

EFEK PROTEKTIF MADU TERHADAP GINJAL TIKUS PUTIH YANG DIINDUKSI ETANOL

Muhartono, Rizki Hanriko, Haryani Dwita
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung
email: dmuhartono@yahoo.com

Honey already used as natural food sources since long time ago. Honey has been shown contained active chemical compounds that are antioxidants, yet there is still only a few experimental studies about the protective effect of honey against ethanol-induced renal damage. This study aims to prove the protective effect of honey against renal damage and determine the relationship of increasing doses of honey against renal damage in male rat (*Rattus norvegicus*). Research subjects were used 25 Sprague dawley strain male rat. Rat were divided into 5 groups that was negative control were given only distilled, positif control (only given ethanol 0,01 ml/gBW/day), treatment group I (given honey 0,0018 ml/gBW/day dan ethanol 0,01 ml/gBW/day), treatment group II (given honey 0,0054 ml/gBW/day dan ethanol 0,01 ml/gBW/day), treatment group III (given honey 0,0162 ml/gBW/day dan ethanol 0,01 ml/gBW/day) for 14 days. Based on result of the Kruskal wallis test performed on this data $p < 0,05$, which mean there were protective effect of giving the honey treatment to renal damage male rat. Mann whitney test result $p < 0,05$, which means that there were significant differences proximal tubulus on rat almost found between each groups except positif control group with treatment group I and treatment group II with treatment group III. Honey shown to have protective effects against ethanol-induced renal damage of Sprague dawley strain male rat. Increasing doses of honey can increase the protective effects against the renal damage of Sprague dawley strain male rat at certain dose, on dose 0,0018 ml/gBW/day and 0,0054 ml/gBW/day

Keywords: honey, protective effects, renal proximal tubulus, ethanol, rat.

PENDAHULUAN

Saat ini sudah beragam minuman beralkohol yang dikonsumsi manusia. Alkohol terutama dalam bentuk etanol telah dikonsumsi secara luas oleh masyarakat. Etanol bersifat menekan sistem saraf pusat secara tidak teratur tergantung jumlah yang dicerna. Timbulnya keadaan yang merugikan pada pengkonsumsi etanol diakibatkan oleh etanol itu sendiri atau metabolitnya. Etanol mempunyai efek toksik pada tubuh baik secara langsung maupun tidak langsung (Panjaitan, 2003). Secara farmakokinetik, setiap zat yang masuk dalam tubuh akan mengalami absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi. Begitu pula etanol yang dikonsumsi akan mengalami berbagai proses di dalam tubuh. Zat-zat tersebut maupun metaboliknya dikeluarkan oleh tubuh melalui proses ekskresi. Ginjal merupakan organ ekskresi

utama dari tubuh, sehingga seringkali mengalami kerusakan akibat paparan berbagai macam bahan toksik dan penggunaan obat-obatan kimia maupun herbal dalam dosis yang berlebihan (Sarjadi, 2003).

Penelitian yang telah dilakukan pada tikus putih jantan yang diinduksi etanol menunjukkan adanya kerusakan pada sel tubulus dan glomerulus ginjal yang berupa piknosis, droplet protein, kongesti, dan kariolisis (Anissa, 2008).

Etanol merupakan salah satu radikal bebas yang dapat merusak organ ginjal. Kerusakan yang ditimbulkan ini memerlukan zat yang dapat menangkal radikal bebas tersebut, salah satunya adalah madu.

Madu merupakan bahan makanan yang istimewa dan memiliki nilai gizi yang tinggi, selain itu madu juga dapat dimanfaatkan sebagai obat (Al Jamili, 2004; Tirtawinata, 2006). Madu mengandung beberapa mineral seperti besi, tembaga, kalsium, natrium, magnesium, klorin, juga mengandung vitamin khususnya vitamin B1, B2, B6, B3, A dan C. Selain itu madu juga mengandung riboflavin, asam folat dan juga mengandung gula khususnya glukosa, fruktosa dan sukrosa (Suranto, 2007). Madu berfungsi sebagai antioksidan karena adanya vitamin C yang banyak terkandung pada madu. Secara tidak langsung madu mengeliminasi zat radikal bebas yang ada pada tubuh kita. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa madu bermanfaat sebagai antiseptik dan antibakteri, mengatasi infeksi pada daerah luka dan memperlan car proses sirkulasi yang berpengaruh pada (proses penyembuhan luka) (Suranto, 2007). Penelitian yang dilakukan oleh Ratnasari (2009) menyebutkan bahwa madu memiliki efek proteksi dan memperbaiki kerusakan sel ginjal mencit secara signifikan pada dosis 0,08ml/20g BB setara dengan 30 ml. peneliti ingin mengetahui efek madu terhadap kerusakan ginjal tikus putih galur Sprague Dawley yang diinduksi etanol.

METODE

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik, dengan rancangan penelitian ini adalah the post test only controlled group design. Menggunakan 25 ekor tikus putih jantan galur Sprague Dawley yang berusia 3-4 bulan dengan berat badan 200-250 gr dipilih secara random yang dibagi menjadi 5 kelompok, dengan 5 kali pengulangan.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, sedangkan pembuatan preparat dan pengamatannya akan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Waktu penelitian selama 14 hari.

Prosedur penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut: tikus putih jantan sebanyak 25 ekor, dibagi dalam 5 kelompok dengan pengulangan sebanyak lima kali. Kelompok I sebagai kontrol negatif, dimana hanya akan diberi air ad libitum. Kelompok II sebagai kontrol positif, dimana akan diberikan etanol 50% 0,01 ml/grBB/hari. Kelompok III adalah kelompok perlakuan dengan pemberian etanol 50% 0,01 ml/grBB/hari ditambah larutan madu 50 % dosis 0,0018 ml/grBB/hari, kelompok IV dengan dosis larutan madu 50 % sebanyak 0,0054 ml/grBB/hari, dan kelompok V dengan dosis larutan madu 50 % sebanyak 0,0162 ml/grBB/hari, pada kelompok III, IV, dan V setelah 1,5 jam pemberian madu kemudian diberikan etanol 50% dengan dosis 0,01 ml/grBB/hari. Setelah 14 hari perlakuan dihentikan lalu 5 tikus dari tiap kelompok dinarkosis dengan kloroform, dilakukan laparotomi, dan diambil ginjalnya untuk dibuat sediaan histopatologi. Pembuatan sediaan histopatologi dengan metode paraffin dan pewarnaan Hematoksilin Eosin, lalu diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400X. Kemudian dilakukan penghitungan jumlah kerusakan pada tubulus proksimal ginjal berupa pembengkakan sel yang ditandai dengan

penyempitan lumen tubulus. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan program SPSS versi 17.0, dengan uji statistik Kruskal wallis dan uji Post Hoc Mann Whitney.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian didapatkan nilai rata-rata kerusakan tubulus proksimal kelompok kontrol negatif sebesar $1,7000 \pm 0,26458$; kelompok kontrol positif nilai rata-rata kerusakan tubulus $4,9400 \pm 0,28810$; kelompok perlakuan I memiliki rata-rata $3,8800 \pm 1,02323$; kelompok perlakuan II memiliki rata-rata $2,5200 \pm 0,30332$; kelompok perlakuan III memiliki rata-rata $2,5400 \pm 0,55946$.

Hasil penilaian tingkat kerusakan tubulus proksimal ginjal tikus pada gambaran mikroskopis yang berupa rerata dilakukan uji normalitas data dengan menggunakan uji statistik Shapiro-Wilk dan didapatkan hasil distribusi data normal ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji homogenitas Levene yang hasilnya menunjukkan varians data adalah tidak sama yaitu $p = 0,024$ ($p < 0,05$).

Syarat uji parametrik tidak terpenuhi dikarenakan varians data tidak sama maka data tidak dapat dianalisis dengan uji one way ANOVA, sehingga digunakan uji alternatifnya, yaitu uji Kruskal-Wallis. Setelah data dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis diperoleh nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan bermakna antara gambaran kerusakan sel ginjal tikus. Untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan, maka harus dilakukan analisis Post Hoc. Uji untuk melakukan analisis Post Hoc untuk uji Kruskal Wallis adalah uji Mann-

Whitney, hasil uji Mann-Whitney dapat dilihat pada tabel. Analisis uji Mann Whitney menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok jika didapatkan nilai $p < 0,05$.

Perbedaan yang signifikan kerusakan tubulus proksimal tikus putih hampir ditemukan antara tiap kelompok kecuali antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan I dan kelompok perlakuan II dengan kelompok perlakuan III.

Pada kelompok kontrol negatif ini didapatkan adanya kerusakan pada beberapa tubulus proksimal ginjal yaitu berupa adanya pembengkakan sel. Hal ini dapat terjadi karena adanya proses apoptosis yang secara fisiologi dialami oleh semua sel normal. Setiap sel dalam tubuh akan selalu mengalami penuaan yang diakhiri kematian sel dan digantikan oleh sel-sel baru melalui proses regenerasi (Mitchell dan Cotran, 2007). Pada kelompok kontrol positif terdapat kerusakan sel tubulus proksimal berupa pembengkakan sel tubulus. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Liu et al., (2002) yang menyatakan bahwa pemberian etanol 50 % dengan dosis 10 mg/kgBB pada tikus dapat menyebabkan kerusakan pada sel ginjal.

Penelitian lain juga dilakukan oleh Das et al., (2008) yang menyatakan bahwa pemberian etanol selama 7 hari dapat menyebabkan kerusakan pada ginjal berupa pembengkakan tubulus proksimal, pembengkakan glomerulus, dan proliferasi sel mesangial. Pada kelompok perlakuan I menunjukkan adanya jumlah kerusakan sel

tubulus proksimal yang lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Hal ini berarti pemberian larutan madu dapat mengurangi kerusakan sel epitel tubulus proksimal ginjal tikus akibat pemberian etanol. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ratnasari (2009) yang menyatakan bahwa madu memiliki efek proteksi dan dapat memperbaiki kerusakan sel ginjal mencit secara signifikan pada dosis 0,08ml/20g BB. Pada kelompok perlakuan II mengalami kerusakan tubulus proksimal yang ringan dengan rata-rata kerusakan yang jauh lebih rendah dari kelompok perlakuan I. Dosis ini merupakan dosis efektif untuk mencegah kerusakan ginjal tikus putih yang diinduksi etanol 50 %. Pada kelompok perlakuan III, berdasarkan hasil uji mann whitney jumlah kerusakan tubulus proksimal ginjal antara kelompok perlakuan II dan perlakuan III tidak memiliki perbedaan bermakna yang berarti jumlah kerusakan tubulus proksimal ginjal antara kedua kelompok ini tetap. Hal ini tentunya menolak hipotesis bahwa peningkatan dosis madu dapat meningkatkan efek protektif terhadap kerusakan tubulus proksimal ginjal tikus.

Pada penelitian ini digunakan etanol sebagai bahan penginduksi kerusakan pada ginjal. Hasil metabolisme etanol yang terjadi di hepar yaitu berupa pembentukan asetat, asetaldehid, dan peningkatan reactive oxygen spesies (ROS) masuk ke dalam sirkulasi darah sistemik yang dapat merusak struktur sel-sel jaringan ekstrahepatik yaitu jaringan otak, paru-paru, jantung dan ginjal. ROS yang dihasilkan akan terakumulasi dalam tubuh dan bersifat sebagai

radikal bebas yang dapat menyebabkan stres oksidatif, dapat menimbulkan kerusakan sel termasuk sel ginjal. (Das and Vasudevan, 2009).

Perusakan sel oleh radikal bebas reaktif didahului oleh kerusakan membran sel antara lain mengubah fluiditas, struktur dan fungsi membran sel. Tubulus proksimal merupakan bagian yang paling sering mengalami kerusakan karena paparan zat nephrotoxic. Faktor predisposisi yang mengakibatkan sel tubulus proksimal mudah rusak adalah peran tubulus proksimal yang mereabsorpsi 60%-80% hasil filtrasi glomerulus, faktor predisposisi lain adalah luasnya bidang permukaan reabsorpsi tubulus, sistem transport aktif untuk ion dan asam organik, serta kemampuan tubulus untuk mengkonsentrasi zat sehingga menyebabkan akumulasi dan toksisitas tubulus proksimal yang pada akhirnya mengakibatkan kerusakan tubulus proksimal. Zat nefrotoksik dapat menyebabkan kerusakan tubulus, salah satunya adalah Nekrosis Tubular Akut (NTA). Secara morfologi ditandai dengan destruksi sel epitel tubulus proksimal. Edema tubulus proksimal adalah manifestasi awal dari NTA, sifatnya masih reversibel (Robbins, 2007).

Antioksidan yang digunakan untuk menetralkan radikal bebas dari paparan etanol pada penelitian ini yaitu berasal dari kandungan madu. Kandungan utama madu yang berperan dalam mencegah kerusakan ginjal akibat pemberian etanol adalah antioksidan. Antioksidan yang dimiliki madu antara lain vitamin A, C, E, beta karoten, flavonoid dan beberapa mineral terutama

Mn, Cu, Zn, Fe, serta Se. Vitamin E dapat menghambat peroksidasi lipid oleh radikal bebas yang dibentuk dari hasil metabolit etanol melalui mekanisme penangkapan radikal bebas (Priya dan Vasudha, 2009). Madu mengandung senyawa flavonoid yang dapat berperan sebagai penangkap radikal bebas hidroksi (OH.) sehingga tidak terjadi oksidasi lemak, protein, dan DNA dalam sel (Salamah dkk., 2008) Aktivitas antioksidan dari mineral seperti Fe, Cu, Zn, dan Mn adalah sebagai kofaktor aktivasi SOD (Super Oxyde Dismutase) yang dapat menghambat ROS (Winarsi, 2007). Selenium merupakan satu-satunya unsur yang dapat mengaktifasi glutathione peroxidase yang penting untuk mencegah kerusakan ginjal akibat adanya stres oksidatif (Singh et al., 2006).

KESIMPULAN

Madu memiliki efek protektif terhadap kerusakan tubulus proksimal tikus putih jantan dewasa (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley yang diinduksi etanol dan peningkatan dosis madu dapat meningkatkan efek protektif terhadap kerusakan tubulus proksimal tikus putih jantan dewasa (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley yang diinduksi etanol pada dosis tertentu.

DAFTAR PUSTAKA

Al Jamili S. 2004. Khasiat Madu Dalam Al-qur'an & Sunnah. Jakarta : Penerbit Cendekia Sentra Muslim.
Anisa, Siti Rizki Nur. 2008. Pengaruh Ekstrak Pegagan terhadap Struktur Miroanatomi Ginjal Tikus Putih Setelah Pemberian Etanol Per Oral. *J u r u s a n b i o l o g i F M I P A U N S*. Semarang. Tanggal Akses 15 September 2011.

Das SK., Sowmya V, Dhanya L, Sukhes M, Vasudevan. 2008. Alcohol Induced Effects On Kidney. *Indian Journal Of Clinical Biochemistry* 23 (1): 4-9.
Das SK, Vasudevan DM. 2007. Alcohol Induced Oxidative stress *Journal Life Sciences* 81 (2007): 177-187.
Liu CF, Lin MH, Lin CC, Chang HW, Lin SC. 2002. Protective Effect of Tetramethylpyrazine on Absolute Etanol-Induced Renal Toxicity In Mice. *J Biomed Science* 9 (4): 299-302. Mitchell R. N., Cotran R. S. 2007. Jejas, Adaptasi, dan Kematian Sel. Dalam: Kumar V
Panjaitan, Ruziah Ganda Putri. 2003. Bahaya Gagal Hamil Yang Diakibatkan Minuman Beralkohol. Program Pasca Sarjana IPB Bogor.
Priya R., Vasudha K. C. 2009. Antioxidant Vitamins in Chronic Renal Failure. *Biomed Research*.
Ratnasari, Ismi. 2009. Pengaruh Madu terhadap Kerusakan Sel Ginjal Mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi Parasetamol. Skripsi, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
Robbins, S. L. Dkk. 2007. Buku Ajar Patologi Robbins. Terjemahan Awal Prasetyo dan Brham U. Pendit. New York: Buku Kedokteran EGC.
Salamah, E., Eka, A. and Sri, P. 2008. Penapisan Awal Komponen Bioaktif dari Kijing Taiwan (*Anodonta woodiana* Lea.) Sebagai Senyawa Antioksidan. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan Vol XI No 2*. Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fak. Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB
Sarjadi. 2003. Patologi Umum. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro.
Singh D., Kaur R., Chander V., Chopra K. 2006. Antioxidant in the Prevention of Renal Disease.
Suranto, Adji. 2004. Khasiat dan Manfaat Madu Herbal. Jakarta : Agromedia Pustaka. Hal 7-10.
Winarsi H. 2007. Antioksidan Alami & Radikal Bebas. Yogyakarta Kanisius.