



Uji Toksisitas Akut Ekstrak Valerian (*Valerian Officinalis*)

Terhadap Ginjal Mencit Balb/C

LAPORAN PENELITIAN KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh Program
Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran

Disusun oleh:

Nira Muniroh Al-Munawar

NIM : G2A005133

FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO

SEMARANG

2009

Valerian (Valeriana officinalis) Extract Acute Toxicity Test of Balb/C Mice's Kidney

Nira Muniroh Al-Munawar¹, Noor Wijayahadi²

Abstract

Background: Valerian (*Valeriana officinalis*) is herbal that has sedative effect and being used for solving insomnia nowadays. Valerian is excreted by the kidney, whereas it contains Cd and Pb that already known as nephrotoxic agents. This study is aiming to know whether any effect of Valerian treatment to macroscopic and microscopic appearance in Balb/C mice's kidney.

Method: This experimental Post Test-Controlled Only Group Design study was using 25 male mice that divided into 5 groups, one control group (K) that had been given standard food, and 4 treatment groups (P1, P2, P3, P4) that had been given Valerian treatment in 5 mg/kg BW, 50 mg/kg BW, 500 mg/kg BW, and 2000 mg/kg BW dosages via gastric sonde once, and being observed for a week. On 8th day, those mice was terminated to be measured the kidney's volume and to be observed that hystopathological appearance. Macroscopic data was analyzed by Kruskal-Wallis test, and the microscopic data was analyzed by Oneway-Anova test and continued by Post-Hoc test.

Result: There was no significant difference in kidney's macroscopic appearance among groups ($p = 0.058$), whereas there was significant difference in kidney's microscopic appearance, there were; K-P1 with $p = 0.015$, K-P2,P3,P4, P1-P3,P4, P2-P4 with $p = 0.000$, P2-P3 with $p = 0.002$, and P3-P4 with $p = 0.006$, but there was no significant difference between P1-P2 with $p = 0.083$.

Conclusion: Acute extract Valerian root treatment had no effect for the macroscopic appearance of Balb/C mice's kidney, but that affected the microscopic appearance for that organ.

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

¹ Undergraduate student, Medical Faculty of Undip, Semarang

² Lecturer, Department of Clinical Farmacology, Medical Faculty of Undip, Semarang

Uji Toksisitas Akut Valerian (*Valeriana officinalis*) Terhadap Ginjal Mencit Balb/c

Nira Muniroh Al-Munawar¹, Noor Wijayahadi²

Abstrak

Latar belakang: Valerian (*Valeriana officinalis*) merupakan herbal yang memiliki efek sedatif yang kini mulai digunakan untuk menanggulangi masalah gangguan tidur. Valerian diekskresi melalui ginjal, sedangkan herbal ini mengandung Cd dan Pb yang bersifat nefrotoksik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya efek pemberian Valerian secara akut terhadap gambaran makroskopis dan mikroskopis ginjal.

Metode: Penelitian eksperimental dengan rancangan *Post Test-Controlled Only Group Design* ini menggunakan 25 ekor mencit Balb/C jantan, dibagi menjadi 5 kelompok secara random, yaitu satu kelompok kontrol (K) diberi pakan standar, dan 4 kelompok perlakuan (P1, P2, P3, P4) masing-masing diberi ekstrak akar Valerian dengan dosis 5 mg/kg BB, 50 mg/kg BB, 500 mg/kg BB, dan 2000 mg/kg BB lewat sonde lambung 1 kali, dan diamati 1 minggu. Pada hari ke-8 mencit diterminasi untuk diukur volume ginjal dan diamati gambaran histopatologinya. Data makroskopis dianalisis dengan uji *Kruskal-Wallis* sedangkan data mikroskopis dianalisis dengan uji *Oneway-Anova* dilanjutkan uji *Post-Hoc*.

Hasil: Tidak terdapat perbedaan gambaran makroskopis secara bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan ($p = 0.058$), sedangkan terdapat perbedaan bermakna pada pengamatan terhadap gambaran mikroskopis ginjal antar kelompok yaitu; K-P1 dengan nilai $p = 0.015$, K-P2,P3,P4, P1-P3,P4, P2-P4 dengan $p = 0.000$, P2-P3 dengan $p = 0.002$, dan P3-P4 dengan $p = 0.006$. Namun, tidak ditemukan adanya perbedaan gambaran mikroskopis yang bermakna antara P1-P2 dengan $p = 0.083$.

Kesimpulan: Pemberian ekstrak akar Valerian secara akut tidak memberikan dampak pada penampakan makroskopis ginjal mencit Balb/C, namun memberikan efek bagi gambaran mikroskopis organ tersebut.

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

¹ Mahasiswa Fakultas Kedokteran Undip, Semarang

² Staf Pengajar, Ilmu Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran Undip, Semarang

DAFTAR ISI

Abstrak.....	i
Daftar isi.....	iii
Daftar tabel.....	vi
Daftar gambar.....	vii
1. PENDAHULUAN	
1.1. Latar belakang.....	1
1.2. Perumusan masalah.....	2
1.3. Tujuan penelitian.....	2
1.3.1. Tujuan umum.....	2
1.3.2. Tujuan khusus.....	3
1.4. Manfaat penelitian.....	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Hubungan Antara <i>Valerian Officinalis</i> dengan Ginjal.....	4
2.2. Kerangka teori.....	9

2.3. Kerangka konsep.....	9
2.4. Hipotesis.....	10
3. METODE PENELITIAN	
3.1. Ruang lingkup penelitian.....	11
3.2. Jenis Penelitian.....	11
3.3. Populasi dan Sampel Penelitian.....	12
3.4. Variabel Penelitian.....	13
3.5. Alat dan Bahan.....	13
3.6. Data yang Dikumpulkan.....	15
3.7. Cara Kerja.....	15
3.8. Alur Kerja.....	16
3.9. Definisi Operasional.....	16
3.10. Pengumpulan Data.....	17
3.11. Pengolahan dan analisis data.....	17
4. HASIL PENELITIAN.....	18
5. PEMBAHASAN.....	22

6. KESIMPULAN DAN SARAN.....	25
DAFTAR PUSTAKA.....	26
LAMPIRAN.....	27

DAFTAR TABEL

Tabel 1.....	27
Tabel 2.....	29
Tabel 3.....	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.....	28
Gambar 2.....	30

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Valerian adalah herbal yang digunakan untuk mengatasi anxiety dan insomnia. Di Amerika, herbal ini adalah campuran yang paling sering digunakan untuk terapi gangguan tersebut.¹ Substansi sisa yang terkandung dalam Valerian akan dikeluarkan dari tubuh melalui empedu dalam feses dan melalui ginjal.²

Berdasarkan studi menggunakan spektrofotometer, di dapatkan bahwa Valerian mengandung Al, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mn, Ni, Pb, V, dan Zn di dalamnya, kadar Pb di dalamnya sekitar 10-100 mg/kg, sedangkan kadar Cd mencapai 0.0125mg/kg.³ Sebagian metabolitnya akan mengalami ekskresi melalui ginjal. Ginjal adalah organ yang merupakan gabungan dari unit struktural bernama nefron. Nefron sendiri terdiri atas glomerulus dan tubulus yang berfungsi membuang bahan-bahan sampah dari hasil pencernaan atau metabolisme dan mengontrol volume dan komposisi cairan tubuh. Fungsi pengaturan ginjal ini memelihara kestabilan lingkungan sel-sel yang diperlukan untuk melakukan berbagai macam aktivitasnya. Jalannya fungsi

ginjal tersebut dapat terganggu akibat kerusakan komponennya. Salah satu penyebabnya adalah toksin berupa logam berat.¹

Mengingat Valerian mengandung logam berat Pb dan Cd yang bersifat nefrotoksik, hal ini mendorong peneliti untuk menguji sejauh mana kerusakan yang ditimbulkan zat-zat toksin tersebut pada ginjal, baik secara makroskopis maupun mikroskopis, dengan judul “Uji Toksisitas Akut Valerian (*Valerian Officinalis*) terhadap Ginjal Mencit Balb/C”.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah pengaruh pemberian ekstrak Valerian secara akut terhadap ginjal mencit Balb/c?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Menilai pengaruh dari pemberian ekstrak Vallerian dengan dosis bertingkat terhadap gambaran makroskopis dan mikroskopis ginjal mencit Balb/c.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Membandingkan gambaran makroskopis ginjal mencit balb/c kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pemberian ekstrak Valerian.
- b. Membandingkan gambaran mikroskopis ginjal mencit Balb/c antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.
- c. Membandingkan gambaran makroskopis ginjal mencit Balb/c antara kelompok perlakuan yang satu dengan kelompok perlakuan yang lain.
- d. Membandingkan gambaran mikroskopis ginjal mencit Balb/c antara kelompok perlakuan yang satu dengan kelompok perlakuan yang lain.

1.4. Manfaat Penelitian

- a. Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai pengaruh dari penggunaan ekstrak *Vallerian officinalis* dengan dosis bertingkat terhadap gambaran makroskopis dan mikroskopis ginjal mencit Balb/c.
- b. Memberi bahan pertimbangan bagi penelitian yang lebih lanjut mengenai bahan-bahan toksik pada *Vallerian officinalis*.

- c. Sebagai awal bagi penelitian yang lebih lanjut dan studi mengenai penggunaan medis dari *Vallerian officinalis*.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

Patologi Ginjal

Zat dikeluarkan tubuh melalui organ ekskresi, dan ginjal merupakan yang terpenting.¹ Ekskresi ginjal dapat berefek samping, baik karena toksin, obat, atau konsentrasi tinggi zat yang potensial merusak, menyebabkan nekrosis tubular akut (NTA), nefritis intersisialis akibat obat, dan membranoglomerulonephritis (MGN).^{4,5}

Nekrosis tubuler akut adalah kesatuan klinikopatologik yang ditandai secara morfologik oleh destruksi sel epitel tubulus dan secara klinik oleh supresi akut fungsi ginjal.⁵ NTA dapat dibedakan atas NTA iskemik dan NTA nefrotoksik. NTA iskemik timbul pada beberapa kondisi klinis, seperti trauma, terbakar, infeksi yang penderitanya mengalami syok, transfusi darah yang tidak sesuai, dan kegawatan hemolitik lain seperti mioglobinuria. Pada NTA iskemik ginjal menjadi pucat dan bengkak. Gambaran histologisnya menunjukkan adanya nekrosis segmen-segmen pendek tubulus. Kebanyakan lesi terlihat pada bagian lurus tubuli proksimalis, tetapi tidak ada segmen tubuli proksimalis atau

tubuli distalis yang tersisa baik. Nekrosis tubulus biasanya disertai robekan membrana basalis (tubuloreksis) dan edema intersisium generalisata. Kast sering terjadi pada bagian distal tubulus dan duktus kolektivus, yang terbentuk dari kumpulan debris seluler dan protein termasuk protein Tamm-Horsfall. Pada kasus NTA sebagai akibat jejas traumatik, mioglobin ditemukan dalam kast. Apabila NTA sebagai akibat dari kesalahan pencocokan darah pada transfusi, hemoglobin dapat pula ditemukan.^{4,5} NTA nefrotoksik disebabkan oleh berbagai bahan seperti logam berat (timah, merkuri, arsenik, emas, kromium, arsenik, bismuth, dan uranium), pelarut organik (karbon tetraklorida dan kloroform), glikol (etilen glikol, propilen glikol dioksan, dan dietilen glikol), bahan obat (antibiotik seperti metisilin, sulfonamida, polimiksin, dan sefalopirin; obat anti inflamasi non steroid; diuretik merkuri; anestetik seperti metoksi fluran), media kontras *iodinated radiographic*, fenol, pestisida, dan parakuat.¹⁸ Pada NTA nefrotoksik ginjal bengkak, berwarna merah, dan sering ditemukan vakuolisasi sitoplasma sel epitel tubulus. Kerusakan terbanyak di tubulus proksimal, jarang di tubulus distal. Tampak adanya degenerasi tubulus proksimal yang mengandung debris, tetapi membrana basalis utuh.^{4,5}

NTA merupakan penyebab terpenting dari gagal ginjal akut. Klinisnya adalah oliguria yang dilanjutkan diuresis. Adanya kerusakan tubulus menyebabkan retensi cairan, sehingga terjadi uremia, hiperkalemia, peningkatan *blood urea nitrogen* (BUN) sekitar 25 sampai 30 mg/dl setiap hari, dan

kreatinin meningkat kira-kira 2,5mg/dl setiap hari.^{4,6} 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.^{5,6} Tampak pula peningkatan ketidakebalan terhadap infeksi sehingga kurang lebih 25% kematian akibat NTA terjadi selama fase diuretik.⁴

MGN adalah penyakit kompleks imun.⁵ Pada sebagian kecil etiologinya dapat diidentifikasi yang meliputi infeksi (hepatitis B kronis, sifilis, malaria, dan skistosomiasis), tumor ganas (karsinoma paru, kolon, dan melanoma), SLE dan kondisi autoimun lainnya, paparan garam anorganik (emas dan merkuri), dan obat-obatan (kaptopril, penisilamin, dan NSAID) tetapi, sekitar 85% penderita MGN mempunyai penyebab yang tidak diketahui.^{4,5} MGN lebih sering ditemukan pada orang dewasa pada dekade kelima sampai ketujuh.⁴ MGN merupakan 35%-50% kasus sindroma nefrotik pada dewasa. Sebagian besar ditandai proteinuria berat, atau pada tahap nefrotik, sebagian kecil disertai hematuria mikroskopis.^{4,5,7} Patologinya adalah penebalan hialin difus pada membran basalis kapiler, tetapi glomerulus tidak hiperseluler.⁴ Pemeriksaan imunopatologis menunjukkan adanya deposit granuler dari Ig G dan C3 pada dinding kapiler yang menebal. Ketika penyakit berlanjut, glomeruli menjadi sklerosis dan akhirnya mengalami hialinisasi lengkap.⁸

Ada juga kelainan pada ginjal karena reaksi imunologis terhadap obat-obatan, yaitu nefritis interstisial akibat obat. Nefritis interstisial akibat obat terbagi atas nefritis interstisial akut akibat obat (NIAO) dan nefropati analgesik (NA). NIAO merupakan efek samping obat-obatan yang umumnya terjadi karena NSAID, diuretik tiazid, penisilin sintetik (ampisilin dan metisilin), antibiotik lain seperti rifampisin, dan obat-obatan lain seperti simetidin dan fenidion.^{7,5} Klinis dapat terjadi febris, eosinofilia, hematuria, proteinuria, dan atralgia. Gambaran morfologiknya terlihat interstisium sembab disertai sebukan sel mononuklear, terutama limfosit dan makrofag. Kadang-kadang terdapat eosinofil dan netrofil. Pada beberapa obat dapat timbul granuloma dengan reaksi sel datia (misalnya metisilin dan tiazid). Glomerulus biasanya tidak mengalami kelainan, kecuali pada NSAID dapat timbul sindroma nefrotik atau kelainan minimal glomerulus. Nefropati analgesik timbul pada penderita yang mengkonsumsi obat analgesik dalam jumlah besar. NA kadang diikuti dengan nekrosis papila ginjal. NA lebih sering timbul bila penderita minum campuran obat misalnya kombinasi fenasetin, aspirin, dan asetaminofen.^{5,7} Kerusakan ginjal dapat terjadi secara langsung pada sel atau akibat gangguan sirkulasi darah (iskemi). Gejala kliniknya meliputi hipertensi, anemia dan GGK. Gambaran morfologiknya tampak papila nekrotik, berwarna coklat kekuningan disertai timbunan hasil metabolisme fenasetin atau pigmen mirip lipofusin, kemudian papila hancur dan lepas dalam pelvis ginjal. Mikroskopik tampak papila mengalami nekrosis koagulativa, disertai kalsifikasi distrofik.^{5,9} Korteks

mengalami atrofi, fibrosis interstisial, dan sebaran sel radang. Dinding pembuluh darah kecil dalam papila dan submukosa saluran kemih menunjukkan gambaran khas penebalan membran basal yang positif pada pulasan PAS.⁷

2.1. Hubungan antara *Valerian officinalis* dengan Ginjal

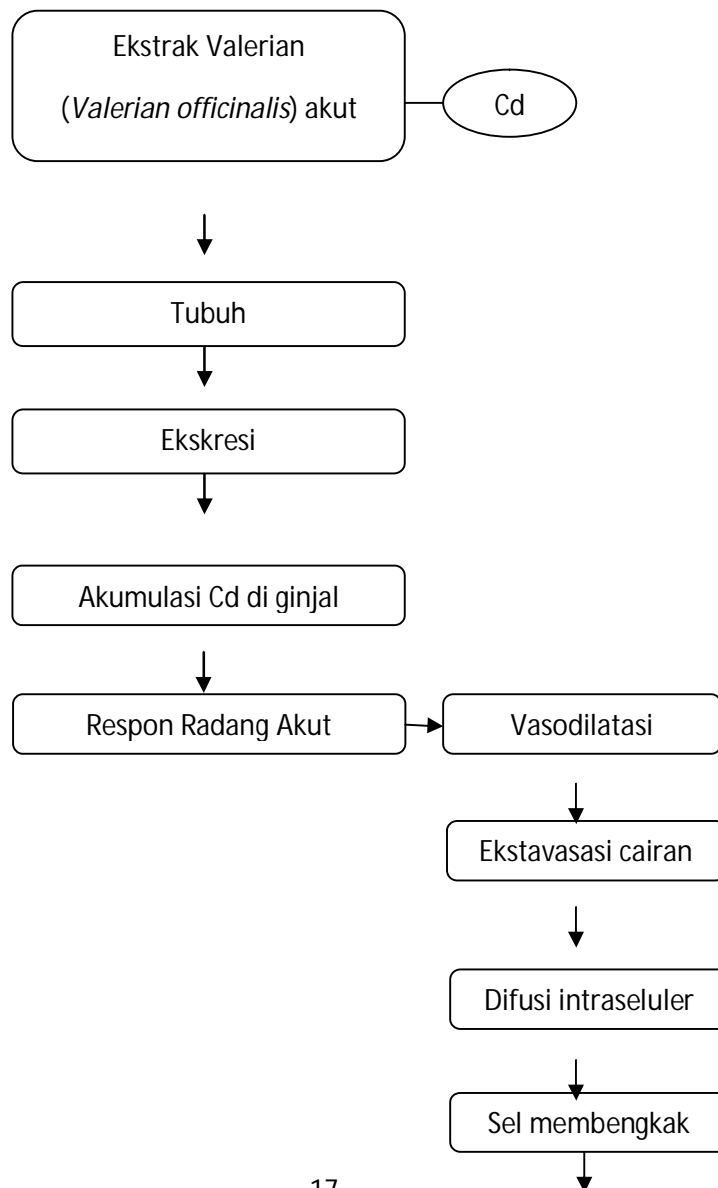
Valerian memiliki berbagai macam kandungan zat, di antaranya adalah logam berat Pb dan Cd yang sangat potensial menyebabkan kerusakan pada ginjal. Selain itu, beberapa metabolit valerian yang berupa mineral seperti Ca, akan diekskresi melalui ginjal. Sedangkan telah diketahui sebelumnya bahwa epitel tubulus ginjal mudah hancur akibat zat-zat yang diekskresikannya.

Logam berat Cd dapat menimbulkan kerusakan ginjal, dan struktur yang pertama kali mengalami kerusakan adalah tubulus ginjal. Akumulasi Cd di ginjal menimbulkan reaksi inflamasi, yaitu vasodilatasi, diikuti ekstravasasi plasma yang tentunya menimbulkan penumpukan cairan pada jaringan interstisial. Cairan yang hipertonis di jaringan interstisial ini menyebabkan mekanisme difusi berlangsung, yaitu tertariknya cairan tersebut menuju intrasel, yang pada akhirnya menyebabkan pembengkakan sel.¹⁰ Tubulus ginjal merupakan suatu pipa yang dibatasi epitel, apabila epitel ini mengalami pembengkakan, maka lumen tubulus tersebut akan tertutup. Jejas pada tubulus ini juga dapat ditandai dengan meningkatnya ekskresi protein BM rendah [seperti β_2 -microglobulin and α_1 -microglobulin (protein HC)] dan beberapa

enzim [seperti N-Acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG)], selain juga dapat dilihat dari gambaran mikroskopisnya.¹¹

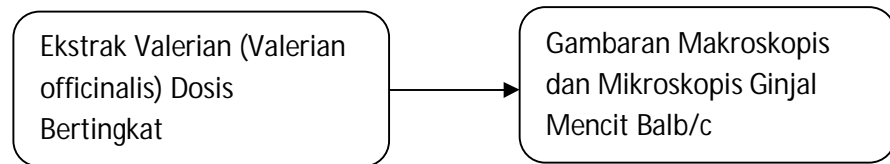
Nefrotoksisitas Valerian belum terbukti, namun zat-zat yang terdapat dalam Valerian mengindikasikan bahwa dalam jumlah tertentu Valerian dapat menyebabkan kerusakan pada ginjal.

2.2. Kerangka Teori



Penutupan Tubulus

2.3. Kerangka Konsep



2.4. Hipotesis

1. Terdapat perbedaan gambaran makroskopis ginjal mencit Balb/c antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.
2. Terdapat perbedaan gambaran mikroskopis ginjal mencit Balb/c antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.
3. Terdapat perbedaan gambaran makroskopis ginjal mencit Balb/c antara kelompok perlakuan yang satu dengan kelompok perlakuan yang lain.

4. Terdapat perbedaan gambaran mikroskopis ginjal mencit Balb/c antara kelompok perlakuan yang satu dengan kelompok perlakuan yang lain.

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Ruang Lingkup Penelitian

3.1.1. Ruang Lingkup Keilmuan

Penelitian meliputi bidang farmakologi dan histologi

3.1.2. Ruang Lingkup Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan di laboratorium histologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang pada bulan Mei 2009. Pengumpulan data dilakukan selama 2 minggu.

3.2. Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan *the post test only controled group design*. Penelitian menggunakan 5 kelompok, yaitu 4 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol, dengan randomisasi sederhana. Penelitian hanya dilakukan saat *post test*, dengan membandingkan hasil observasi pada kelompok perlakuan dan kontrol.

3.3. Populasi dan Sampel Penelitian

3.1.1. Populasi Penelitian

a) Populasi Target

Adalah mencit Balb/c jantan

b) Populasi Terjangkau

Adalah mencit Balb/c jantan, umur 2-3 bulan, berat badan 25-35 gram, sehat, tidak ada kelainan anatomis, yang diperoleh dari Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan (UPHP) Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

3.1.2. Sampel Penelitian

3.3.2.1. Cara Pengambilan Sampel

Sampel penelitian diambil secara acak (random) dari populasi terjangkau dengan kriteria sebagai berikut:

1. Kriteria Inklusi

- a. Mencit Balb/c
- b. Jantan
- c. Umur 2-3 bulan
- d. Berat badan 25-35 gram
- e. Sehat
- f. Tidak ada kelainan anatomis

2. Kriteria Eksklusi

- a. Terjadi kecacatan anatomis selama penelitian.

3.3.2.2. Besar Sampel

Penentuan besar sampel berdasarkan ketentuan WHO dengan jumlah sampel minimal 5 ekor tiap kelompok.²³

Penelitian ini terdiri dari 4 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol dengan 5 sampel pada masing-masing kelompok sehingga jumlah sampel yang dibutuhkan sebanyak 25 ekor.

3.4. Variabel Penelitian

3.4.1. Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian ini adalah pemberian ekstrak valerian dosis bertingkat.

3.4.2. Variabel Tergantung

Variabel tergantung penelitian ini adalah gambaran makroskopis ginjal mencit Balb/c yang diwakili oleh volume ginjal rata-rata, dan mikroskopis ginjal mencit Balb/c yang diukur dari jumlah kerusakan tubulus kontortus proksimal.

3.5. Alat dan Bahan

3.6.1. Alat

1. Kandang mencit
2. Sonde lambung

3. Alat untuk mengambil organ (bedah minor)
4. Mikroskop inverted
5. Neraca analitik
6. Gelas ukur
7. Alat untuk membuat preparat histologi (mikrotom, oven, cetakan parafin)
8. Alat untuk melihat histologis ginjal (*deck glass, object glass, mikroskop cahaya*)
9. Botol-botol

3.6.2. Bahan

1. Mencit Balb/c
2. Ekstrak alkohol 70% akar Valerian
3. Bahan-bahan untuk metode baku histologi pemeriksaan jaringan

yaitu :

i. Larutan formalin 10%

ii. Parafin

iii. Albumin

iv. Hematoksilin eosin

v. Larutan xylol

vi. Alkohol bertingkat 30%, 40%, 50%, 70%, 80%, 90%, 96%

Aquades

4. Makanan dan minuman mencit

3.6. Data Yang Dikumpulkan

Data yang dikumpulkan pada penelitian ini adalah data primer hasil pengamatan gambaran makroskopis dan mikroskopis ginjal mencit Balb/c dari kelompok perlakuan yang dibandingkan dengan kelompok kontrol.

3.7. Cara Kerja

Sebelum mendapat perlakuan, 25 ekor mencit Balb/c mengalami masa adaptasi dengan dikandangkan individual dan diberi pakan standar selama seminggu secara *ad libitum*. Tikus tersebut lalu dibagi menjadi 5 kelompok yang ditentukan secara acak. Kelima kelompok tersebut adalah :

Kelompok kontrol (K) : diberi air (pelarut)

Kelompok perlakuan 1 (P1) : diberi ekstrak valerian dengan dosis 5 mg/kg
BB

Kelompok perlakuan 2 (P2) : diberi ekstrak valerian dengan dosis 50 mg/kg
BB

Kelompok perlakuan 3 (P3) : diberi ekstrak valerian dengan dosis 500
mg/kg BB

Kelompok perlakuan 4 (P4) : diberi ekstrak valerian dengan dosis 2000 mg/kg BB

Mencit diperlakukan seperti di atas, ekstrak valerian diberikan dengan sonde lambung. Pengamatan dilakukan selama 7 hari, kemudian pada hari ke-8 mencit dibunuh (dekapitasi) 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. (lampiran 2)

Setiap mencit dibuat preparat ginjal dan tiap preparat dibaca dalam 5 lapangan pandang yaitu keempat sudut dan bagian tengah preparat dengan perbesaran 100x dan 400x dengan batasan jumlah sel 20 sel tiap lapangan pandang. Sasaran yang dibaca adalah perubahan struktur histologis tubulus kontortus proksimal ginjal mencit karena sel epitel tubulus proksimal peka terhadap anoksia dan mudah hancur karena keracunan akibat kontak dengan bahan-bahan yang diekskresikan melalui ginjal.^{4,7}

3.8. Alur Kerja



3.9. Definisi Operasional

a. Ekstrak Valerian

Ekstrak alkohol akar valerian dalam bentuk serbuk yang sesuai dengan standar pabrik jamu X.

Skala : rasio

b. Gambaran makroskopis ginjal

Gambaran makroskopis ginjal mencit Balb/c yang diwakili oleh volume organ tersebut.

Skala : numerik

c. Gambaran mikroskopis ginjal

Gambaran histologis ginjal mencit Balb/c di bawah mikroskop setelah dilakukan pengecatan dengan hematoxilin eosin, dan diamati jumlah kerusakan tubulus.

Skala : numerik

3.10. Pengumpulan Data

Pengukuran volume ginjal dilakukan dengan menggunakan gelas ukur sesaat setelah terminasi dilakukan.

Pengukuran derajat kerusakan tubulus ginjal dilakukan dengan menghitung jumlah tubulus yang mengalami penyumbatan dalam 100 tubulus yang diamati pada 5 lapangan pandang.

3.11. Pengolahan dan Analisis Data

Data yang diperoleh diolah dengan program komputer SPSS, dan diuji normalitas datanya. Apabila kurva distribusi datanya normal maka dilanjutkan dengan uji beda parametrik. Apabila distribusi datanya tidak normal maka dilanjutkan dengan uji beda non parametrik.

BAB 4

HASIL

4.1. Analisis Deskriptif

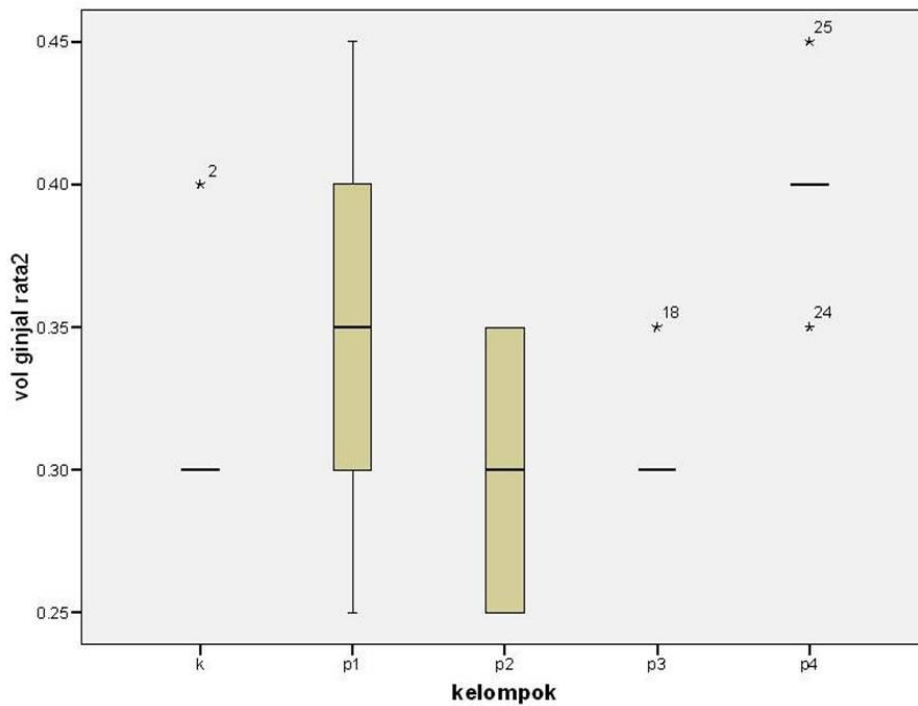
Data yang diperoleh dari pengamatan makroskopis adalah data numerik dengan distribusi tidak normal. Deskripsi data yang digunakan adalah median, nilai maksimum dan minimum, dengan hasil seperti yang tertulis d Tabel 1.

Tabel 1. Data deskriptif pengamatan makroskopis tiap kelompok

Kelompok	N	Median	Max	Min
K	5	0.30	0.40	0.30

P1	5	0.35	0.45	0.25
P2	5	0.30	0.35	0.25
P3	5	0.30	0.35	0.30
P4	5	0.40	0.45	0.35

Uji Kruskal-Wallis; $p = 0.058$



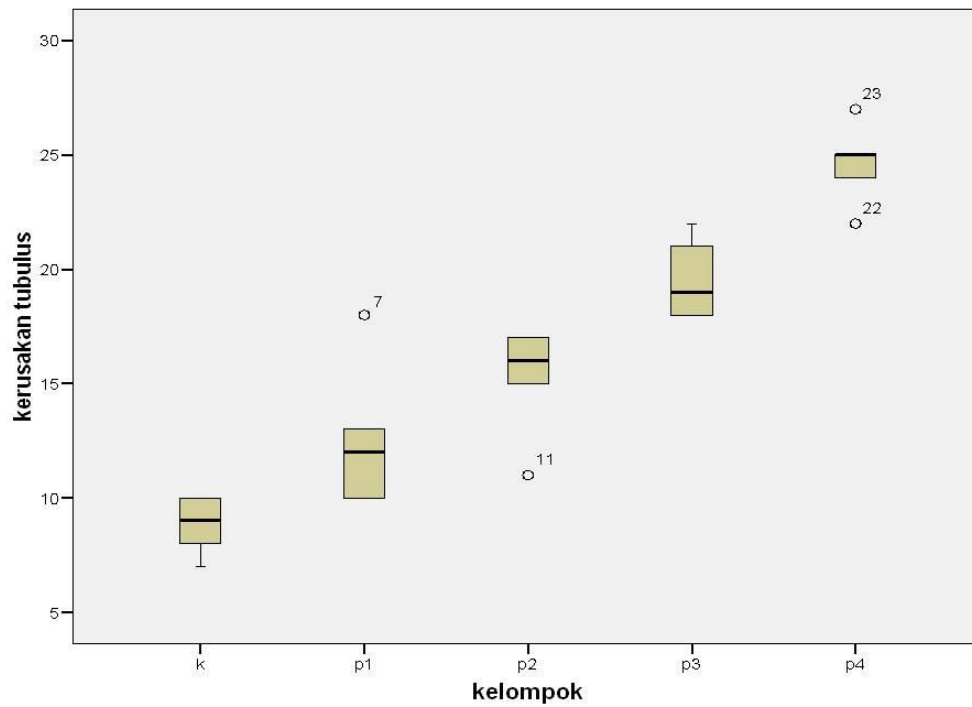
Gambar 1. Grafik Plot Volume ginjal rata-rata tiap kelompok

Data yang diperoleh dari pengamatan mikroskopis adalah data numerik dengan sebaran normal dan homogen. Deskripsi data yang digunakan adalah mean dan standar deviasi, seperti yang tercantum pada Tabel 2.

Tabel 2. Data deskriptif pengamatan Mikroskopis Tiap Kelompok

Kelompok	Mean	Std. Dev
K	8.80	1.304
P1	12.60	3.286
P2	15.20	2.490
P3	19.60	1.817
P4	24.60	1.817

Uji Oneway-Anova; $p = 0.000$



Gambar 2. Grafik Plot Jumlah Kerusakan Tubulus Ginjal

4.2. Analisis Sampel

Uji Post-Hoc pada hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar semua kelompok, kecuali pada P1 dan P2, seperti ditunjukkan oleh Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Post-Hoc

K	P1	P2	P3	P4

K	-	0.015*	0.000*	0.000*	0.000*
P1	0.015*	-	0.083	0.000*	0.000*
P2	0.000*	0.083	-	0.006*	0.000*
P3	0.000*	0.000*	0.006*	-	0.002*
P4	0.000*	0.000*	0.000*	0.002*	-

BAB 5

PEMBAHASAN

Hasil pengamatan pada kondisi mikroskopis ginjal binatang coba menunjukkan bahwa ada suatu perubahan gambaran histopatologis yang bermakna

antar tiap kelompok, kecuali antara P1 dengan P2 yang ditandai dengan angka $p > 0.05$.

Penelitian juga ini mendapatkan hasil bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dan antar kelompok perlakuan dalam pengamatan terhadap aspek makroskopis ginjal yang ditandai dengan volume ginjal rata-rata.

Hal ini membuktikan bahwa pemberian Valerian secara akut dalam berbagai dosis coba memberi pengaruh gambaran mikroskopis, namun tidak memberi dampak yang nyata terhadap kondisi makroskopis ginjal yang diamati dari volumenya.

Valerian memiliki berbagai macam kandungan zat, di antaranya adalah logam berat Pb dan Cd yang sangat potensial menyebabkan kerusakan pada ginjal. Selain itu, beberapa metabolit valerian yang berupa mineral seperti Ca, akan diekskresi melalui ginjal. Sedangkan telah diketahui sebelumnya bahwa epitel tubulus ginjal mudah hancur akibat zat-zat yang diekskresikannya.

Logam berat Cd dapat menimbulkan kerusakan ginjal, dan struktur yang pertama kali mengalami kerusakan adalah tubulus ginjal. Akumulasi Cd di ginjal menimbulkan reaksi inflamasi, yaitu vasodilatasi, diikuti ekstrasvasasi plasma yang tentunya menimbulkan penumpukan cairan pada jaringan intersisial. Cairan yang hipertonis di jaringan intersisial ini menyebabkan mekanisme difusi berlangsung, yaitu tertariknya cairan tersebut menuju intrasel, yang pada akhirnya menyebabkan

pembengkakan sel.¹⁰ Tubulus ginjal merupakan suatu pipa yang dibatasi epitel, apabila epitel ini mengalami pembengkakan, maka lumen tubulus tersebut akan tertutup. Jejas pada tubulus ini juga dapat ditandai dengan meningkatnya ekskresi protein BM rendah [seperti β_2 -microglobulin and α_1 -microglobulin (protein HC)] dan beberapa enzim [seperti N-Acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG)], selain juga dapat dilihat dari gambaran mikroskopisnya.¹¹

Perubahan bermakna secara mikroskopis pada penelitian ini kemungkinan disebabkan oleh; 1) setiap zat larut dalam air yang diekskresikan melalui ginjal (Cd, Pb, Ca yang terdapat pada Valerian) memiliki potensi untuk mengganggu kenormalan epitel tubulus^{4,7}, dan 2) kandungan logam berat pada Valerian berupa Cd mencapai 0.0125mg/kg -yang sudah diketahui bersifat nefrotoksik^{1,11}- dapat memberikan efek terhadap gambaran tubulus kontortus proksimal yang ditandai dengan pembengkakan epitel tubulus sehingga terjadi penyempitan tubulus. Penyempitan tubulus ini dapat menjadi suatu tanda awal kerusakan ginjal akibat substansi nefrotoksik dalam darah⁴.

Perubahan tidak bermakna yang terjadi antara P1 dengan P2 dapat disebabkan oleh rentang dosis yang tidak terlalu jauh. Seperti yang telah disebutkan sebelumnya, P1 mendapatkan pemberian Valerian sebesar 5 mg/kg BB dan P2 mendapatkan 50 mg/kg BB, tidak seperti 2 dosis perlakuan yang lain yang memiliki selisih besar yaitu P3 dengan dosis 500 mg/kg BB dan P4 dengan dosis 2000 mg/kg BB.

Hasil pengamatan makroskopis yang didapatkan pada penelitian ini sesuai dengan tahapan terjadinya gangguan fungsi organ, dimulai dari gangguan keadaan biokimianya, dilanjutkan dengan gangguan anatomis yang akan nampak pada tahap berikutnya; didahului dengan gangguan secara penampakan histologis dan pada akhirnya akan bermanifestasi pada tampakan makroskopisnya¹. Perubahan makroskopis diawali dengan kematian sel dalam jumlah besar yang berlanjut sebagai fibrosis yang kasat mata⁴. Tidak adanya perubahan yang bermakna dari gambaran makroskopis tadi dapat dijelaskan dengan dengan beberapa kemungkinan, yaitu 1) jangka waktu penelitian yang sangat singkat, 2) perlakuan yang diberikan hanya 1 kali di awal penelitian sehingga belum dapat menimbulkan perubahan makroskopis, dan 3) jumlah sampel penelitian ini terbatas sehingga didapatkan distribusi data yang tidak normal.

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak Valerian tidak menimbulkan perbedaan terhadap kondisi makroskopis ginjal antara kelompok kontrol dengan semua kelompok perlakuan, sehingga menjelaskan bahwa pemberian ekstrak Valerian secara akut tidak memiliki dampak terhadap penampakan makroskopis ginjal. Namun, pemberian ini berdampak pada kondisi mikroskopis ginjal, yang perubahannya cenderung meningkat pada tiap kenaikan dosis.

SARAN

Penelitian serupa dilakukan dengan merubah parameter pengukuran makroskopis ginjal dari volume ginjal rata-rata menjadi berat ginjal rata-rata, atau parameter lainnya agar diketahui secara pasti ada atau tidaknya efek penggunaan Valerian terhadap gambaran makroskopis ginjal dalam aspek pengamatan yang lain.

Penelitian serupa dilakukan dengan pengamatan mikroskopis dengan metode *double-blind* untuk mengurangi bias pemeriksa.

DAFTAR PUSTAKA

1. Guyton, Arthur C, John E. Hall. Fisiologi Kedokteran Ed. 9. 1997. Jakarta: EGC.

2. Japardi, Iskandar. 2003. [on line]. Gangguan Tidur. Cited on January 27 2009. Available from: URL: <http://library.usu.ac.id/download/fk/bedah-iskandar%20japardi12.pdf>.
3. Arce S, Cerutti S CS. Determination of metal content in valerian root phytopharmaceutical derivatives by atomic spectrometry. 2005 Jan-Feb;88(1):221-5. J AOAC Int.
4. Underwood JCE. Patologi Umum dan Sistemik. Vol.2. 2nd ed. Jakarta: EGC; 2000
5. Alpers CE, Fogo AB. The kidney and its collecting system. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell RN. Robbins basic pathology. 8th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007.
6. Price SA, Wilson LM. Patofisiologi. Vol. 2. 6th ed. Jakarta: EGC; 2005.
7. Wijaya I, Miranti IP. Patologi ginjal dan saluran kemih. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro; 2005.
8. Nurdjaman, Soejoto, Soetedjo, Faradz SMH, Bambang RB, Susilaningsih N, dkk. Histologi II. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro; 2004.
9. Junqueira LC, Carneiro J, Kelly RO. Histologi dasar. 8th ed. Jakarta: EGC; 1998.
10. Sarjadi. Patologi Umum. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro; 2003

11. Jarup L, Berglund M, Elinder CG, Nordberg G, Vahter M. Health effects of cadmium exposure—a review of the literature and a risk estimate. *Scand J Work Environ Health* 1998; **24 (Suppl 1)**: 1–51[[Medline](#)]

Lampiran 1

Gambar Profil Valerian

1. Tanaman



2. Bunga



3. Daun



4. Akar



Lampiran 2

METODE BAKU HISTOLOGIS PEMERIKSAAN JARINGAN

A. Cara pengambilan jaringan dan fiksasi

1. Mengambil jaringan sesegera mungkin setelah mencit didekapitasi (maksimal 2 jam) dengan ukuran 1x1x1 cm³, dengan *lege artis*.
2. Kemudian memasukkan ke dalam larutan fiksasi dengan urutan sebagai berikut :

a. Fiksasi dalam larutan formalin 10%

b. Dehidrasi dengan alkohol 30% selama 20 menit I, 20 menit II, dan 20 menit III

Lalu dilanjutkan alkohol 40% 1 jam

alkohol 50% 1 jam

alkohol 70% 1 jam

alkohol 80% 1 jam

alkohol 90% 1 jam

alkohol 96% 1 jam

(alkohol 70%-80% dapat ditunda sampai keesokan harinya)

c. Larutan xylol alkohol 1 : 1 dengan waktu ± 24 jam.

- d. *Clearing* dengan larutan xylol 1, 2, 3 dengan waktu masing-masing 20 menit, sehingga jaringan terlihat tembus pandang.
- e. Xylol parafin 1 : 1 selama 20 menit/24 jam dengan dipanaskan dalam oven 60°C.
- f. *Embeding* dan *bloking*: parafin 1, 2, 3 selama 20 menit, lalu jaringan dicetak blok parafin, kemudian didinginkan, sehingga cetakan dapat dibuka.
- g. *Trimming*: memotong balok-balok parafin sehingga jaringan mudah dipotong.

B. Cara pemotongan blok (*sectioning*)

1. Menyiapkan kaca objek bersih.
2. Kaca objek diberi albumin di tengahnya.
3. Blok yang sudah disiapkan dipotong dengan ketebalan 5 mikron, lalu dimasukkan air panas $\pm 60^{\circ}\text{C}$. Setelah jaringan mengembang, jaringan diambil menggunakan kaca objek, yang sudah diberi albumin.
4. Kemudian dikeringkan.
5. Parafin yang ada pada objek atau jaringan dihilangkan dengan dipanaskan dalam oven 60°C atau dengan tungku.

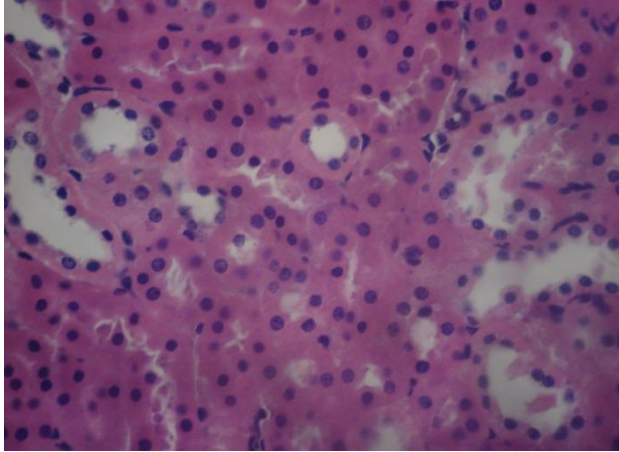
C. Pewarnaan

1. Xylol 1, xylol 2, dan xylol 3, masing-masing 10 menit.
2. Rehidrasi dengan alkohol xylol, 5 menit.
3. Bilas alkohol 30%-96% masing-masing \pm 30 menit.
4. Bilas aquades 1 kali \pm 10 menit.
5. Rendam dalam hemaktosilin \pm 10 menit.
6. Bilas dengan air mengalir sampai bersih.
7. Bilas aquades, lalu *acid alcohol* (alkohol + NaCl 0,9%).
8. Bilas alkohol 50%-96%.
9. Eosin \pm 2-5 menit.
10. Bilas alkohol 96% 2 kali.
11. Bilas alkohol xylol.
12. Keringkan dengan kertas saring, langsung dibersihkan kotoran-kotoran yang ada di sekitar jaringan.
13. Xylol 1 (5 menit), xylol 2 (5 menit), tetesi basam Canada, langsung ditutup kaca penutup.
14. Jadilah preparat.

Lampiran 3

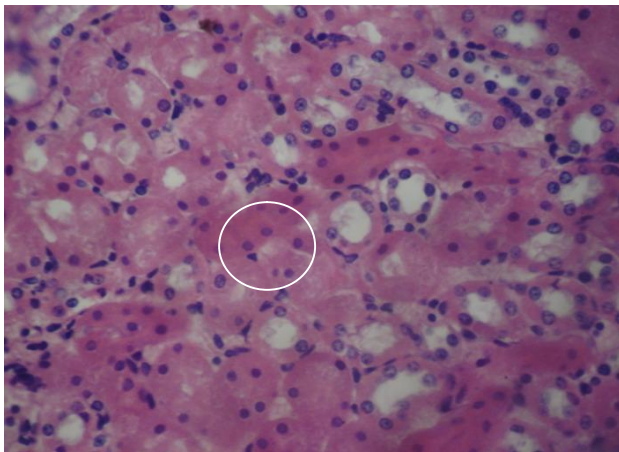
Gambaran makroskopis Ginjal binatang coba (mencit Balb/C jantan)

Kontrol



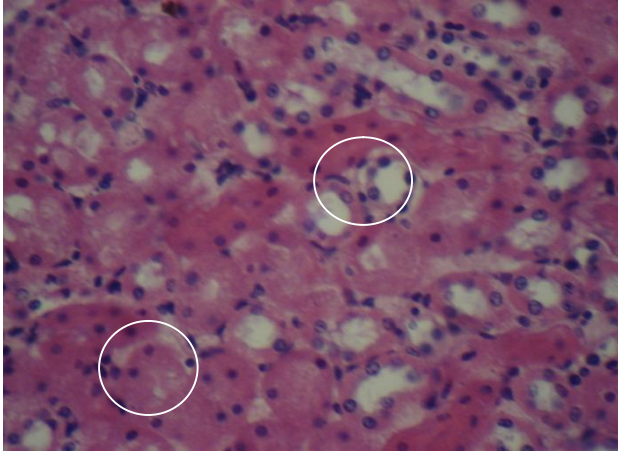
Gambaran kelompok kontrol, dengan tubulus proksimal yang masih banyak terbuka

P1



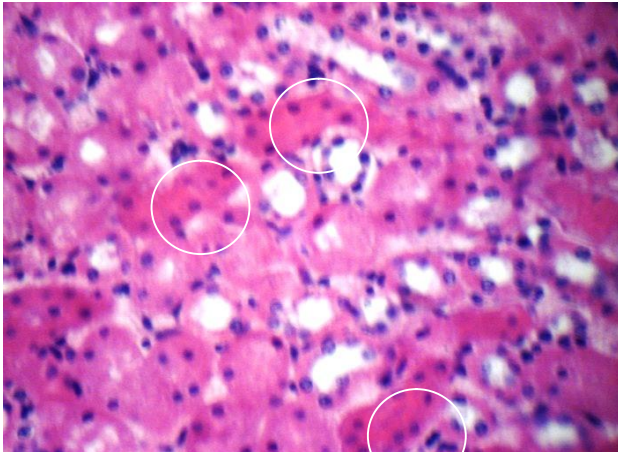
Kelompok P1 yang diberi dosis 5 mg/kg BB, menunjukkan sudah mulai tertutupnya sebagian tubulus akibat pembengkakan epitel

P2



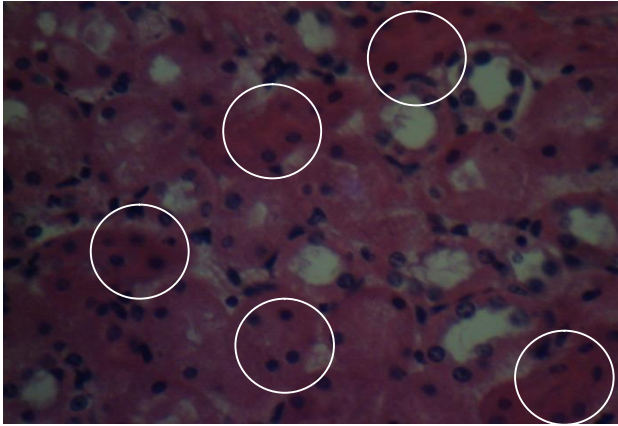
Kelompok P2 yang diberi dosis 50 mg/kg BB, menunjukkan penutupan tubulus yang makin banyak

P3



Kelompok P3 yang diberi dosis 500 mg/kg BB, kerusakan tubulus proksimal mengalami penambahan

P4



Kelompok P4 yang diberi dosis 2000 mg/kg BB, pembengkakan dan penutupan tubuus makin banyak

Lampiran 4

Pengolahan Data Gambaran Makroskopis

Tests of Normality

	kelompok	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
vol ginjal rata2	k	.473	5	.001	.552	5	.000
	p1	.136	5	.200(*)	.987	5	.967
	p2	.241	5	.200(*)	.821	5	.119
	p3	.473	5	.001	.552	5	.000
	p4	.300	5	.161	.883	5	.325

* This is a lower bound of the true significance.

a Lilliefors Significance Correction

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank
vol ginjal rata2	k	5	11.00
	p1	5	14.40
	p2	5	8.90
	p3	5	10.00
	p4	5	20.70
	Total	25	

Test Statistics(a,b)

	vol ginjal rata2
Chi-Square	9.144
df	4
Asymp. Sig.	.058

a Kruskal Wallis Test

b Grouping Variable: kelompok

Pengolahan Data Gambaran Mikroskopis

Tests of Normality

	kelompok	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kerusakan tubulus	k	.221	5	.200(*)	.902	5	.421
	p1	.252	5	.200(*)	.845	5	.179
	p2	.268	5	.200(*)	.806	5	.090
	p3	.229	5	.200(*)	.867	5	.254
	p4	.213	5	.200(*)	.963	5	.826

* This is a lower bound of the true significance.

a Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

kerusakan tubulus

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.717	4	20	.590

ANOVA

kerusakan tubulus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	754.160	4	188.540	37.261	.000
Within Groups	101.200	20	5.060		
Total	855.360	24			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: kerusakan tubulus
LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound
k	p1	-3.800(*)	1.423	.015	-6.77	-.83
	p2	-6.400(*)	1.423	.000	-9.37	-3.43
	p3	-10.800(*)	1.423	.000	-13.77	-7.83
	p4	-15.800(*)	1.423	.000	-18.77	-12.83
p1	k	3.800(*)	1.423	.015	.83	6.77
	p2	-2.600	1.423	.083	-5.57	.37
	p3	-7.000(*)	1.423	.000	-9.97	-4.03
	p4	-12.000(*)	1.423	.000	-14.97	-9.03
p2	k	6.400(*)	1.423	.000	3.43	9.37
	p1	2.600	1.423	.083	-.37	5.57
	p3	-4.400(*)	1.423	.006	-7.37	-1.43
	p4	-9.400(*)	1.423	.000	-12.37	-6.43
p3	k	10.800(*)	1.423	.000	7.83	13.77
	p1	7.000(*)	1.423	.000	4.03	9.97
	p2	4.400(*)	1.423	.006	1.43	7.37
	p4	-5.000(*)	1.423	.002	-7.97	-2.03
p4	k	15.800(*)	1.423	.000	12.83	18.77
	p1	12.000(*)	1.423	.000	9.03	14.97
	p2	9.400(*)	1.423	.000	6.43	12.37
	p3	5.000(*)	1.423	.002	2.03	7.97

* The mean difference is significant at the .05 level.

