badan secara menyeluruh, hipotensi, dan menyebabkan efek sebagaimana halnya paparan terhirup jangka pendek.^{31,32}

Dalam paparan jangka panjang, sebagaimana hasil penelitian pada tikus yang diberikan metanil yellow per-oral dengan dosis sebesar 3% dapat menyebabkan perubahan sel-sel darah seperti penurunan yang signifikan pada neutrofil dan eosinofil, peningkatan yang signifikan dalam limfosit dan monosit, peningkatan waktu koagulasi, serta dapat pula menyebabkan kanker pada saluran kencing, khususnya pada kandung kemih.³² Penelitian mengenai paparan kronik metanil yellow terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberikan melalui pakannya selama 30 hari, diperoleh hasil bahwa terdapat perubahan histopatologi dan ultrastruktural pada lambung, usus, hepar, dan ginjal.³³ Hasil penelitian yang dilakukan oleh Iwan T. Budiarmo dkk juga menemukan perubahan *cystic kidney* pada ginjal. Penelitian lain yang menggunakan mencit Balb/c jantan yang diberi metanil yellow per-oral dosis bertingkat selama 30 hari menunjukkan gambaran mikroskopis berupa degenerasi sel tubulus ginjal mencit tersebut.³⁴ Selain terhirup dan tertelan, kontak metanil yellow ke mata dan kulit juga mempunyai efek yang tidak kalah berbahaya, seperti menyebabkan edema pada epitel kornea, gangguan penglihatan, dan dermatitis akibat sensitisasi kulit.³²

2.2.4 Metabolisme Metanil yellow

Metanil yellow merupakan salah satu zat warna azo yang dilarang digunakan dalam pangan tetapi sudah mulai banyak disalahgunakan untuk

dicampur dalam bahan pangan.⁴ Zat warna azo yang masuk ke dalam sistem pencernaan akan diabsorpsi dan direduksi oleh mikroorganisme yang berada di saluran cerna dalam kondisi anaerobik. Ikatan azo yang direduksi ini menghasilkan produk antara (intermediet) yaitu turunan amino azo benzen yang diduga bersifat karsinogenik.³³ Jalur metabolisme utama untuk detoksifikasi senyawa azo adalah dengan proses reduksi membentuk amina aromatik. Reduksi senyawa azo dikatalisa oleh mikrosom hepar, enzim sitosolik, dan bakteri kolon. Hasil reduksi dari beberapa senyawa azo didapatkan mempunyai sifat toksik dan mutagenik. Dua metabolit dari metanil yellow yang diduga mempunyai sifat toksik terutama pada epitel mukosa usus adalah p-aminodiphenylamine dan asam metanillik.³⁴

Efek toksik dari metanil yellow bukan disebabkan oleh pewarna itu sendiri melainkan akibat adanya degradasi pewarna yang bersangkutan. Dari saluran pencernaan, senyawa tersebut akan dibawa langsung ke hepar melalui vena porta atau melalui sistem limfatik ke vena kava superior. Di hepar, senyawa tersebut dimetabolisme dan dikonjugasi, lalu ditransportasikan ke ginjal untuk diekskresikan bersama urin. Senyawa-senyawa tersebut dibawa dalam aliran darah sebagai molekul yang tersebar dan larut dalam plasma, molekul yang terikat reversibel dengan protein dan konstituen lain dalam serum, maupun sebagai molekul bebas atau terikat yang tidak mengandung eritrosit dan unsur-unsur lain dalam pembentukan darah.³⁵

Pada molekul pewarna azo, ikatan azo merupakan ikatan yang bersifat paling tidak stabil sehingga dapat dengan mudah diurai oleh enzim azo-reduktase

yang terdapat dalam tubuh mamalia, termasuk manusia. Pada mamalia, enzim azo-reduktase (dengan berbagai aktivitasnya) dapat dijumpai pada berbagai organ, antara lain hati, ginjal, paru-paru, jantung, otak, limpa, dan jaringan otot.^{30,35}

2.2.5 Pengaruh Metanil yellow terhadap Ginjal

Metanil yellow termasuk dalam pewarna yang bersifat toksik setelah direduksi dan dipecah ikatan amina aromatiknya oleh bakteri dalam usus. Turunan aromatik amin hasil metabolisme tersebut bersifat reaktif elektrofilik dan mudah berikatan dengan DNA. Namun, karena reduksi dan pemecahan tersebut juga bisa dilakukan oleh enzim sitosolik dan mikrosom yang terdapat pada organ lain termasuk ginjal, proses yang sama terjadi juga di sana.

Ginjal merupakan organ kedua setelah hepar yang paling sering menjadi sasaran oleh perusak xenobiotik di mana salah satunya adalah metanil yellow. Hal ini disebabkan karena banyak zat kimia yang diekskresikan melalui urin. Salah satu bagian ginjal yang paling sering terjadi kerusakan disebabkan zat kimia adalah tubulus proksimal.¹⁸ Tubulus kontortus proksimal menjadi bagian utama yang terkena efek langsung dari bahan kimia toksik karena memegang fungsi absorpsi dan sekresi. Hal ini menuntut sel-sel epitel tubulus proksimal memiliki tingkat metabolisme oksidatif yang tinggi.^{38,39}

Senyawa radikal bebas dari hasil pemecahan pewarna azo berupa turunan amina aromatik yang bersifat tidak stabil dapat bereaksi dengan lipid, salah satunya pada membran sel membentuk suatu radikal bebas lipida. Dalam suasana aerob, radikal bebas lipida bereaksi dengan molekul oksigen membentuk radikal

bebas radikal lipid peroksida yang selanjutnya akan mengikat atom hidrogen dari asam lemak tak jenuh, sehingga terbentuk lipida hiperoksida yang akan dapat merusak bagian sel dimana hidropersia berada. Dalam tubuh radikal bebas lipida akan terurai antara lain menjadi malondialdehida (MDA) yang merupakan indikator bahwa dalam tubuh terdapat radikal bebas. Ketidakstabilan struktur membran akan berpengaruh juga pada fluiditas membran sel, sehingga transport antar membran di dalam sel dan mekanisme sel terganggu. Selain lipid, radikal bebas juga mudah berikatan dengan protein dan asam amino, sehingga dapat mengganggu fungsi enzim dan akan berakibat pada kerusakan sel mulai dari degenerasi hingga nekrosis. Oleh karena itu, nefrotoksin dapat menyebabkan gangguan metabolisme energi pada sel-sel ginjal baik secara langsung maupun tidak langsung dan mengakibatkan cedera sel bahkan insufisiensi ginjal akut.^{38,39}

Penelitian mengenai paparan kronik metanil yellow yang diberikan pada tikus albino (*Rattus norvegicus*) selama 30 hari dengan dosis 3000 mg/kgBB, didapatkan perubahan gambaran mikroskopis pada lambung, usus, hati, dan ginjal.³³ Hal demikian ditemukan juga pada penelitian yang dilakukan oleh Anthony Susilo mengenai efek pemberian metanil yellow dosis bertingkat selama 30 hari terhadap gambaran mikroskopis ginjal mencit menunjukkan terdapat perubahan tubulus ginjal berupa degenerasi tubulus hingga nekrosis tubulus. Dosis yang digunakan pada penelitian tersebut adalah $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, x, dan 1x dosis subletal (4200 mg/kgBB/hari mencit).⁸ Berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya, pada penelitian ini digunakan satu dosis yang sudah dapat

menunjukkan kerusakan tubulus ginjal berupa degenerasi dan nekrosis yaitu $\frac{3}{4}$ x dosis subletal (3150 mg/kgBB/hari mencit).

2.3 Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)

2.3.1 Taksonomi

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Sub divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida (Dicotyledoneae)</i>
Sub kelas	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Euphorbiales</i>
Famili	: <i>Euphorbiaceae</i>
Genus	: <i>Phyllanthus</i> (L) Murr.
Spesies	: <i>Phyllanthus niruri</i> L.



Gambar 6. Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)

2.3.2 Deskripsi *Phyllanthus niruri* L.

Phyllanthus niruri berasal dari India, tumbuhan ini biasanya menjadi gulma pada musim dingin. Genus *Phyllanthus* terdiri lebih dari 600 jenis semak. Pohon dan tumbuhan tahunan atau dua tahunan ini tersebar di seluruh daerah tropis dan subtropis. *Phyllanthus niruri* adalah salah satu ramuan dari famili Euphorbiaceae yang dapat tumbuh hingga mencapai tinggi 60 cm. *Phyllanthus* berarti "daun dan bunga" karena bunga beserta buahnya tampak menjadisatu dengan daun. *Phyllanthus niruri* adalah gulma musin hujan yang sering ditemukan di ladang dan lahan terlantar. Baru-baru ini meniran menarik perhatian banyak peneliti karena sifat hepatoprotektifnya.¹¹ Selain itu, *Phyllanthus niruri* L. telah terbukti dapat mengobati berbagai penyakitseperti disentri, flu, vaginitis, tumor, diabetes, diuretik, batu kuning, ginjal, dispepsia, serta memiliki efek sebagai antihepatotoksik, antihepatitis-B, antihiperlikemia, antivirus, dan antibakteri.⁴¹

Meniran merupakan salah satu tumbuhan tahunan dengan tinggi sekitar 30-60 cm. Batang meniran berbentuk bulat berbatang basah, tidak berambut, berwarna hijau, dan diameternya ± 3 mm. Daun meniran berbentuk bulat telur, majemuk, berseling, ujung tumpul, pangkal membulat, anak daun 15-24, panjang $\pm 1,5$ cm, lebar ± 7 mm, tepi rata, dan berwarna hijau. Meniran memiliki bunga tunggal, melekat pada ketiak daun menghadap ke arah bawah, menggantung, berwarna putih, daun kelopak berbentuk bintang, benang sari dan putik tidak nampak jelas, mahkota bunga kecil, dan berwarna putih. Buahnya berbentuk bulat pipih, permukaannya licin, dan berwarna hijau, sedangkan bijinya kecil, keras, berbentuk ginjal dan berwarna coklat. Akar meniran berbentuk tunggang, yaitu

akar utama yang pada umumnya merupakan pengembangan radikula lembaga, tumbuh tegak ke bawah, dan bercabang. Pada tumbuhan meniran dewasa, panjang akar dapat mencapai 6 cm dengan warna putih kekuningan. Akar meniran berfungsi untuk memperkuat berdirinya tumbuhan tersebut serta menyerap air dan unsur hara.^{11,42}

2.3.3 Kandungan Zat pada *Phyllanthus niruri L.*

Herba meniran (*Phyllanthus niruri L.*) mempunyai kandungan kimia dan efek farmakologis. Beberapa zat aktif fitokimia yang terdapat pada ekstrak meniran adalah flavonoid, alkaloid, terpenoid, lignan, polifenol, tannin, coumarin dan saponin.^{42,43}

a. Flavonoid

Golongan flavonoid yang telah diisolasi yaitu *quercetin*, *rutin*, *astragalin*, *quercitrin*, *isoquercitrin*, *kaempferol-4'-rhamnopyranoside*, *eridictyol-7-rhamnopyranoside*, *fisetin-4'-O-glucoside*, *quercetin-3-Oglucopyranoside*, *kaempferol-3-O-rutinosid*. Dari bermacam-macam golongan flavonoid tersebut, efek dari flavonoid adalah sebagai antioksidan terhadap radikal bebas, anti-agregat, anti-fungal (anti-dermatofita), anti-inflamasi, anti-septik, anti-spasmodik, serta diuretik kuat.^{42,43}

2) Alkaloid

Golongan alkaloid yang telah diisolasi dari tumbuhan ini, yaitu *nonsecurinine*, *deca-trans-2-cis-4-dienamide*, *octa-trans-2-trans-4-*

dienamide dan *pentacosanol ester* dengan efek sebagai anti-spasmodik, anti-bakteri, anti-parasit (anti-malaria dan anti-babesia).^{42,43}

3) Terpenoid

Golongan terpenoid yang telah diisolasi yaitu *lupeol*, *lupeol acetate*, *phyllantenol*, *phyllantenone*, *phyllanteol*, *tetracosahexa-cis-2- cis-6-cis-10-trans-14-trans-18-trans-22-en-1-ol,3-7-11-15-19-23-hexamethyl*, *limonene*, *phytol*, *phyllanthusone*. Terpenoid memiliki efek sebagai anti-karsinogenik, anti-mikroba, anti-oksidan, anti-inflamasi.^{42,43}

4) Lignan

Golongan lignan yang terkandung dalam tumbuhan ini yaitu *1,4-diarylbutane* (*phyllanthin*, *niranthin secoisolariciresinoltrimethyl ether*, *hydroxy-niranthin*, *nirphyllin* , *2,3-desmethoxy seco-iso-lintetralin* , *2,3-desmethoxy seco-isolintetralindiacetate*. Secara umum, lignan dalam meniran mempunyai efek hepatoprotektif, anti-genotoksik, anti-inflamasi dengan mencegah influks neutrophil, anti-tumor, dan lain-lain.^{42,43}

5) Courmarin, tanin dan polifenol

Golongan courmarin, tanin dan polifenol yang telah diisolasi dari tumbuhan ini yaitu, *brevifolin carboxylicacid*, *ethyl brevifolin carboxylate*, *methyl brevifolin carboxylate*, *geraniin*, *corilagin*, *phyllanthusiin D*, *amariin*. Efek dari golongan-golongan senyawa ini secara umum adalah sebagai anti-karsinogenik, anti-viral (HIV), dan vasorelaksan dengan mencegah vasokonstriksi yang diinduksi noradrenalin.^{42,43,44}

- 6) Saponin yang mempunyai efek sebagai anti-fungal dan turut serta mempengaruhi kerja sistem kardiovaskuler.^{42,43}
- 7) Benzenoid, berupa *gallic acid* dan *corilagin* mempunyai efek mencegah aktivitas *plasminogen-activator-inhibitor-1* (PAI-1) dalam plasma tikus atau *platelet released substances* ketika hal tersebut justru meningkatkan aktivitas *plasmatissue-type plasminogen* (tPA).^{42,43}
- 8) Lipid berupa *ricinoleic acid*.
- 9) Phyllate berupa *phyllester*.
- 10) Sterol berupa *estradiol*, *b-sitosterol*, dan *isopropyl-24-cholesterol*.^{42,43}

2.3.4 Pengaruh *Phyllanthus niruri L.* terhadap ginjal

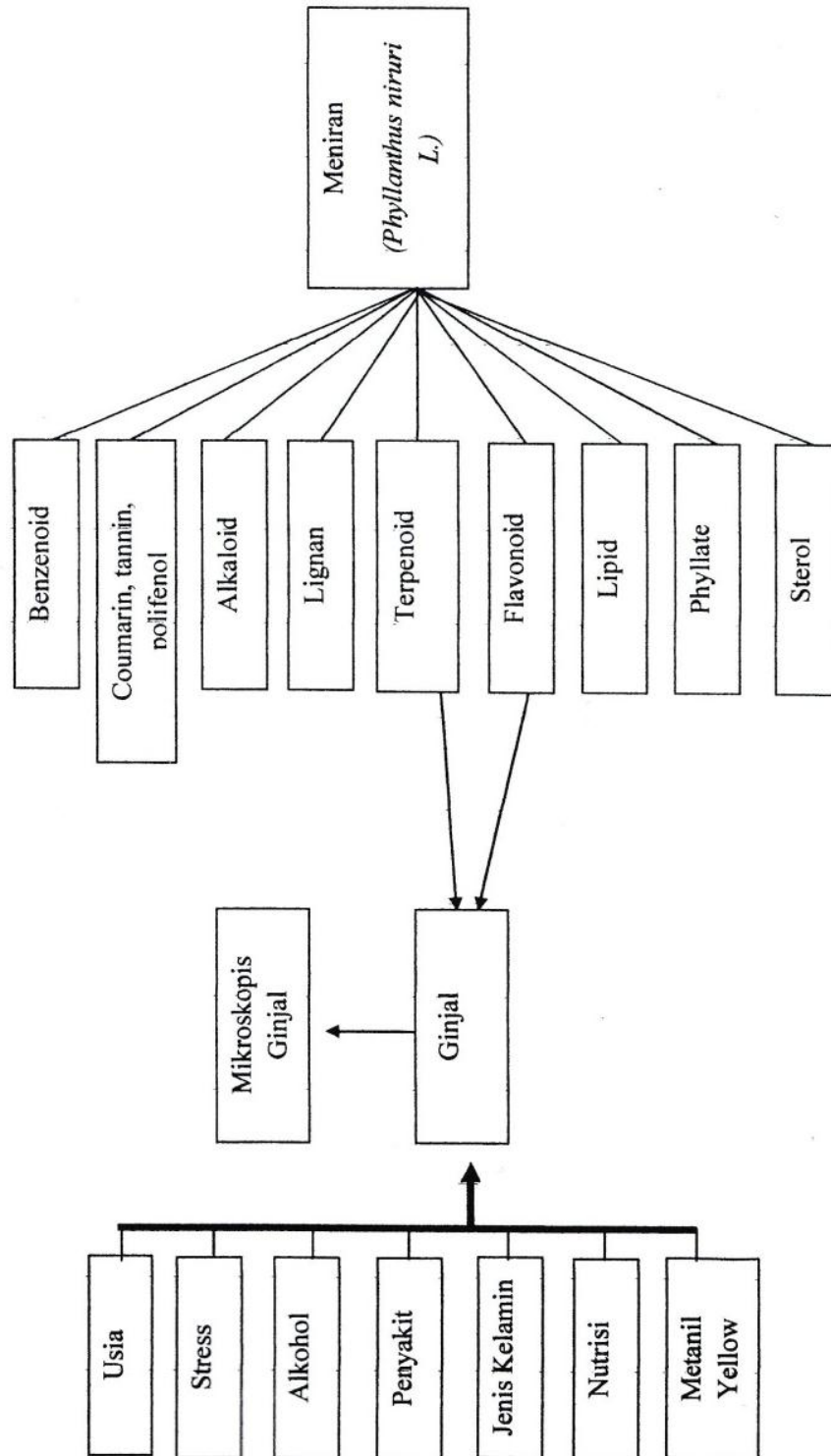
Tumbuhan meniran (*Phyllanthus niruri L.*) mempunyai banyak kandungan senyawa yang bermanfaat bagi tubuh terutama flavonoid serta terpenoid sebagai antioksidan sekaligus anti-inflamasi yang terkandung dalam daun, batang, serta akar meniran. Efek antioksidan yang didapatkan dari senyawa-senyawa tersebut telah terbukti dapat menangkal radikal bebas yang menyebabkan kerusakan sel, jaringan, hingga organ karena senyawa tersebut dapat memberikan atom hidrogen pada radikal lipid sehingga radikal lipid akan berubah menjadi bentuk lebih stabil dan tidak mengakibatkan kerusakan jaringan lebih lanjut.^{10,41}

Menurut salah satu penelitian oleh A.P. Manjrekar bersama kawan-kawan dari *Kastuba Medical Collage* India menjelaskan bahwa terhadap perubahan peningkatan kadar glutathione (GSH) sebagai antioksidan dan penurunan kadar malondialdehida (MDA) yang merupakan marker peningkatan radikal bebas

dalam tubuh setelah pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri L.* pada tikus Wistar jantan albino yang diinduksi CCl_4 . Hal tersebut memberikan efek nyata terhadap gambaran mikroskopis ginjal tikus yang menunjukkan lebih rendahnya tingkat inflamasi dan jumlah silinder eosinophil pada tikus yang diinduksi CCl_4 dan diberikan ekstrak *Phyllanthus niruri L.* dibandingkan dengan yang tidak diberikan ekstrak meniran tersebut. Diduga efek anti-radikal bebas oleh GSH yang terkandung dalam *Phyllanthus niruri L.* tersebut oleh karena fungsi penghambatan enzim lipid peroksidase yang bekerja dalam pembentukan MDA, sehingga dapat mengurangi inflamasi dan kerusakan sel-sel tubulus ginjal.⁴¹

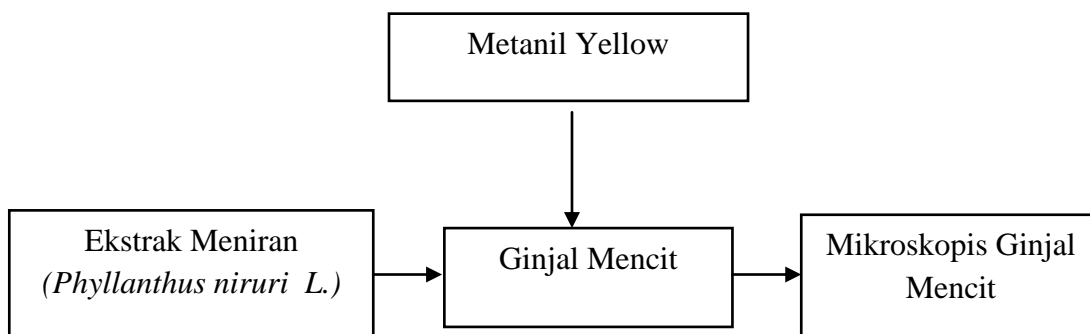
Selain itu, penelitian oleh Rahmi Ardhini dari Universitas Diponegoro tentang pengaruh pemberian ekstrak meniran (*Phyllanthus sp.*) terhadap gambaran mikroskopik ginjal tikus wistar yang diinduksi karbon tetraklorida mendapatkan lebih sedikitnya tubulus ginjal yang mengalami degenerasi dan nekrosis pada pemberian ekstrak meniran daripada yang tidak diberikan ekstrak meniran dengan induksi karbon tetraklorida. Dosis meniran yang diberikan untuk mencegah kerusakan sel tubulus dalam penelitian tersebut adalah 0,1% sebanyak 2 cc/hari selama 21 hari. Berdasarkan beberapa penelitian tersebut, dapat disimpulkan bahwa terdapat efek protektif ekstrak meniran terhadap gambaran mikroskopis ginjal mencit atau tikus yang diinduksi bermacam-macam radikal bebas.¹²

2.4 Kerangka Teori



Gambar 7. Kerangka Teori Penelitian

2.5 Kerangka Konsep



Gambar 8. Kerangka Konsep Penelitian

2.6 Hipotesis

2.6.1 Hipotesis Mayor

Terdapat pengaruh pemberian ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dosis bertingkat terhadap gambaran mikroskopis ginjal mencit Balb/C yang diinduksi metanil yellow.

2.6.2 Hipotesis Minor

1. Terdapat perbedaan gambaran mikroskopis ginjal mencit Balb/c antara kelompok pemberian metanil yellow peroral 63 mg dalam 0,3 ml air/hari selama 30 hari dengan kelompok kontrol.
2. Terdapat perbedaan gambaran mikroskopis ginjal mencit Balb/c antara kelompok pemberian metanil yellow peroral 63 mg dalam 0,3

ml air/hari dan ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dosis 1,4 mg dalam 0,3 ml air/hari selama 30 hari dengan kelompok kontrol.

3. Terdapat perbedaan gambaran mikroskopis ginjal mencit Balb/c antara kelompok pemberian metanil yellow peroral peroral 63 mg dalam 0,3 ml air/hari dan ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dosis 2,8 mg dalam 0,3 ml air /hari selama 30 hari dengan kelompok kontrol.
4. Terdapat perbedaan gambaran mikroskopis ginjal mencit Balb/c antara kelompok pemberian metanil yellow peroral peroral 63 mg dalam 0,3 ml air/hari dan ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dosis 5,6 mg dalam 0,3 ml air/hari selama 30 hari dengan kelompok kontrol.
5. Terdapat perbedaan gambaran mikroskopis ginjal mencit Balb/c antar kelompok perlakuan.