

Perubahan Parameter Biokimia, Histopatologi Ginjal Tikus Sprague Dawley Pascahipoksia Oleh Ekstrak Akar *Acalypha indica* dan Herba *Centella asiatica*

(Alteration Of Biochemistry And Histopathology Of Kidney In Post-Hypoxic Sprague Dawley Rats Treated With Extract of *Acalyphae Indicae Radix* And *Centellae Asiaticae Herba*)

Nurfitri^{*1}, Erni Hernawati Purwaningsih², Vivian Soetikno³, Adisti Dwijayanti², dan Novi Silvia Hardiany⁴

¹Badan Pengawas Obat dan Makanan,

²Departemen Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia,

³Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia,

⁴Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

ABSTRACT: Chronic hypoxia is one of the causes of renal diseases due to increase of intracellular Reactive Oxygen Species (ROS) formation. Extract of *Acalyphae Indicae Radix* 250 mg/kg (AI250) and *Centellae Asiaticae Herba* 150 mg/kg (CA150) have a antioxidant effect in Sprague Dawley Rat post-hypoxia. Antioxidant activity of combination and single ethanolic extract was investigated in rats with kidney damages post-hypoxia. Male rats (n=28) were allocated into 7 groups: normal control (without hypoxia); control (with hypoxia+water); hypoxia+(AI200+CA150); hypoxia+(AI250+CA100); hypoxia+AI250; hypoxia+CA150; and hypoxia+vitC. Rats have been kept in a hypoxic chamber filled with 10% O₂ and 90% N₂, 1 atm for 7 days to induced hypoxia and each group were treated for 7 days. At the end of studies rat terminated. Blood and kidneys were taken for biochemical analysis and histopathology. The malondialdehyde (MDA) levels in kidney tissues and plasma were significantly decreased in treated rats (AI200+CA150) compared with control (p=0,001 and p=0.021) and AI250 group (p=0.003 and 0.043). The combination (AI250+CA100) decreased relative mRNA expression levels of HIF-1 α (p=0.014), plasma urea levels (p=0.001) and repaired intra-glomerular lesions p=0.013. Combination extract (AI250+CA100) and single extract (AI250) have antioxidant activity in preventing kidney damages on biochemical parameters and histopathology in rats post-hypoxia

Keywords: *Acalypha indica*; *Centella asiatica*; hypoxia; kidney; relative mRNA expression levels of HIF-1 α ; MDA; plasma urea level.

ABSTRAK: Hipoksia kronik merupakan salah satu penyebab penyakit ginjal akibat peningkatan pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam sel. Kombinasi ekstrak *Acalypha indica* 250 mg/kgBB (AI250) dan herba *Centella asiatica* 150 mg/kg (CA150) memiliki efek antioksidan pada tikus *Sprague-Dawley* pascahipoksia. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui manfaat kombinasi ekstrak etanol dan/atau ekstrak tunggalnya dapat memperbaiki kerusakan ginjal tikus pascahipoksia melalui mekanisme antioksidan. Sejumlah 28 tikus jantan dikelompokkan dalam 7 kelompok : kontrol normal; kontrol hipoksia+air; hipoksia+(AI200+CA150); hipoksia+(AI250+CA100); hipoksia+AI250; hipoksia+CA150; hipoksia+vitamin C. Tikus ditempatkan dalam kandang khusus yang dialiri O₂ 10% dan N₂ 90%, tekanan 1 atm untuk menginduksi hipoksia selama 7 hari. Setiap kelompok diberi perlakuan secara oral selama 7 hari setelah hipoksia. Pada akhir studi hewan diterminasi. Darah dan organ ginjal diambil untuk pemeriksaan biokimia dan histopatologi. Kombinasi (AI250+CA100) dapat menurunkan kadar MDA ginjal dan plasma secara bermakna dibandingkan kontrol hipoksia (p=0,001 dan p=0,021) dan AI250 (p=0,003 dan 0,043). Kombinasi I250+CA100 dapat menurunkan ekspresi relatif mRNA HIF-1 α (p=0,014), kadar urea plasma (p=0,001) dan memperbaiki lesi intra-glomerulus (p=0,013). Kombinasi (AI250+CA100) dan tunggal AI250 memiliki aktivitas antioksidan dalam mencegah kerusakan ginjal pasca hipoksia, secara biokimiawi dan histopatologinya.

Kata kunci: *Acalypha indica*; *Centella asiatica*; hipoksia; ginjal; ekspresi relatif mRNA HIF-1; MDA; kadar urea plasma.

Pendahuluan

Hipoksia pada ginjal dapat disebabkan karena iskemia kronik, gangguan keseimbangan senyawa vasoaktif, anemia dan gangguan pada kapiler peritubular. Kondisi ini mengakibatkan peningkatan pembentukan

reactive oxygen species (ROS) di dalam sel. Peningkatan ROS yang berkelanjutan dapat mengakibatkan kerusakan makromolekul seperti lipid, RNA dan DNA yang menyebabkan perubahan biokimia dan memicu kondisi patologis [1-3].

Access this article



*Corresponding Author: Nurfitri

Badan Pengawas Obat dan Makanan Indonesia | Email: fnisna_2000@yahoo.com

Studi oleh Novoa et al menyatakan bahwa populasi penderita penyakit ginjal di negara berkembang diperkirakan mencapai 10% dari total orang dewasa dengan faktor risiko yang bervariasi seperti diabetes, hipertensi, anemia, penurunan suplai darah ke ginjal dan hipoksia [4]. Pengobatan menggunakan *Angiotensin-Converting Enzyme inhibitors* dan *Angiotensin Receptor Blockers* menimbulkan efek samping berupa batuk, *angioedema* dan *cardiac fibrosis* [5]. Efek samping tersebut dapat menurunkan kepatuhan pasien untuk mengkonsumsi obat sesuai aturan pakai yang ditetapkan sehingga perlu dicari alternatif lain guna mempertahankan homeostatis tubuh yaitu antioksidan.

Antioksidan eksogen dapat diperoleh dari senyawa fenolik golongan flavonoid yang berasal dari bahan alam [6]. *Acalypha indica* dan *Centella asiatica* merupakan tanaman Indonesia yang dalam bentuk tunggal telah banyak diteliti dan diketahui memiliki aktivitas antioksidan dengan menekan radikal nitrit oksida, radikal hidroksil dan penurunan peroksidasi lipid [7,8]. Selain itu ekstrak etanol *Centella asiatica* diketahui memiliki efek antiinflamasi, neuroproteksi dan memperbaiki sirkulasi darah [9,10].

Penelitian ini dilakukan untuk melihat efek kombinasi ekstrak etanol akar *Acalypha indica* dan herba *Centella asiatica* pada organ ginjal tikus *Sprague Dawley* pascahipoksia sebagai antioksidan melalui pemeriksaan kadar kreatinin plasma, kadar urea plasma, pemeriksaan histopatologi serta pemeriksaan penanda kondisi hipoksia seperti malondialdehid (MDA) dan ekspresi relative mRNA *Hypoxia-inducible factor* (HIF-1 α).

Hypoxia-inducible factor (HIF-1 α) adalah faktor transkripsi yang berperan penting dalam menjaga keseimbangan oksigen baik pada tingkat seluler maupun tingkat sistemik. Protein HIF-1 α sangat sensitif terhadap perubahan kadar oksigen [1,2,11]. Pada keadaan normoksia sub unit HIF-1 α secara konstan diproduksi oleh sitosol dan mengalami hidroksilasi prolin pada asam amino 402 dan 564 yang terletak pada domain O₂ dependent degradation. Hidroksilasi prolin ini dikatalisasi oleh enzim Prolil Hidroksilase (PHD). Interaksi antara prolin terhidroksilasi dengan suatu tumor suppressor gen Van Hippel Lindau (VHL) akan merekrut ubiquitin sehingga terbentuk kompleks poliubiquitinasi, kompleks ini selanjutnya akan dikenali oleh proteosome untuk didegradasi. Sebaliknya pada kondisi hipoksia terjadi penghambatan aktivitas enzim PHD yang mengakibatkan residu prolin tidak mengalami hidroksilasi dan akan bertranslokasi menuju nucleus [12,13]. Kondisi ini ditandai dengan peningkatan ekspresi mRNA HIF-1 α yang memicu peningkatan aktivitas HIF-1 α sebagai faktor transkripsi gen-gen yang berperan penting dalam fungsi tubuh. Peran gen-gen yang diregulasi oleh HIF-1 α diantaranya berhubungan dengan pengontrolan vasodilatasi pembuluh (Nitrit Oxide synthase), neoangiogenesis melalui aktivasi

vascular endothelial growth factor (VEGF), berperan dalam pembentukan sel darah merah (erythropoietin dan transferin) dan metabolisme energi (prolin 4-hidroksilase, laktat dehidrogenase) [1,13,14].

Pemilihan kombinasi ekstrak etanol akar *Acalypha indica* dan herba *Centella asiatica* didasarkan pada penelitian pendahuluan oleh Farida dan Hartono menggunakan ekstrak air yang menunjukkan efek neuroterapi pada sel neuron tikus *Sprague Dawley* pascahipoksia yaitu *Acalypha indica* dengan dosis 250 mg/kg dan *Centella asiatica* 150 mg/kg. Oleh karena pada penelitian terdahulu tidak menunjukkan perbaikan sel neuron tikus yang signifikan maka pada penelitian ini dilakukan modifikasi dosis dan jenis pelarut untuk ekstraksi [15,16].

Pemilihan pelarut etanol untuk ekstraksi didasarkan pada penelitian Pandith dan Rahman et al, yang menyimpulkan bahwa kandungan flavonoid ekstrak etanol *Acalypha indica* dan *Centella asiatica* lebih tinggi dibandingkan ekstrak air [16,17]. Mengingat pentingnya peran ginjal dalam berbagai fungsi yang ditujukan untuk mempertahankan homeostatis tubuh, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait manfaat kombinasi *Acalypha indica* dan *Centella asiatica* terhadap vaskularisasi ginjal tikus pascahipoksia melalui mekanisme antioksidan.

Metode Penelitian

Penyiapan bahan alam

Sampel penelitian 250 g akar kucing (akar *Acalypha indica* = AI) diperoleh dari kawasan Depok Jawa Barat selanjutnya di determinasi oleh LIPI Bogor dan dimaserasi sehingga didapat ekstrak etanol AI 15 g. Herba pegagan (*Centella asiatica*=CA) diperoleh dari Balitro Bogor 500 g, dimaserasi dan didapat ekstrak etanol CA 60 g. Ekstrak etanol AI dan CA diperoleh dengan metode maserasi menggunakan etanol 70%.

Penyiapan hewan sebelum evaluasi efek

Penelitian dilakukan pada tikus jantan *Sprague Dawley* usia 8-12 minggu dengan berat badan 150-200 gram yang diperoleh dari Pusat Penelitian dan Pengembangan Kementerian Kesehatan. Penelitian telah mendapat persetujuan etik nomor 484/H2F1/ETIK/2013. Tikus diaklimatisasi selama 7 hari sebelum penelitian dimulai. Sejumlah 28 ekor tikus dibagi ke dalam 7 kelompok secara acak dengan distribusi Seperti Pada Tabel 1.

Pemeriksaan analisis gas darah arteri dilakukan pada awal penelitian pada kelompok kontrol normal dan hipoksia di Departemen Patologi klinik RSCM untuk memastikan terjadi kondisi hipoksia.

Tabel 1. Penyiapan hewan sebelum evaluasi efek

Kelompok tikus	Perlakuan	
	7 hari pertama**)	7 hari kedua
Kontrol normal (K)	Tanpa induksi hipoksia	Tanpa perlakuan
Kontrol hipoksia (A)	Induksi hipoksia	Aquades
Kombinasi I (B)	Induksi hipoksia	AI 200 mg/kgBB+ CA 150mg/kg
Kombinasi II (C)	Induksi hipoksia	AI 250 mg/kgBB+ CA 100 mg/kg
Tunggal I (D)	Induksi hipoksia	Ekstrak AI 250 mg/kg
Tunggal II (E)	Induksi hipoksia	Ekstrak CA 150 mg/kg
Kontrol Positif (F)	Induksi hipoksia	Vitamin C 100 mg/kg

*) Dosis ditentukan berdasarkan hasil penelitian oleh Farida dkk [11].

***) Modifikasi dosis CA dari 150 mg/kg menjadi 100 mg/kg.

Evaluasi terhadap parameter yang diamati

Tikus ditempatkan ke dalam kandang khusus (makanan dan minuman bebas) yang dialiri O₂ 10 % dan N₂ 90 % bertekanan 1 atm selama 7 hari. Pemberian bahan uji dilakukan secara peroral selama 7 hari pada hari ke-8 pascareoksigenasi 1 jam. Pada akhir studi, hewan coba diterminasi. Plasma darah diambil untuk pemeriksaan kadar MDA, kreatinin dan urea plasma. Organ ginjal dibagi 3 untuk pemeriksaan MDA, penanda kondisi hipoksia yaitu ekspresi mRNA *Hypoxia Inducible Factor* (mRNA HIF-1 α) dan histopatologi.

Pengukuran kadar MDA dilakukan pada sampel plasma dan jaringan ginjal menggunakan metode TBA Wills. Selanjutnya serapan diukur pada panjang gelombang 530nm [18]. Data MDA plasma yang diperoleh disajikan sebagai nilai rerata sementara data MDA plasma disajikan sebagai nilai median. Kedua data yang diperoleh dilakukan uji kebermaknaan menggunakan uji ANOVA. Ekspresi mRNA HIF-1 α dan 18s RNA sebagai *housekeeping gene* dengan menggunakan *One Step Real Time Quantitative Reverse Transcription* (qRT) PCR kit yang digunakan adalah KAPA SYBR® FAST qPCR dan *software* CFX Manager 3.1 dengan mesin CFX96 BioRad. Analisis ekspresi relatif mRNA dilakukan menggunakan metode Livak [19].

Penetapan kadar kreatinin plasma dilakukan terhadap plasma bebas protein (filtrat Folin Wu). Plasma bebas protein tersebut kemudian direaksikan dengan larutan pikrat alkalis dan warna yang terbentuk akan stabil selama 30 menit. Absorbansi diukur pada λ 520 nm. Kadar kreatinin plasma diperoleh dengan membandingkan antara serapan larutan uji dengan serapan larutan standar. Sementara pengukuran kadar urea darah dilakukan dengan menggunakan metode diasetil monoksim (DAM)

dan diukur pada λ 525 nm [18]. Kadar kreatinin plasma disajikan sebagai nilai median dan grafik boxplot.

Pemeriksaan histopatologi dilakukan secara *blinding* oleh peneliti dan pemeriksaan ulang oleh peneliti lainnya untuk meminimalisir bias. Perubahan histopatologi ginjal dapat diamati pada korteks ginjal khususnya kerusakan sel endotel kapiler peritubular sekitar nefron korteks dan lesi intra-glomerulus. Penilaian derajat kerusakan sel dilakukan secara skoring berdasarkan hasil mikrofotografi preparat dengan pewarnaan hematoxylin-eosin (HE) menggunakan mikroskop yang dilengkapi dengan *optilab dan software image analyzer* (PT. Miconost Transdata Nusantara, Indonesia) pada 10 lapang pandang (perbesaran 400x) [20].

Analisis statistik untuk data kadar MDA, perubahan ekspresi mRNA HIF-1 α , kadar kreatinin dan urea plasma berupa data numerik. Data yang diperoleh diuji normalitas dengan uji Saphiro-Wilk dan uji homogenitas dengan uji Lavene. Jika sebaran data normal dan homogen, maka analisis data dilanjutkan dengan uji parametrik ANOVA satu arah ($p < 0,05$). Data yang tidak terdistribusi normal ditransformasi terlebih dahulu kemudian dianalisis kembali normalitas dan homogenitas data. Jika tetap tidak memenuhi syarat uji parametrik maka digunakan uji Kruskal-Wallis yang diikuti uji Mann-Whitney. Uji korelasi dilakukan untuk mengetahui hubungan antara kadar MDA ginjal dengan MDA plasma, MDA ginjal dengan rasio ekspresi mRNA HIF-1 α , kadar MDA ginjal, kadar kreatinin dan urea plasma dengan gambaran histopatologi pada kondisi hipoksia. Uji korelasi difokuskan pada kelompok hipoksia+air dan kelompok kontrol normal. Seluruh analisis statistik dilakukan dengan SPSS 16.

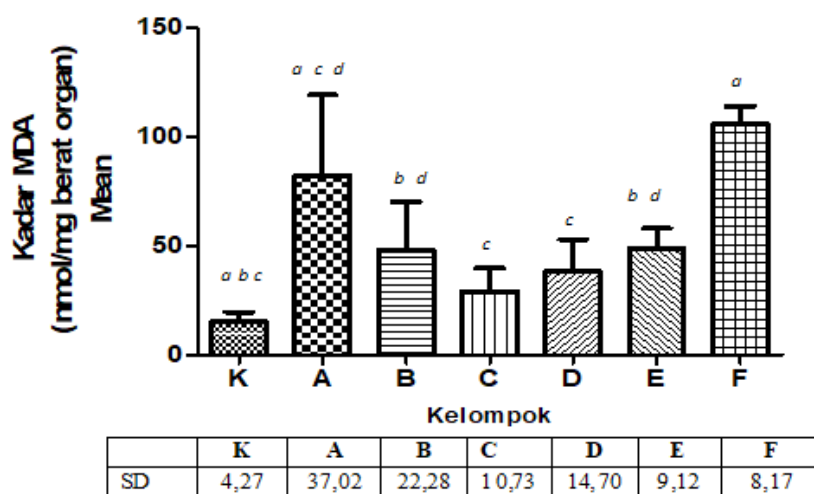
Hasil dan Diskusi

Model eksperimental yang digunakan adalah induksi hipoksia yang dilakukan berdasarkan studi pendahuluan oleh Farida dkk, Jusman, Lionika [14,21,22]. Kondisi hipoksia pada penelitian ini dipastikan dengan analisis gas darah arteri pada kelompok tikus normal dan kelompok tikus hipoksia di Departemen Patologi Klinik RSCM. Hasil uji menunjukkan terjadi penurunan pH darah dan oksigen saturasi serta peningkatan tekanan karbondioksida (pCO₂) pada kelompok hipoksia. Penurunan pH menunjukkan bahwa tikus mengalami asidosis dan penurunan oksigen saturasi menggambarkan keadaan hipoksemia. Sementara peningkatan pCO₂ menggambarkan terjadinya asidosis respiratorik [23]. Selain pemeriksaan analisis gas darah arteri, keberhasilan induksi hipoksia pada penelitian ini ditandai dengan terjadinya peningkatan kadar MDA, ekspresi relatif mRNA HIF-1 α , kadar urea plasma, kadar kreatinin plasma, lesi intra-glomerulus dan derajat kerusakan sel endotel kapiler peritubular secara bermakna pada kelompok hipoksia (A) dibanding kelompok kontrol normal (K) p<0,05.

Pemberian terapi pascahipoksia dapat menurunkan kadar MDA jaringan ginjal secara bermakna pada p<0,05 dengan urutan terbaik pada kelompok C dan D. Efek penurunan kadar MDA pada penelitian ini sejalan dengan

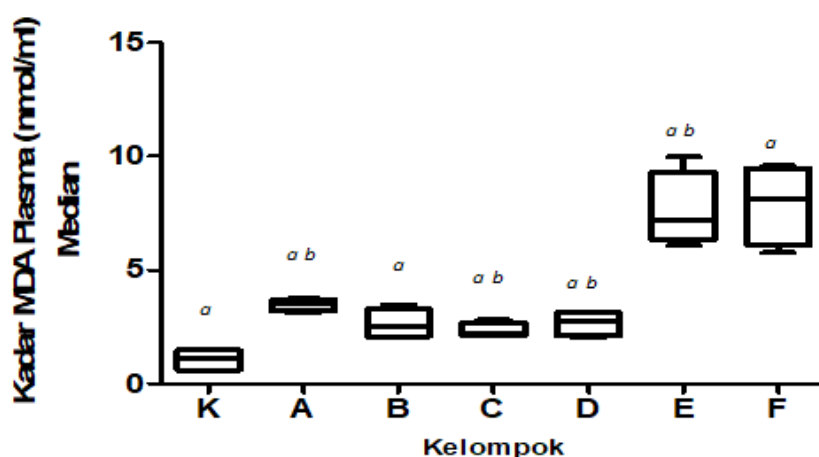
studi yang dilakukan oleh Hartono S [15]. Penurunan kadar MDA pada kelompok kombinasi dan tunggal kemungkinan disebabkan kemampuan dari senyawa flavonoid yang terkandung pada *Acalypha indica* dan *Centella asiatica* untuk menangkap radikal bebas yang dihasilkan oleh aliran udara pada *hypoxic chamber* sehingga menghambat peroksidasi lipid pada ginjal. Aktivitas flavonoid sebagai antioksidan yaitu dengan cara mendonorkan ion hidrogen sehingga membentuk radikal fenoksil yang bersifat kurang reaktif sehingga dapat menetralkan efek toksik akibat radikal bebas [24].

Pada kelompok vitamin C (F) terjadi peningkatan kadar MDA lebih tinggi dibandingkan kelompok A. Hal ini menunjukkan pemilihan dosis vitamin C 100 mg/kg sebagai antioksidan belum tepat sehingga tidak memberikan efek proteksi terhadap ginjal. Studi Padayatty menjelaskan bahwa vitamin C dapat berperan sebagai antioksidan dan prooksidan tergantung dosis lazim, aturan pakai (oral atau iv) dan lama pemakaian [25]. Pada penelitian ini digunakan vitamin C 100 mg/kg yang diperoleh dari hasil konversi dosis maksimum manusia [26]. Sehingga pada penelitian selanjutnya pemilihan dosis vitamin C sebagai antioksidan pada tikus perlu dipertimbangkan. Pemilihan dosis dapat mengacu ke penelitian Djurasevic et al yang menunjukkan bahwa dosis vitamin C 25 mg/kgBB dapat menurunkan peroksidasi lipid pada tikus wistar jantan [27].

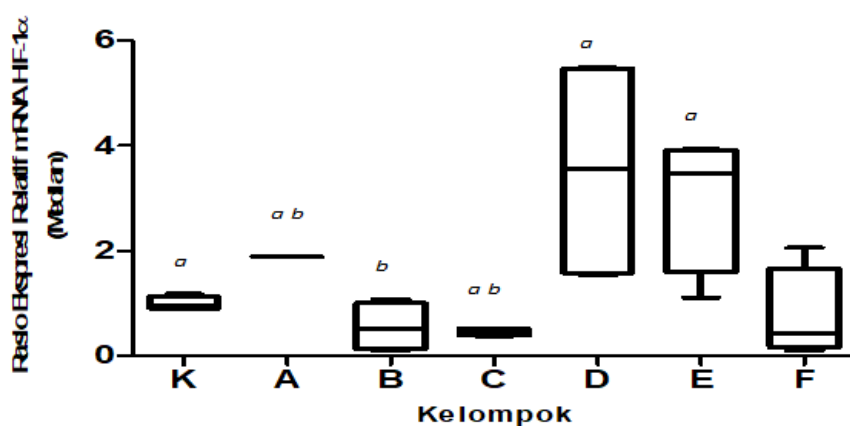


Gambar 1. Kadar Malondialdehid per Berat Organ Ginjal Tikus

K: Normal, A: Hipoksia+air, B: Hipoksia+(AI 200 mg/kg+CA 150 mg/kg), C: Hipoksia+ (AI 250 mg/kg+CA 100 mg/kg), D: Hipoksia+ AI 250 mg/kg), E: Hipoksia+tunggal 2 (CA 150 mg/kg), F: Hipoksia+ vit C (100 mg/kg)



Gambar 2. Kadar Malondialdehid Plasma



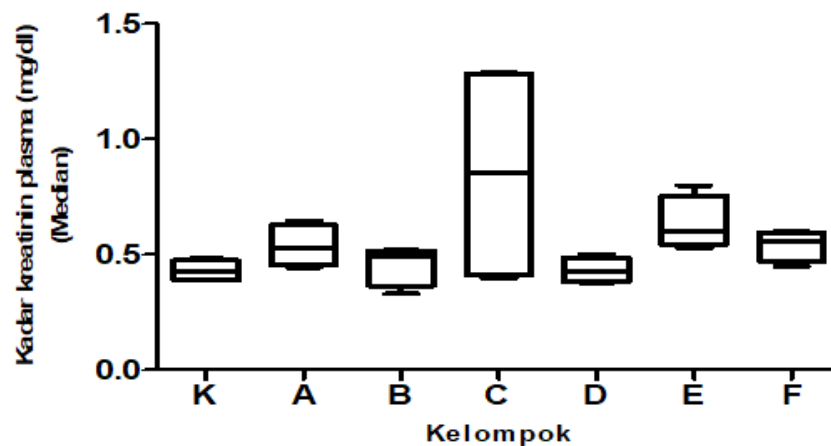
Gambar 3. Rasio Ekspresi relatif mRNA HIF-1 α pada ginjal tikus (data dinormalisasi terhadap kelompok hipoksia+air (A)).

Pada penelitian ini dilakukan uji korelasi untuk mengetahui hubungan antara kadar MDA ginjal dan lesi intra-glomerulus. Hasil uji korelasi menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar MDA ginjal maka semakin tinggi resiko terjadi lesi intra-glomerulus. Hal ini sejalan dengan penelitian Nezhad yang menyatakan bahwa peningkatan kadar MDA akan mengubah struktur dan fungsi membran yang ditandai dengan pembesaran glomerulus, lesi glomerulus, hipertrofi sel epitel pars visceral dan proliferasi kapiler diluar glomerulus [28].

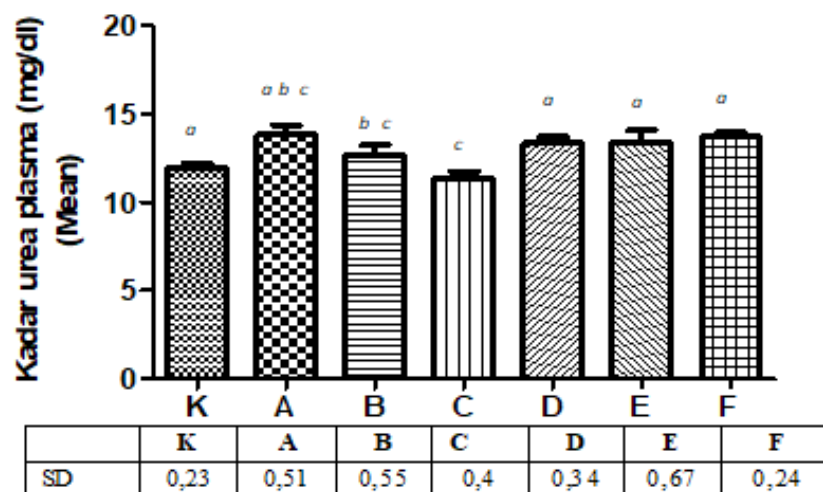
Analisis ekspresi relatif mRNA HIF-1 α pada ginjal tikus pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan *real time* RT-PCR. Pemberian terapi kombinasi 1 (B) dan 2 (C) mengakibatkan penurunan rasio ekspresi relatif mRNA HIF-1 α secara bermakna ($p < 0,05$) terhadap kelompok hipoksia (A). Penurunan rasio ekspresi relatif

mRNA HIF-1 α kemungkinan disebabkan oleh respon adaptasi sistemik lebih dominan untuk mengatasi keadaan hipoksia. Respon adaptasi ini berupa peningkatan ventilasi dan kardiovaskular untuk memperbaiki oksigenasi di ginjal [29,30].

Pada pemberian *Acalypha indica* tunggal dosis 250 mg/kgBB (D) terjadi penurunan kadar MDA dan secara bersamaan terjadi peningkatan ekspresi relatif mRNA HIF-1 α dibanding kelompok hipoksia (A). Hal ini kemungkinan disebabkan karena kadar flavonoid pada akar *Acalypha indica* belum mampu mengatasi stres oksidatif yang disebabkan oleh hipoksia. Selain itu ekspresi mRNA HIF-1 α yang tinggi dapat dipengaruhi oleh faktor lain seperti NF κ B, angiotensin II, interleukin-1, *reactive oxygen species* H₂O₂ (ROS) dan enzim prolil hidroksilase yang tidak diukur pada penelitian ini [7,31,32].



Gambar 4. Kadar Kreatinin Plasma Tikus



Gambar 5. Kadar urea plasma tikus

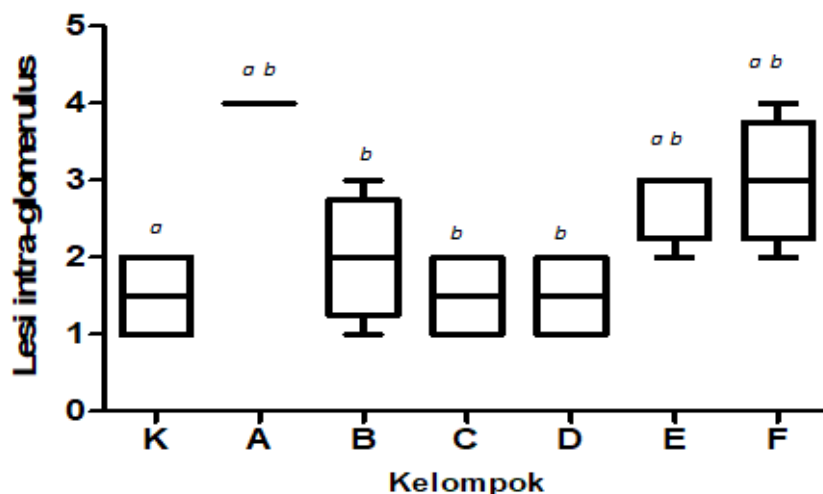
Pada penelitian ini pemberian bahan uji pada semua kelompok tikus selama 7 hari pascahipoksia tidak mempengaruhi fungsi ginjal. Hal ini terlihat dari kadar kreatinin dan urea plasma pada semua kelompok masih berada pada kisaran nilai normal yaitu 0,2-0,8 mg/dl untuk kadar kreatinin plasma dan 15-21 mg/dl [33]. Penurunan kadar kreatinin plasma pada semua kelompok terapi sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Sathya et al [34].

Hasil analisis histopatologi lesi intra glomerulus disajikan dalam rerata dan grafik boxplot pada gambar 6. Pada kondisi hipoksia terjadi lesi intra glomerulus dibanding kelompok normal. Peningkatan lesi intra-glomerulus pascahipoksia ini sejalan dengan penelitian Novoa et al bahwa hipoksia merupakan salah satu penyebab terjadi lesi intra-glomerulus baik bersifat *segmental* maupun *focal*, akibat ketidakmampuan glomerulus beradaptasi terhadap keadaan

hipoksia [35]. Kerusakan glomerulus dapat disebabkan karena terjadi peningkatan tekanan intraglomerulus sebagai respon terhadap peningkatan senyawa vaso aktif angiotensin II dan peningkatan sitokin proinflamasi seperti TGF- β , TNF- α , IL-1 dan prostaglandin [4,36].

Pemberian terapi menunjukkan perbaikan derajat lesi intra-glomerulus dibanding kelompok A, dengan hasil yang terbaik pada kelompok C dan D. Hasil tersebut kemungkinan disebabkan oleh kandungan flavonoid pada akar *Acalypha indica* pada dosis 250 mg/kgBB baik dalam bentuk tunggal maupun dalam bentuk kombinasi dengan herba *Centella asiatica* 100 mg/kgBB berkhasiat sebagai antiinflamasi, antioksidan serta menghambat oksidasi LDL yang berperan menyebabkan lesi endotelial [37].

Perubahan pada sel endotel kapiler peritubular merupakan respon fisiologis terhadap keadaan hipoksia

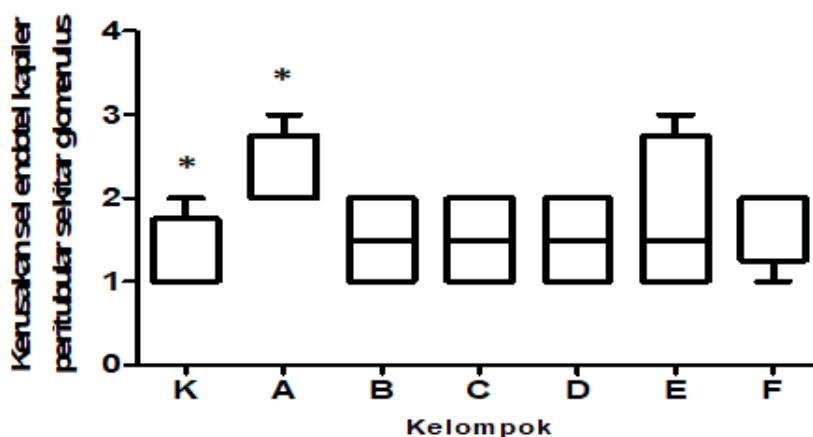


Gambar 6. Derajat lesi intra-glomerulus

[36]. Hasil penelitian ini menunjukkan perlakuan hipoksia mengakibatkan peningkatan derajat kerusakan sel endotel kapiler peritubular sekitar nefron korteks pada kelompok hipoksia dibanding kelompok kontrol. Perbandingan derajat kerusakan sel endotel kapiler peritubular sekitar nefron korteks disajikan dalam rerata dan grafik boxplot yang dapat dilihat pada Gambar 7.

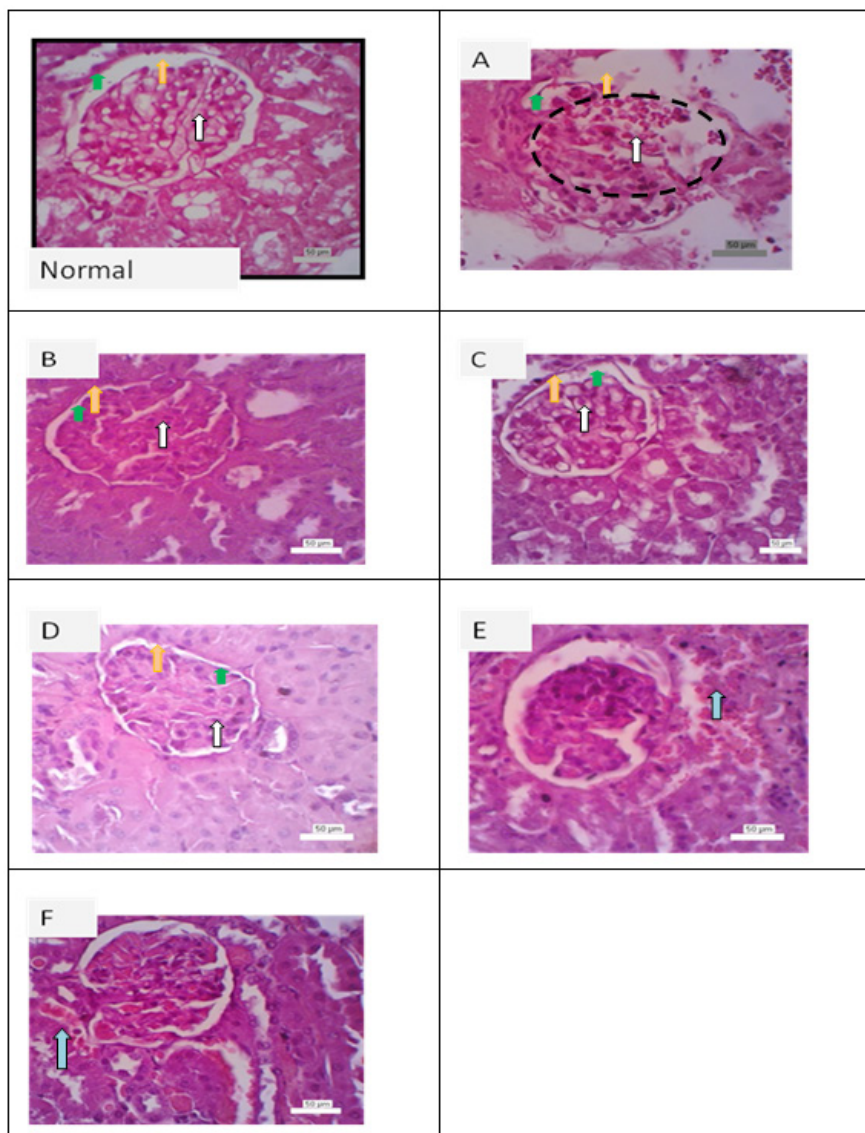
Perbandingan gambaran histopatologi ginjal antara kelompok kontrol dan terapi disajikan pada Gambar 8. Perbedaan bermakna terlihat pada kelompok hipoksia (A) dibanding kelompok normal yaitu terjadi kerusakan glomerulus yang ditandai dengan kerusakan kapsula Bowman pars parietal dan kapsula Bowman pars visceral, lesi kapiler intra-glomerulus bersifat menyeluruh (*focal*), penurunan jumlah sel mesangial dan penyempitan ruang Bowman. Pemberian terapi dapat memperbaiki gambaran

histopatologi dengan urutan terbaik yaitu kelompok C, D yang menunjukkan gambaran keseluruhan glomerulus hampir sama dengan kelompok normal. Selain itu gambaran histopatologi juga menunjukkan kapsula bowman pars parietal (panah orange) dan kapsula bowman pars visceral (panah putih) utuh, ruang bowman (panah hijau) dan kapiler peritubular normal (panah biru). Berdasarkan penelusuran pustaka diketahui bahwa terdapat korelasi antara penanda fungsi ginjal (kreatinin dan urea plasma) dengan gambaran histopatologi. Penurunan fungsi ginjal akan mengakibatkan aliran darah ke ginjal menurun sehingga mengakibatkan tekanan darah intra-glomerular meningkat. Pada kondisi ini glomerulus akan beradaptasi dengan proliferasi sel mesangial, produksi matrik ekstra selular mesangial dan perubahan pada *glomerular basement membran* [35,36]



Gambar 7. Derajat kerusakan sel endotel kapiler peritubular sekitar nefron korteks

Data disajikan dalam rerata dan grafik boxplot. Tidak terdapat perbedaan secara bermakna antara kelompok tikus kontrol dan kelompok perlakuan (Kruskal Wallis, $p=0,184$).



Gambar 8. Perbedaan Histologi Lesi Glomerulus dan Ekstraglomerulus Ginjal

Pewarnaan HE perbesaran 400 x. K: Normal, A: Hipoksia+air, B: Hipoksia+(AI 200 mg/kg+CA 150 mg/kg), C: Hipoksia+(AI 250 mg/kg+CA 100 mg/kg), D: Hipoksia+ AI 250 mg/kg), E: Hipoksia+tunggal 2 (CA 150 mg/kg), F: Hipoksia+ vit C (100 mg/kg).

Kesimpulan

Pemberian ekstrak etanol akar *Acalypha indica* dan herba *Centella asiatica* baik tunggal dan kombinasi menunjukkan efek antioksidan pada kelompok kombinasi 2 (AI250+CA100) dan kelompok tunggal 1 (AI250) dengan cara melindungi sel ginjal tikus jantan terhadap kerusakan stres oksidatif pascahipoksia. Hal ini ditandai dengan penurunan kadar MDA ginjal dan MDA plasma, penurunan ekspresi relatif mRNA HIF-1 α pada kombinasi 2 dan perbaikan lesi intra-glomerulus serta perbaikan fungsi ginjal berupa penurunan kadar urea plasma.

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia atas dukungan fasilitas penelitian, Dr. dr Radiana Dhewayani Antarianto, M. Biomed dan Pak Ondi atas bantuan teknis pada pelaksanaan penelitian ini.

Referensi

- [1] Eckhardt KU, Bernhardt WM, Weidemann A, Warnecke C, Rosenberger C, Wiesener M. Role of hypoxia in the pathogenesis of renal disease. *Kidney Int Suppl.* 2005; 68(99): 46-51.
- [2] Gunaratman L, Bonventre JV. HIF in kidney disease and development. *J Am Soc Nephrol.* 2009; 20(9): 1877-87.
- [3] Nangaku M. Chronic hypoxia and tubulointerstitial injury: A final common pathway to end-stage renal failure. *J Am Soc Nephrol.* 2006; 17(1): 17-25.
- [4] Novoa JM, Salgado CM, Pena AB, Hernandez FJ. Common pathophysiological mechanism of chronic kidney disease: therapeutic perspective. *J Pharmacol Ther.* 2010; 128(1): 61-81.
- [5] Rossing P, Henrik P, Zeeuw D. Renoprotection by blocking the RAAS in diabetic nephropathy—fact or fiction. *J Nephrol Dial Transplant.* 2006; 21(1): 2354-57.
- [6] Poljsak B, Suput D, Milisavljevic I. Review article: Achieving between ROS & antioxidant, when use the synthetic antioxidant. *J Oxid Med and Cell Longevity.* 2013: 1-11.
- [7] Balakrishnan N, Panda AB, Raj NR, Shrivastana, Prathani R. The evaluation of nitric oxide scavenging activity of *Acalypha indica* Lin root. *Asian J Research Chem.* 2009; 2(2): 1-3.
- [8] Jagatheswari D, Deepa J, Jahabar HS, Ranganathan P. *Acalypha indica* L an important medicinal plant: A review of its traditional uses and pharmacological properties. *Int J Res Botany.* 2013; 3 (1): 19-22.
- [9] Brinckmann J, Lindenmaier M. Herbal drugs and phytopharmaceuticals: A Handbook for practice in scientific basic. third edition, Medpharm Scientific Publisher, 2004. p.659-71.
- [10] Stargrove MB, Treasure J, Dwight LM. Herb, nutrient and interaction. clinical implication and therapeutic strategies. Mosby Elsevier, New York: 2008: p.681-5.
- [11] Qindong K, Costa M. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1). *J Mol Pharmacol.* 2006; 70(5): 1569-80.
- [12] Shimoda LA, Semenza GL. HIF and the lung, role of hypoxia inducible factors in pulmonary development and disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011; 183(2):152-6.
- [13] Menno P, Hofmann L, Vogt B, Muller ME, Piskunowicz M, Stuber M. Renal tissue oxygenation in essential hypertension and chronic kidney disease. *Int J Hypertension.* 2013; 2013(1): 1-6.
- [14] Farida S, Krisnamurti DGB, Sianipar I, Mudjihartini N. Efek Neuroterapi Kombinasi Ekstrak Akar Kucing (*Acalypha indica* L) dan Pegagan (*Centella asiatica* L) pada sel neuron tikus Sprague Dawley pascahipoksia, 2010. [unpublished].
- [15] Hartono. Pengaruh Durasi Pemberian Kombinasi Akar Kucing (*Acalypha indica*) dan Pegagan (*Centella asiatica*) terhadap Perubahan Kadar MDA dalam Ginjal Tikus Pascahipoksia [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2014
- [16] Pandith A. Phytochemical screening of certain plant species of Agracity. *J Drug Delivery and Ther.* 2012; 2(4): 135-38.
- [17] Rahman M, Hossain S, Rahman A, Fatima N, Nahar T, Uddin B, et al. Antioxidant activity of *Centella asiatica* (Linn) urban: impact of extraction solvent polarity. *J Pharmacognosy and Phytochemistry.* 2013; 1(6): 27-32.
- [18] Soewoto H, Sadikin M, Kurniati V, Retno D, Abadi P, Prijanti AR et al, Biokimia eksperimen laboratorium biokimia. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta: 2001. Hal 121-69.
- [19] O' Connel J. Methods in molecular biology: RT PCR protocols. Department of Medicine, National University of Ireland, Cork, Ireland. Humana Press. Totowa, New Jersey. 2002.p.3-19
- [20] Calado A. Introduction to the renal histopathology the glomerular evaluation by routine optic microscopy. *J Experimental Pathol and Health Sci.* 2013;7(1): 19-24.
- [21] Jusman SWA. Respon Jaringan Hati Terhadap Hipoksia Sistemik Kronik: Regulasi Ekspresi Gen Sitoglobin oleh Hypoxia Inducible Factor-1 α [Disertasi]. Jakarta: Program Doktor Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2010.
- [22] Lionika WO. Pengaruh Kombinasi Ekstrak Akar Kucing (*Acalypha indica*) dan Pegagan (*Centella asiatica*) pada Stimulasi Neurogenesis di Girus Dentatus Eksternus Tikus Sprague Dawley Pascahipoksia [Skripsi]. Jakarta. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2011.
- [23] Sood P, Paul G, Puri S. Interpretation of arterial blood gas. *Indian J Crit Care Med.* 2010; 14(2): 57-64
- [24] Shandhar HK, Kumar B, Prasher S, Tiwari P, Shalhan M, Sharma P. A Review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids. *Int Pharm Sci India J.* 2012; 1(1): 25-38.
- [25] Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee J. Vitamin c as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *J Am Coll of Nutr.* 2003; 22(1): 18-35.
- [26] Hacisevki A. An Overview of ascorbic acid biochemistry. *Ankara J Fac Pharm.* 2009; 38(3): 233-55.
- [27] Djurasevic SF, Djordjevic J, Drenca T, Jasnic N, Cvijic G. Influence of vitamin c supplementation on the oxidative status of rat liver. *Arch Biol Sci Journal Belgrade.* 2008; 60(2): 169-73.
- [28] Nezhad ST, Momeni B, Basitranian M. Glomerular malondialdehyde levels in patients with focal & segmental glomerulosclerosis and minimal change disease. *Saudi J Kid Dis Transplant.* 2010; 12(5): 886-91.
- [29] Michiels C. Physiology and pathological responses to hypoxia. *Am J Pathology.* 2004; 164 (6):1875-81.
- [30] Kumar V, Abbas A, Fausto N, Mitchell R. Cell injury, cell death and adaptation. Robbins Basic Pathology, 8th ed, Elsevier. 2010 (1), p.1-28.
- [31] Belaiba RS, Bonello S, Zahringer C, Schmidt S, Hess J, Kietzmann T, Goralach A. Hypoxia up-regulated hypoxia inducible factor-1 α transcription by involving phosphatidylinositol-3 kinase and nuclear factor kappaB in pulmonary artery smooth muscle cell. *Mol Biol Cell J.* 2007; 18(12): 4691-7.
- [32] Page EL, Robitaille GA, Pouysegur J, Richard DE. Induction of hypoxia inducible factor-1 α by transcriptional and translational mechanisms. *J Biol Chem.* 2002; 277(50):48403-9.
- [33] Cathy A, Johnson D. Exotic companion medicine handbook for veterinarian. 3rd ed. Zoological Education Network. Florida. 2008 : p 98
- [34] Sathya M, Kokilavani R, ananta T. Acute & sub acute toxicity studies of ethanolic extract of *Acalypha indica* Linn in male wistar albino rat. *J Pharm and Clin Res.* 2012; 5(1): 97-100.
- [35] Novoa J, Pena AB, Ortiz A, Salgado CM, Hernandez. Etiopathology of chronic tubular, glomerular and renovascular. *J Trans Med.* 2011, 9 (13): 1-26.
- [36] Vadim S, Pinsky DJ. Endothelial response to hypoxia: Physiologic adaptation and pathologic dysfunction. *J Curr Crit Care.* 2002; 8(3): 242-50.
- [37] Grassi D, Desideri G, Ferry C. Flavonoids: Antioxidants against atherosclerosis. *J Nutrients.* 2010; 2(8): 889-902



Copyright © 2018 The author(s). You are free to share (copy and redistribute the material in any medium or format) and adapt (remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially) under the following terms: Attribution — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; ShareAlike — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)