

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK DAUN MANGGA
ARUMANIS (*Mangifera indica* L.) SEBAGAI
NEFROPROTEKTOR PADA TIKUS PUTIH JANTAN
YANG DIINDUKSI GENTAMISIN**

SKRIPSI



Oleh :

ESSI FADILA WARNI
NIM 1904113

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2023**

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ginjal adalah organ penting yang berfungsi menjaga komposisi darah dengan mencegah menumpuknya limbah dan mengendalikan keseimbangan cairan dalam tubuh, menjaga level elektrolit seperti natrium, kalium, dan fosfat tetap stabil, serta memproduksi hormon dan enzim yang membantu dalam mengendalikan tekanan darah, membuat sel darah merah dan menjaga tulang tetap kuat (Kemenkes RI, 2017).

Prevalensi penyakit gagal ginjal di Indonesia semakin meningkat setiap tahunnya, pada tahun 2018 penyakit gagal ginjal sebesar 3,8%, dan untuk provinsi Sumatera Barat penderita gagal ginjal sebesar 3,5% (Riskesdas, 2018). Kerusakan ginjal disebabkan karena adanya infeksi bakteri, virus, ataupun zat-zat kimia. Salah satu zat kimia yang dapat menyebabkan kerusakan ginjal adalah antibiotik golongan aminoglikosida seperti gentamisin (Normasari, Dewi, & Rachmania, 2017).

Nefrotoksisitas juga disebabkan karena terjadinya stress oksidatif pada ginjal yang ditandai dengan kerusakan pada organ ginjal dan terdapat peningkatan ringan kreatinin serum dan urea serum yang ditandai oleh adanya nekrosis sel-sel epitel tubulus ginjal yang merupakan penyebab utama terjadinya gangguan fungsi ginjal (Lintong *et.al.*, 2012). Nefroprotektor merupakan suatu agen untuk melindungi ginjal (Elim & Mapanawang, 2018).

Tanaman mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) merupakan salah satu tanaman yang berpotensi sebagai obat karena mengandung senyawa metabolit sekunder. Daun mangga arumanis mengandung senyawa metabolit sekunder seperti, flavonoid, alkaloid, steroid, polifenol, tanin, dan saponin (Ningsih *et.al.*, 2017). Berdasarkan penelitian terdahulu dimana tumbuhan mangga semua varietas mengandung senyawa mangiferin yang berkhasiat sebagai antioksidan dan antiinflamasi, 67% di daun, 21% di kulit batang, dan 17% di kulit buahnya (Bhuvaneswari, 2012; Prakoso, 2021). Sedangkan untuk penelitian efek terapi sebagai nefroprotektor belum pernah dilakukan.

Flavonoid mempunyai komposisi 90% diosin dan 10% hesperidin, dimana mempunyai efek meningkatkan vaskularisasi dan proteksi pada endotelium vaskular. Dari hasil studi klinik dan eksperimen flavonoid dapat meningkatkan vaskularisasi dan menurunkan udem. Pada penelitian terbaru membuktikan bahwa flavonoid mempunyai efek antiinflamasi, antioksidan (Acar *dkk*, 2002; Andriza, 2021).

Mekanisme dari kerja flavonoid sebagai nefroprotektor adalah mencegah stress oksidatif di ginjal dengan cara meningkatkan aktivitas antioksidan glutathione S-transferase (GSH), meningkatkan sintesis GSH dan memerangkap secara langsung *Reactive Oxygen Species* (ROS) dengan cara, mendonorkan atom H dari gugus hidroksil (OH) ke senyawa radikal bebas yang terbentuk tidak reaktif dan sementara itu senyawa flavonoid yang menjadi donor berubah menjadi senyawa flavonoid radikal yang akan berikatan dengan senyawa flavonoid radikal lainnya menjadi bentuk yang tidak reaktif (Dahal & Mulukuri, 2015; Idacahyati, *dkk*, 2021).

Gentamisin adalah antibiotik yang banyak digunakan dimasyarakat dan memiliki spektrum luas. Tetapi gentamisin juga memiliki efek nefrotoksis yang dapat mengganggu fungsi ginjal, karena gentamisin dapat menyebabkan nekrosis sel-sel epitel tubulus. Setelah di filtrasi melalui glomerulus, sebagian kecil dari gentamisin akan tertahan pada tubulus proksimal terutama didalam lisosom, aparatus golgi, dan retikulum endoplasma. Hal inilah yang dapat memicu terjadinya gangguan fungsi ginjal (Deghani *et.al.*, 2011; Sujono *et.al.*, 2020).

Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan penelitian mengenai Uji Aktivitas Ekstrak Daun Mangga Arumanis (*Mangifera indica* L.) sebagai Nefroprotektor pada Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Gentamisin.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak daun mangga arumanis (*Mangifera Indica* L.) memiliki efek nefroprotektor pada tikus putih jantan yang diinduksi gentamisin ?.
2. Apakah variasi dosis ekstrak daun mangga arumanis (*Mangifera Indica* L.) dapat mempengaruhi efek nefroprotektor pada tikus putih jantan yang diinduksi gentamisin ?.
3. Apakah ekstrak daun mangga arumanis (*Mangifera Indica* L.) dapat mempengaruhi histopatologi ginjal pada tikus putih jantan yang diinduksi gentamisin ?.

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk melihat efek nefroprotektor ekstrak daun mangga arumanis (*Mangifera Indica* L.) pada tikus putih jantan yang diinduksi gentamisin.
2. Untuk mengetahui pengaruh variasi dosis daun mangga arumanis (*Mangifera Indica* L.) terhadap efek nefroprotektor pada tikus putih jantan yang diinduksi gentamisin.
3. Untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun mangga arumanis (*Mangifera Indica* L.) terhadap histopatologi ginjal pada tikus putih jantan yang diinduksi gentamisin.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Untuk pengembangan daun mangga arumanis (*Mangifera Indica* L.) menjadi salah satu ilmu pengetahuan dan penelitian serta manfaat bagi masyarakat.
2. Untuk menambah pengetahuan dan wawasan mengenai penelitian tentang uji aktivitas ekstrak daun mangga arumanis (*Mangifera Indica* L.) sebagai nefroprotektor dengan induksi gentamisin.
3. Untuk menambah inventaris tanaman obat yang berkhasiat sebagai nefroprotektif.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Biologi Tumbuhan Mangga Arumanis (*Mangifera Indica* L.)

2.1.1 Klasifikasi

Menurut *Natural Resource Conservation Service United State of Departement Agriculture (2017)*, klasifikasi tanaman mangga adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Superdivision : Spermatophyta
Division : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Subclass : Rosidae
Ordo : Sapindales
Family : Anacardiaceae
Genus : *Mangifera* L.
Species : *Mangifera indica* L. (var Arumanis)



(Gambar 1. Daun mangga arumanis (*Mangifera indica* L.))

2.1.2 Morfologi Tanaman Mangga Arumanis(*Mangifera Indica* L.)

Mangga arumanis memiliki bentuk morfologi yang membedakan dari jenis varietas mangga lainnya baik dari segi akar, ukuran batang, bentuk daun, bunga serta buah. Mangga arumanis ini memiliki bentuk batang dan percabangan yang banyak. Diameter batang berkisar antara 150-210cm dengan bentuk batang bulat serta bewarna kecoklatan (Ichsan & Wijaya, 2015; Hajir, 2021).

Memiliki daun sederhana dengan panjang tangkai mencapai 1-12cm dan biasanya berbentuk lonjong. Daun tua bewarna hijau dengan bagian atasnya mengkilap. Daun muda bewarna keunguan, dan akan berubah menjadi warna hijau seperti daun tua (Bally, 2006; Hajir, 2021).

Buah mangga memiliki keanekaragaman bentuk antara lain bulat, bulat pendek dengan ujung pipih, dan bulat panjang agak pipih. Buah mangga yang muda memiliki kulit yang bewarna hijau dan menjelang matang berubah warna menurut jenis dan varietasnya. Buah mangga yang masih muda umumnya memiliki daging buah yang bewarna kuning keputih-putihan, menjelang tua berubah menjadi kekuning-kuningan. Biji mangga berkeping dua dan memiliki sifat poli embrional karena dari satu biji dapat tumbuh lebih dari satu bakal tanaman (Rukmana, 1997; Hajir, 2021).

Bunga dari daun mangga ini yakni majemuk dan panjangnya kurang lebih 30-45cm dan bunga seperti piramida lancip dengan warna kuning muda agak kemerahan. Tangkai bunga bewarna hijau kemerahan (Ichsan & Wijaya, 2015; Hajir, 2021).

2.1.3 Habitat dan Distribusi Geografis

Tanaman mangga arumanis (*Mangifera Indica* L.) ini merupakan jenis buah yang bisa tumbuh dengan baik didaerah yang beriklim tropis atau kering. Kriteria ketinggian yang baik antara 20-1500 Mdpl. Kondisi lingkungan yang ideal bagi tanaman ini dengan curah hujan tahunan 1500-2000 mm/tahun. Tanah yang cocok untuk pertumbuhan tanaman ini yakni dengan PH berkisar antara 6-7. Suhu udara yang cocok untuk tanaman mangga yakni berkisar antara 25°C-32°C (Sutono, 2008; Hajir, 2021).

Distribusi geografis tanaman mangga ini banyak tersebar hampir diseluruh dunia khususnya di bagian negara India yang merupakan negara asal buah mangga, Srilanka, Pakistan serta Indonesia. Sementara tanaman mangga di Indonesia terbanyak yaitu di Indramayu, Cirebon, Majalengka, Tegal, Kudus, Pati, Magelang, Boyolali, Pasuruan, Probolinggo, Nganjuk, Pamekasan, dan Yogyakarta (Sutono, 2008; Hajir, 2021).

2.1.4 Kandungan Kimia

Kandungan kimia yang ada pada tanaman mangga arumanis (*Mangifera Indica* L.) telah banyak diketahui orang bahwa adanya vitamin C yang banyak terdapat pada buah mangga terbukti dengan rasa asam yang dimiliki buah mangga (Syah, Suwendar, & Mulqie, 2015). Biji buah mangga yang mengandung karbohidrat dengan kadar 19,53%. Selain itu kandungan khas yang dimiliki tanaman mangga yaitu mangiferin . Mangiferin adalah kandungan senyawa aktif yang termasuk dalam golongan flavonoid. Mangiferin diekstraksi dari tanaman mangga dengan konsentrasi tertinggi yaitu berasal dari bagian daun mangga. Daun mangga muda menghasilkan mangiferin 172g/kg. Sedangkan daun mangga tua

menghasilkan 94g/kg mangiferin (Namita & Mukesh, 2012; Hajir, 2021). Selain mangiferin kandungan kimia yang banyak terkandung dalam daun mangga adalah Alkaloid, Saponin, Tanin, Kuinon, Steroid & Triterpenoid, Polifenol, Monoterpen & Sesquiterpen (Syah *et.al.*, 2015; Hajir, 2021).

Tabel.1. Kandungan kimia Daun Mangga.

Golongan Senyawa	Identifikasi	
	Simplisia	Ekstrak
Alkaloid	+	+
Saponin	-	-
Tanin	+	+
Kuinon	+	+
Steroid & Triterpenoid	+	+
Polifenol	+	+
Monoterpen & Sesquiterpen	+	+

Keterangan : (+) terdeteksi (-) tidak terdeteksi

(Sumber : Syah *et.al.*, 2015; Hajir, 2021)

Kandungan senyawa kimia yang berupa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kuinon, dan senyawa lainnya seperti yang tercantum dalam (Tabel 1).

Kandungan kimia tersebar dalam seluruh bagian tanaman baik pada bagian kulit, biji, bunga, batang, serta daun mangga. Akan tetapi, kandungan senyawa pada tiap bagian tanaman mangga berbeda-beda. Bagian daun mangga adalah bagian yang mengandung senyawa aktif lebih banyak dibandingkan senyawa lainnya (Namita & Mukesh, 2012; Hajir, 2021).

2.1.5 Manfaat

Tanaman mangga termasuk kedalam tanaman obat karena banyak mengandung manfaat. Bagian tanaman mangga banyak mengandung manfaat baik pada bagian akar, kulit, daun, bunga, buah maupun biji. Bagian akar dan kulit daun mangga dapat dimanfaatkan antara lain sebagai zat antiinflamasi, antisebelit, sebagai obat sembelit, serta dapat dimanfaatkan sebagai obat luka. Bagian bunga daun mangga dapat dimanfaatkan sebagai antisebelit, mengobati bisul, luka, diare, disentri kronis serta anemia (Parvez, 2016; Hajir, 2021).

Bagian buah pada tanaman ini banyak dimanfaatkan sebagai sumber vitamin yang dibutuhkan lagi bagi tubuh. Selain sebagai sumber vitamin, buah mangga dapat bermanfaat sebagai obat pencahar, sebagai obat pemberhenti pendarahan rahim, paru-paru, usus, kekurangan dan anemia. Selain itu biji mangga dapat digunakan sebagai produk bioetanol yang berasal dari sumber hayati (Parvez, 2016; Hajir, 2021).

Daun pada tanaman mangga juga banyak mengandung manfaat, diantaranya penyembuhan luka, bisul, diare, dan disentri (Parvez, 2016; Hajir, 2021). Daun mangga yang mengandung banyak senyawa kimia telah diteliti oleh beberapa peneliti memiliki fungsi dan manfaat antara lain sebagai antioksidan, analgesik, antidiabetes, antiinflamasi, antitumor, antimikroba, dan peningkat stamina atau daya tahan tubuh (Jutiviboonsuk & Sardsaengjun, 2010; Hajir, 2021).

Pada penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh (Ningsih *et.al.*, 2014) ekstrak metanol daun mangga terbukti dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dikarenakan dalam daun mangga terdapat kandungan metabolit

sekunder yang memiliki berbagai khasiat salah satunya dalam menghambat pertumbuhan jamur atau sebagai antifungi. Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Ashiqetal, 2017) ekstrak daun mangga mampu menghambat pertumbuhan miselium terhadap jamur *Aspergillusflavus*, *Rhizopusstolonifer* dan *Penicillium digitatum* dengan konsentrasi hambat maksimum 60%.

2.2 Ginjal

2.2.1 Tinjauan Anatomi dan Fisiologi Ginjal

Ginjal merupakan sepasang organ berbentuk seperti kacang bewarna merah coklat yang terletak dikedua sisi kolumna vertebralis, ginjal kanan sedikit lebih rendah dibandingkan ginjal kiri karena tertekan kebawah oleh hati (Price dan Wilson, 1994; Wilfatri, 2018).

Pada orang dewasa, panjang lingkaran ginjal adalah sekitar 12cm sampai 13cm, lebarnya lingkaran 6cm, tebalnya 2,5cm, dan beratnya sekitar 150g. Ukurannya tidak berbeda menurut bentuk dan ukuran tubuh. Perbedaan panjang dari kutub pertama ke kutub kedua ginjal yang lebih dari 1,5cm atau perubahan bentuk merupakan tanda yang penting, karena sebagian besar manifestasi penyakit ginjal adalah perubahan struktur dari ginjal tersebut (price dan Wilson, 2006; Wilfatri, 2018)

Ginjal merupakan salah satu organ tubuh yang memiliki fungsi ekskresi dan non-ekskresi. Beberapa fungsi ekskresi ginjal adalah mempertahankan osmolaritas plasma, mempertahankan kandungan air ekstraselular dan tekanan darah, serta mempertahankan derajat keasaman (PH). Fungsi non-ekskresi adalah mensintesis

dan meregulasi aktivitas hormon, mensekresi renin, menghasilkan eritropoietin, dan mensekresikan prostaglandin (Callaghan, 2009; Wilfatri, 2018).

Nefron adalah unit fungsional ginjal. Dalam setiap ginjal terdapat sekitar satu juta nefron yang pada dasarnya mempunyai struktur dan fungsi yang sama. (Price & Wilson, 1994; Wilfatri, E, 2018). Nefron terdiri dari glomerulus, tubulus kontortus proksimal, lengkung Henle, tubulus kontortus distalis dan tubulus kolektivus. Glomerulus merupakan unit kapiler yang disusun dari tubulus membentuk kapsula Bowman. Setiap glomerulus mempunyai pembuluh darah arteri afferen yang membawa darah masuk glomerulus dan pembuluh darah arteriola efferen yang membawa darah keluar glomerulus (Verdiansyah, 2016; Wilfatri, 2018).

Pembuluh darah arteriola efferen bercabang menjadi kapiler peritubulus yang menyalurkan darah tubulus. Disekeliling tubulus ginjal tersebut terdapat pembuluh kapiler, yaitu arteriola yang membawa darah dari dan menuju glomerulus, serta kapiler peritubulus yang memperdarahi jaringan ginjal (Verdiansyah, 2016; Wilfatri, 2018).

2.2.2 Gagal Ginjal

Gagal ginjal dapat dibagi menjadi dua bagian antara lain : (Kowalak, *dkk*, 2011; Wilfatri, 2018).

2.1 Gagal Ginjal Akut (GGA)

Gagal ginjal akut adalah penurunan mendadak faal ginjal dalam 48 jam yaitu berupa kenaikan kadar kreatinin serum $\geq 0,3$ mg/dl ($\geq 26,4$ $\mu\text{mol/l}$), presentasi kenaikan kreatinin serum $\geq 50\%$ ($1,5$ x kenaikan dari nilai dasar),

atau pengurangan produksi urin (oliguria yang tercatat $\leq 0,5$ ml/kg/jam dalam waktu lebih dari 6 jam) (Sudoyo, 2009; Nursyamsiah, 2019).

GGA terbagi menjadi tiga :

a) GGA pre-renal

Penyebabnya adalah hipoperfusi ginjal (menurunnya pengeluaran urin) yang disebabkan oleh hypovolemia (menurunnya volume sirkulasi yang efektif).

b) GGA renal

Disebabkan oleh kelainan vaskular seperti vasculitis, hipertensi maligna, glomerulus nefritis akut, nefritis interstitial akut dan lain sebagainya.

c) GGA post-renal

Disebabkan oleh obstruksi intra-renal karena deposisi kristal (urat, oxalate, sulfonamid) dan protein (myoglobin, hemoglobin). Obstruksi eksternal dapat terjadi pada pelvis-ureter oleh obstruksi intrinsik serta kandung kemih (batu, tumor, nekrosis papilla) dan ekstrinsik (keganasan pada pelvis dan retropenintial, fibrosis) serta pada kandung kemih (batu, tumor hipertropi / keganasan prostat) dan uretra (striktura) (Sudoyo, 2009; Nursyamsiah, 2019).

2.2 Gagal Ginjal Kronis (GGK)

Gagal ginjal kronis (GGK) adalah suatu proses patofisiologi dengan etiologi yang beragam, mengakibatkan penurunan fungsi ginjal yang progresif, dan pada umumnya berakhir dengan gagal

ginjal. Selanjutnya, gagal ginjal adalah suatu keadaan klinis yang ditandai dengan penurunan fungsi ginjal yang irreversibel, pada suatu derajat yang memerlukan terapi pengganti ginjal yang tetap berupa dialysis atau transplantasi ginjal (Sudoyo, 2009; Nursyamsiah, 2019).

2.3 Sindrom Nefrotik

Hilangnya protein kedalam urin yang terjadi karena rusaknya membran glomerulus, sehingga membran bocor dan protein plasma dapat melewatinya. Karena hilangnya protein ini dapat mengakibatkan penurunan konsentrasi protein plasma dan menyebabkan edema. Kegagalan ginjal dalam melaksanakan fungsi-fungsi vital ini menimbulkan keadaan yang disebut uremia atau penyakit ginjal stadium akhir (end stage renal disease, ESRD). Perkembangan teknik dialysis dan transplantasi ginjal terus berlanjut sejak tahun 1960 sebagai pengobatan ESRD dan sistem biaya pengobatan sejak 1973 merupakan alternatif dari risiko kematian yang hampir pasti (Price dan Wilson, 2003; Yuwanda, 2019).

2.4 Kreatinin

Kreatinin adalah produk protein otot yang merupakan hasil akhir metabolisme otot yang dilepaskan dari otot dengan kecepatan yang hampir konstan dan diekskresi dalam urin dengan kecepatan yang sama. Kreatinin diekskresikan oleh ginjal melalui kombinasi filtrasi dan sekresi, konsentrasinya relatif konstan dalam plasma dari hari ke hari, kadar yang lebih besar dari nilai normal mengisyaratkan adanya gangguan fungsi ginjal (Corwin, 2001; Hasanah, 2019).

Tabel 2. Nilai Rujukan Kadar Kreatinin (Savira, 2018).

Populasi	Sampel	Rujukan Kadar
Pria Dewasa	Serum	0,9-1,3mg/dL
Wanita Dewasa	Serum	0,6-1,1 mg/dL
Anak	Serum	0,3-0,7 mg/dL
Pria Dewasa	Urin 24 jam	800-2000 mg/dL
Wanita Dewasa	Urin 24 jam	600-1800 mg/dL

Peningkatan dua kali lipat kadar kreatinin serum mengindikasikan adanya penurunan fungsi ginjal sebesar 50%, demikian juga peningkatan kadar kreatinin tiga kali lipat mengisyaratkan penurunan fungsi ginjal sebesar 75% (Soeparman, 2001; Hasanah, 2019). Kreatinin diekskresikan seluruhnya dalam urin melalui filtrasi glomerulus. Meningkatnya kreatinin dalam darah merupakan indikasi rusaknya fungsi ginjal, selain itu, kadar kreatinin dalam darah dan dalam urin dapat digunakan untuk memperkirakan laju filtrasi glomerulus (Lu, 1995; Hasanah, N, 2019).

Dari kadar kreatinin yang didapat, dapat menghasilkan klirens kreatinin. Dapat dicari dengan persamaan Cockcroft-Gault (Sudoyo, 2009; Hasanah, N, 2019):

$$\text{Klirens kreatinin (mL/mnt)} = \frac{(140 - \text{usia}) \times \text{Berat Badan (Kg)}}{\text{Kreatinin serum } \left(\frac{\text{mg}}{\text{dL}}\right) \times 72}$$

Note : Hasil diatas dikalikan 0,85 untuk wanita.

Untuk mendapatkan nilai LFG (Laju Filtrasi Glomerulus) :

$$\text{LFG (ML/mnt / 1,73m}^2\text{)} = 186,3 \times (\text{PCr})^{-1,154} \times (\text{usia})^{-0,213}$$

Klasifikasi kerusakan ginjal berdasarkan nilai LFG (Laju Filtrasi Glomerulus) :

Tabel 3. Klasifikasi Kerusakan Ginjal Berdasarkan Nilai LFG (Sudoyo, 2009; Hasanah, 2019).

Stadium	LFG,ml/mnt/1,73m ²
Stadium 1 kerusakan ginjal dengan LFG normal atau meningkat	≥ 90
Stadium 2 kerusakan ginjal dengan LFG menurun ringan	60-89
Stadium 3 kerusakan ginjal dengan LFG menurun sedang	30-59
Stadium 4 kerusakan ginjal dengan LFG menurun berat	15-29
Stadium 5 Gagal ginjal	<15 atau dialisis

Tabel 4. Skoring Kerusakan Ginjal (Gayatri, 2017).

Degenerasi sel epitel tubular	Skor
0	1
<25	2
26-50	3
51-75	4
>76	5

2.5 Radikal Bebas dan Antioksidan

Radikal bebas adalah suatu molekul atau atom yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Radikal ini dapat berasal dari atom hidrogen, molekul oksigen atau ion logam transisi. Senyawa radikal bebas sangat reaktif dan

selalu berusaha mencari pasangan elektron agar kondisinya stabil. Radikal dapat terbentuk secara endogen dan eksogen. Radikal endogen terbentuk dalam tubuh melalui proses metabolisme normal didalam tubuh. Sementara radikal eksogen berasal dari bahan pencemar yang masuk kedalam tubuh melalui pernafasan, pencernaan, dan penyerapan kulit. Radikal bebas dalam jumlah normal bermanfaat bagi kesehatan misalnya memerangi peradangan, membunuh bakteri, dan mengendalikan tonus otot polos pembuluh darah serta organ-organ dalam tubuh. Sementara dalam jumlah berlebih mengakibatkan stress oksidatif. Keadaan tersebut dapat menyebabkan kerusakan oksidatif mulai dari tingkat sel, jaringan, hingga ke organ tubuh yang mempercepat terjadinya proses penuaan dan munculnya penyakit oleh karena itu, antioksidan dibutuhkan untuk dapat menunda atau menghambat reaksi oksidasi oleh radikal bebas (Niken, 2010; Piarameti, 2020).

Antioksidan adalah zat yang mampu memberikan satu elektron kepada radikal bebas sehingga bersifat netral. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari terbentuknya radikal bebas. Antioksidan dapat digunakan sebagai peredam radikal yang bermanfaat apabila setelah bereaksi dengan radikal bebas, akan menghasilkan radikal baru yang stabil atau senyawa bukan radikal (Stahl, 1985; Piarameti, 2020).

Berdasarkan mekanismenya, antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu:

1. Antioksidan primer

Antioksidan primer mengikuti mekanisme pemutusan rantai reaksi radikal dengan mendonorkan atom hidrogen secara cepat pada suatu lipid

yang radikal, produk yang dihasilkan lebih dari produk inisial. Contoh antioksidan ini adalah flavonoid, tokoferol, senyawa thiol, yang dapat memutus rantai reaksi propagasi dengan menyumbang elektron pada peroksi radikal dalam asam lemak (Mulholland, 2001; Piarameti, 2020).

2. Antioksidan sekunder

Antioksidan ini dapat menghilangkan penginisiasi oksigen radikal maupun nitrogen atau bereaksi dengan komponen atau enzim yang menginisiasi reaksi radikal antara lain dengan menghambat enzim pengoksidasi dan menginisiasi enzim pereduksi atau mereduksi oksigen tanpa membentuk spesies radikal yang reaktif. Contoh antioksidan sekunder : sulfit, Vitamin C, betakaroten, asam urat, billirubin, dan albumin (Mulholland, 2001; Piarameti, 2020).

2.6 Gentamisin

Gentamisin merupakan antibiotik golongan aminoglikosida yang digunakan untuk mengobati infeksi akibat bakteri Gram negatif. Aminoglikosida menginduksi toksisitas pada 10-20% kasus terapi. Nefrotoksitas akibat aminoglikosida ditandai dengan peningkatan kadar kreatinin, nekrosis tubulus, penurunan laju filtrasi glomerulus dan koefisien ultrafiltrasi. Gentamisin dapat mengubah laju filtrasi fungsi glomerulus melalui kontraksi sel mesangial serta menstimulasi proliferasi sel mesangial dan apoptosis tanpa mengubah jumlah sel total (Saptarini, 2011; Hasanah, 2019).

Bahan ini tersedia dalam bentuk gentamisin sulfat² yang tersedia dalam bentuk larutan dalam vial atau ampul 60mg/1,5 ml, 80mg/2ml, 120mg/3ml, dan

280mg/2ml. Dosis pemberian gentamisin 5-6 mg/kgBB/hari. kadar batas toksik gentamisin adalah $\leq 2\mu\text{g/mL}$. Pemberian dosis tunggal / hari menunjukkan kadar puncak 3 kali lebih tinggi dari dosis terbagi, sehingga aktivitas meningkat dan tetap aktif dalam kadar sub-KHM. Kadar obat ini dalam 12 jam setelah pemberian dosis tunggal/hari turun dibawah kadar toksik, sehingga menurunkan efek toksik yang mungkin diperoleh sewaktu mencapai kadar tinggi sebelumnya (Istiantoro, 2007; Hasanah, 2019).

Aminoglikosida sebagai polikation bersifat sangat polar, sehingga sangat sukar diabsorpsi melalui saluran cerna. Kurang dari 1 % dosis yang diberikan diabsorpsi lewat saluran cerna. Untuk mendapatkan efek sistemik yang efektif aminoglikosida perlu diberikan secara parenteral. Eksresi aminoglikosida berlangsung melalui ginjal dengan filtrasi glomerulus (Istiantoro, 2007; Hasanah, 2019).

Aminoglikosida yang diberikan dalam dosis tunggal, khususnya gentamisin, menunjukkan jumlah ekskresi renal yang kurang dari dosis yang diberikan. Karena ekskresi terjadi hampir seluruhnya berlangsung melalui ginjal, maka keadaan ini menunjukkan adanya sekuestrasi kedalam jaringan (Istiantoro, 2007; Hasanah, 2019). Beratnya nefrotoksisitas berhubungan dengan kadar obat yang tinggi dalam plasma, kadar puncak lebih dari $12\text{-}15\mu\text{g/mL}$ gentamisin diduga meningkatkan nefrotoksisitas (Istiantoro, 2007; Hasanah, 2019).

2.7 Mekanisme Terjadinya Gagal Ginjal Akut yang Diinduksi oleh

Gentamisin

Sitotoksisitas gentamisin terjadi pada sel dimana ketika obat terakumulasi pada ginjal, yaitu pada sel-sel epitel korteks terutama ditubulus proksimal, selain itu terdapat juga pada distal dan tubulus pengumpul. Gentamisin akan membentuk kompleks dengan megalin dan cubulin yang menyebabkan gentamisin dapat bergerak melewati kompartemen endosomal dan terakumulasi sebagian besar dilisosom, badan golgi dan retikulum endoplasma. Gentamisin lalu berikatan dengan membran fosfolipid dan mengubah onset dan metabolisme membran fosfolipid tersebut sehingga mengakibatkan fosfolipidosis. Ikatan gentamisin dan fosfolipid menyebabkan endositosis gentamisin ke sitosol (Novoa, 2010; Hasanah, 2019).

Gentamisin telah diketahui mempengaruhi mitokondria melalui jalur langsung dan tidak langsung. Mekanisme secara langsung adalah dengan mengaktifkan jalur intrinsik apoptosis, mempengaruhi jalur pernafasan, menghambat produksi Adenosin Triphosphate (ATP), dan menghasilkan stres oksidatif dengan cara meningkatkan anion superoksida dan hidroksi radikal yang berkontribusi pada kematian sel. Mekanisme secara tidak langsung adalah dengan menghambat degradasi proteosomal sehingga meningkatkan enzim protease aktif yaitu cathepsins yang dapat menginduksi kematian sel. Pada retikulum endoplasma, gentamisin menghambat sintesis protein, mengganggu translasi sehingga mengakibatkan stres retikulum endoplasma. Jika stimulasi dilakukan terus menerus maka apoptosis akan teraktivasi dan terjadilah kematian sel (Novoa, 2010; Hasanah, 2019).

Pada tahap akhir, akan terjadi aktivasi *Extracellular Calcium-Sensing Reseptor* (CaSR) oleh gentamisin pada basolateral lengkung henle bagian menaik yang mengakibatkan apoptosis yang lebih rendah (Novoa, 2010; Hasanah, 2019). CaSR merupakan reseptor spesifik untuk kation divalent dan trivalent, hal ini ada;ah yang mendasari gentamisin yang berupa polikation menjadi ligand yang kuat bagi CaSR. Aktivasi CaSR oleh gentamisin menyebabkan terjadinya dua hal : penurunan intraseluler produksi *cyclic adenosin monophospat* (cAMP) dan peningkatan pembentukan asam arachidonat. Kedua hal ini menyebabkan penghambatan reabsorpsi Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} (Chou, 2005; Hasanah, 2019).

Kematian sel yang diinduksi oleh gentamisin menyebabkan lesi dan nekrosis pada tubular ginjal. Hal ini berkaitan dengan kadar urea dan kreatinin yang tinggi dalam darah yang toksis terhadap tubuh (Naeshiro, 1997; Hasanah, 2019).

2.8 Mekanisme Flavonoid sebagai Senyawa yang Memperbaiki Fungsi Ginjal

Flavonoid yang terkandung didalam tumbuhan diduga berperan sebagai antioksidan ekstrasel dengan cara menghambat enzim yang bertanggung jawab untuk memproduksi radikal anion superoksida (O_2^-) seperti xantin oksidase dan protein kinase C. Disamping itu flavonoid juga menghambat enzim siklooksigenase, lipoksigenase, monoksigenase mikrosom, glutathion *S-transferase* dan NADH oksidase yang semuanya terlibat dalam pembentukan ROS (Pieta, 2000; Hasanah, 2019).

Flavonoid juga mencegah stress oksidatif diginjal dengan cara meningkatkan aktivitas antioksidan glutathion S-transferase (GSH), meningkatkan sintesis GSH dan memerangkap secara langsung ROS dengan cara mendonorkan

atom H dari gugus hidroksil (OH) ke senyawa radikal bebas sehingga senyawa radikal bebas yang terbentuk tidak reaktif dan sementara itu senyawa flavonoid yang menjadi donor berubah menjadi senyawa flavonoid radikal yang akan berikatan dengan senyawa flavonoid radikal lainnya menjadi bentuk yang tidak reaktif (Dahal dan Sirisha, 2015; Hasanah, 2019).

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan $\pm$ 5 bulan pada bulan Juli – November 2022 di Laboratorium Farmakologi Universitas Perintis Indonesia Yayasan Perintis Padang. Untuk pemeriksaan kreatinin serum dan ureum di Laboratorium Farmakologi Universitas Perintis Indonesia Yayasan Perintis Padang. Pemeriksaan Histopatologi di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang.

3.2 Alat dan Bahan

3.1 Alat

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, kertas saring, botol masarasi, gelas ukur, beaker gelas, erlemeyer, spatel, corong, batang pengaduk, kaca arloji, sonde oral, sarung tangan, tabung vacutest, spuit injeksi, rak tabung, santrifuse, rotary evaporator, krus porselen, desikator, furnes, oven, plat tetes, tabung reaksi, pipet tetes, timbangan hewan, lumpang dan stamfer, pipa kapiler, tempat makan dan minum tikus, tabung sentrifugal, alat-alat bedah (gunting, pinset, pisau), photometer klinis, kaca objek, mikroskop.

3.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun mangga arumanis, tikus putih, makanan standar tikus, gentamisin sulfat, etanol, aquadest, NaCMC, kloriform, NaCl fisiologis, pewarna haematoxylin-eosin, fiksatif bouin, xylene, alcohol absolute, paraffin, serbuk Mg, norit,

H₂SO₄(p), FeCl₃, HCl(p), Kloroform amoniak, asam asetat anhidrat, pereaksi mayer.

Larutan pereaksi kreatinin Ecolin Merck® yang terdiri atas :

Reagen 1 : NaOH 0.2 mol/L

Reagen 2 : Larutan asam pikrat 20 mmol/L

Larutan standar kreatinin : 2 mg/Dl (117µmol/L kreatinin)

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) segar yang diperoleh dari nagari Muara Panas, Kecamatan Bukit Sundi, Kabupaten Solok, Sumatera Barat.

3.3.2 Identifikasi Tumbuhan

Identifikasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Andalas Padang.

3.3.3 Persiapan Tanaman

Daun mangga arumanis yang telah ditimbang sebanyak 3 kg. kemudian dicuci dengan menggunakan air bersih. Pencucian ini bertujuan untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang melekat. Setelah di cuci, daun mangga arumanis ditiriskan. Lalu daun mangga arumanis dikeringkan pada suhu ruangan untuk mendapatkkn sampel kering.

3.3.4 Pembuatan Ekstrak Daun Mangga Arumanis

Ekstrak sampel dilaksanakan dengan cara sampel segar daun mangga arumanis dibersihkan dari pengotor dengan cara dicuci dengan air bersih, lalu dikeringkan, dirajang lalu ditimbang sebanyak 1350 gram

kemudian sampel dimaserasi dengan cara sampel dimasukan kedalam botol berwarna gelap direndam (2cm diatas sampel) dengan pelarut etanol 70%. Maserasi dilakukan selama 5 hari sambil sesekali diaduk, lalu saring dengan kertas saring. Lakukan sebanyak 3 kali pengulangan sehingga didapatkan maserat. Hasil maserasi tersebut diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental (Depkes RI, 2017).

3.3.5 Evaluasi Ekstrak Daun Mangga arumanis

1. Organoleptis

Pengamatan dilakukan secara visual dengan mengamati bentuk, warna, bau, dan rasa (Depkes RI, 1979).

2. Rendemen

Rendemen dihitung dengan cara membandingkan berat ekstrak etanol yang didapat dengan berat awal sampel (Depkes RI, 2000).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak (g)}}{\text{Berat sampel awal (g)}} \times 100\%$$

3. Penetapan Kadar Abu Total

Ekstrak daun mangga arumanis kental ditimbang sebanyak 2 gram, dimasukkan ke dalam krus yang telah dipijarkan dan ditara, kemudian diratakan. Dipijar perlahan-lahan hingga arang habis, kemudian didinginkan dalam desikator kemudian ditimbang. Setelah itu arang tersebut dimasukan dalam furnes selama 8 jam pada suhu 600-700°C, sehingga terbentuk abu, dinginkan dalam desikator timbang berat abu yang diperoleh (Depkes RI, 2008).

Kadar abu dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{(C-A)}{(B-A)} \times 100\%$$

Keterangan: A = Berat krus porselin kosong
 B = Berat krus + sampel sebelum dipanaskan
 C = Berat krus + sampel setelah dipanaskan

4. Penetapan Susut Pengeringan

Krus porselen dan tutupnya dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit dan dibiarkan dingin, lalu ditimbang beratnya. Masukkan ekstrak ke dalam krus tersebut hingga beratnya 2 gram diluar berat krus dengan penutup yang telah diketahui sebelumnya. Dengan perlahan 1 goyang krus agar ekstrak merata dan masukkan Kembali ke dalam oven, buka tutupnya dan biarkan tutup tetap berada didalam oven. Krus yang telah berisi ekstrak dipanaskan dalam oven dengan suhu 105°C selama 1 jam. Setelah itu krus dikeluarkan dan didinginkan dalam desikator, lalu ditimbang. Lakukan pengulangan seperti cara diatas hingga diperoleh berat yang kosntan (Depkes RI, 2008).

$$\% \text{ Susut Pengeringan} = \frac{(B-A)-(C-A)}{(B-A)} \times 100\%$$

Keterangan : A = Berat krus kosong
 B = Berat krus + sebelum sampel dipanaskan
 C = Berat krus + setelah sampel di panaskan

5. Uji Fitokimia

Timbang 1 g ekstrak daun mangga arumanis, dimasukan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 mL Aquades dan 5 mL kloroform, dikocok dan dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan air dan kloroform, kemudian dipisahkan (Harborne, 1987).

a. Lapisan Air

1. Uji flavonoid (*Metode Sianidin test*)

Letakkan 1-2 tetes lapisan air pada plat tetes, tambahkan sedikit serbuk logam Mg dan beberapa tetes HCl(p), timbulnya warna kuning-orange sampai merah menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

2. Uji tanin

Sebanyak 3 tetes ekstrak dimasukan ke dalam plat tetes dan di tambahkan 3 tetes FeCl_3 1%. Uji positif ditunjukan terbentuknya warna hijau, ungu, biru atau hitam pekat.

3. Uji saponin

Lapisan air dimasukan dalam tabung reaksi kemudian kocok, apabila terbentuk busa yang permanen ($\pm$ 15 menit) kemudian adanya senyawa saponin.

b. Lapisan Kloroform

1. Uji terpenois dan steroid (*Metode Simes*)

Lapisan kloroform disaring dengan norit, hasil saringan di pipet 2-3 tetes dan dibiarkan mengering pada plat tetes, setelah kering ditambahkan 2 tetes asam asetat hidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat (pereaksi Lieberman-Bouchard) jika terbentuk warna merah berarti positif terpenoid dan jika terbentuk warna biru atau hijau berarti positif steroid.

2. Uji alkaloid (Metode *Culvenore-Firstgerald*)

Uji alkaloid dilakukan dengan 2-3 tetes lapisan kloroform ditambahkan dengan 10 ml kloroform amoniak dan 1 tetes asam sulfat 2 N, kemudian kocok kuat dan diamkan sampai terbentuk dua lapisan ambil lapisan asam lalu tambahkan 1-2 tetes pereaksi mayer, reaksi positif alkaloid ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih.

3.3.6 Persiapan Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih yang berumur 2-3 bulan dengan bobot badan 200-300 gram sebanyak 20 ekor. Hewan ini diaklimatisasikan dengan lingkungan percobaan selama lebih kurang seminggu dengan menimbang berat badanya setiap hari, mengamati tingkah lakunya dan memberikan makanan dan minuman yang sama. Tikus yang digunakan adalah tikus yang sehat dan selama aklimatisasi berat badannya tidak berubah lebih dari 10% (Normasari, 2017).

3.3.7 Pembuatan suspensi sediaan uji

Timbang 0,5 g serbuk Na-CMC dan ditaburkan kedalam lumpang yang berisi dengan air suling panas. Biarkan mengembang selama 15 menit hingga menjadi masa transparan kemudian digerus lalu masukkan ekstrak yang telah ditimbang sesuai dengan konsentrasi yang direncanakan ke dalam lumpang kemudian gerus menjadi homogen dan diencerkan dengan aquades hingga 100ml.

3.3.8 Pemberian dosis

Dosis yang akan diberikan pada hewan percobaan adalah 75 mg/KgBB, 150 mg/KgBB, dan 300mg/KgBB.

$$\begin{aligned}\text{VAO} &= 1\% \times \text{BB Tikus} \\ &= 1\% \times 200 \text{ mg} \\ &= 2 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi} &= \frac{\frac{\text{Dosis mg}}{\text{gram BB}} \times \text{gram BB}}{\text{VAO}} = \frac{\frac{75 \text{ mg}}{\text{Kg BB}} \times 200 \text{ gram BB}}{\text{VAO}} \\ &= \frac{\frac{75 \text{ mg}}{1000 \text{ gram BB}} \times 200 \text{ gram BB}}{2 \text{ ml}} = \frac{15 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \\ &= 7,5 \text{ mg / ml} \\ &= 0,75 \text{ gram / 100 ml} \\ &= 0,75\% \text{b/v} \\ &\% \text{b/v} = \% \text{ gram / 100 ml}\end{aligned}$$

Untuk dosis 150mg/KgBB, dan 300mg/KgBB cara perhitungannya sama dengan dosis 75 mg.

3.3.9 Perhitungan Dosis Gentamisin (Induksi)

- Dosis terapi gentamisin pada manusia = 40 mg
- Dosis toksik gentamisin pada tikus = 80 mg.kgBB (Aiswarya dkk, 2018)

$$= \frac{80 \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \text{ BB}}{1000 \text{ gr}} \times 200 \text{ gr} = 16 \frac{\text{mg}}{200} \text{ g tikus}$$

- Satu ampul gentamisin berisi 40 mg/1ml

$$\text{d. Pengambilan dosis gentamisin : } 40 \text{ mg. } 1 \text{ ml} = \frac{16 \text{ mg} \times 1 \text{ ml}}{40 \text{ mg}}$$

= 0,4 ml (yang diberikan secara intraperioteneal)

3.3.10 Perlakuan Terhadap Hewan Percobaan (Aiswarya, Nair et.al.,2018)

Hewan percobaan yang dibutuhkan adalah 20 ekor tikus jantan dibagi 5 kelompok (setiap kelompok terdiri dari 4 ekor tikus).

Pengelompokan tikus berdasarkan perlakuan yang diberikan yaitu :

Kelompok I : Kelompok yang diberikan larutan suspensi NaCMC 0,5% sebagai kontrol negatif

Kelompok II : Kelompok yang diberikan gentamisin sebagai kontrol positif

Kelompok III: Kelompok yang diberikan ekstrak daun mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) dengan dosis 75 mg/kgBB selama 8 hari dilakukan secara per-oral. Pada hari ke-3 diberikan gentamisin secara intraperitoneal sejam setelah pemberian ekstrak sampai hari ke-8.

Kelompok IV: Kelompok yang diberikan ekstrak daun mangga arumanis dengan dosis 150 mg/kgBB selama 8 hari dilakukan secara per-oral. Pada hari ke-3 diberikan gentamisin secara intraperitoneal sejam setelah pemberian ekstrak sampai hari ke-8.

Kelompok V : Kelompok yang diberikan ekstrak daun mangga arumanis dengan dosis 300 mg/kgBB selama 8 hari dilakukan secara per-oral. Pada hari ke-3 diberikan gentamisin secara intraperitoneal sejam setelah pemberian ekstrak sampai hari ke-8.

Pengambilan darah untuk menghitung kadar kreatinin serum, ureum dan pengorbanan hewan coba dilakukan pada hari ke-9 untuk semua kelompok.

Pemberian ekstrak terlebih dahulu bertujuan agar memberikan efek melindungi terjadinya kerusakan pada ginjal tikus yang akan di induksi gentamisin.

3.3.11 Pengukuran Parameter Uji

Pengambilan serum dengan cara mengambil darah melalui vena orbital. Tikus dianestesi umum terlebih dahulu dengan kloroform, darah diambil dengan cara memasukkan pipa kapiler ke bagian mata tikus dan di tampung dengan tabung sentrifugal. Kemudian dilakukan sentrifugasi dengan 3000 rpm selama 20 menit sehingga didapatkan serum (bagian yang jenuh) dari darah.

3.3.11.1 Penentuan rasio berat organ ginjal

Hewan yang telah dikorbankan dibedah pada bagian-bagian abdomen secara vertical. Organ ginjal, lalu dibersihkan dan ditimbang. Rasio berat organ ginjal terhadap berat badan dapat ditentukan menggunakan persamaan (Aniagu, dkk. 2005).

$$\text{Persentase Rasio Organ Hewan} = \frac{\text{Berat Organ Hewan}}{\text{Berat badan hewan}} \times 100\%$$

3.3.11.2 Penentuan kreatinin serum

Kadar kreatinin serum diukur dengan menggunakan metode jaffe, yaitu dengan cara memipet 20 µl serum ke dalam tabung reaksi campuran dengan 500 µl Larutan reagen 1 (larutan NaOH) dan inkubasi selama 3 menit. Kemudian tambahkan 0.25 µl reagen 2 (larutan asam

pikrat), campurkan dengan baik menggunakan vortex. Kemudian dilakukan pengujian menggunakan photometer klinis.

3.3.11.3 Pemeriksaan ureum

Ureum diukur dengan menggunakan metode jaffe, yaitu dengan cara memipet 20 µl serum ke dalam tabung reaksi campuran dengan 500 µl Larutan reagen 1 (larutan NaOH) dan inkubasi selama 3 menit. Kemudian tambahkan 500 µl reagen 2 (larutan asam pikrat), campurkan dengan baik menggunakan vortex. Kemudian dilakukan pengujian menggunakan photometer klinis.

3.3.11.4 Pemriksaan Histopatologi

Periksaan hostopatologi dilakukan dengan cara :

1. Pembuatan preparate histologi

Evaluasi ini dilakukan dengan cara pembuatan preparate dengan metode paraffin yang kemudian dapat di periksa secara mikroskopik.

a. Prosesing Jaringan

Pemotongan jaringan basah, jaringan dipotong dengan ketebalan ± 4 mm dan dimasukkan ke dalam kaset jaringan. Dehidrasi dalam bertingkat masing-masing 60 menit dalam larutan etanol 70%, 96% dan 100%. Lalu clearing dalam larutan xylol selama 60 menit. Kemudian impregnasi dalam paraffin cair (paraplast) I dan II, pada suhu 54°C selama masing-masing 1 jam. Setelah itubblocking jaringan dengan paraffin cair dalam tissue mold, kemudian

didinginkan pada suhu ruang. Selanjutnya pemotongan block dengan *rotary microtome* dengan ketebalan $\pm 4\mu\text{m}$, kemudian ditempelkan pada kaca objek.

b. Pewarnaan hemaktosilin-eosin

Panaskan slide oven 62°C selama 30 menit. Lalu rendam slide dalam xylol masing-masing 1-3 menit. Selanjutnya rehidrasi dengan merendam slide dalam alcohol bertingkat dari konsentrasi tinggi ke rendah, rendam berturut-turut dalam Etanol 100%, 96%, dan 70% masing-masing 2-3 menit. Tambahkan aquadest dan rendam 3 menit tambahkan pewarna hematoxylin, rendam selama 5-10 menit. Lalu bilas dengan aquadest dan rendam dengan eosin Y : 3 menit. Lalu bilas lagi dalam alcohol 70% rendam selama 3 menit. Lalu dehidrasi dengan merendam slide pada larutan alcohol bertingkat dari konsentrasi rendah ke tinggi, rendam berturut Etanol 96% dan 100% masing-masing 3 menit. Lalu clearing dalam xylol selama 3 menit dan terakhir mounting dengan entelan dan tutup sediaan dengan cover slip.

2. Pemeriksaan Mikroskopis Preparat Jaringan Ginjal

Preparate yang telah selesai diberi label, kemudian diperiksa secara mikroskopis menggunakan mikroskop pada perbesaran $10 \times 10 \text{ mm}$, mengamati kesukasan sel pada glomerulus, serta kondisi tubulus.

3.3.12 Analisis Data

Analisis data untuk penelitian ini menggunakan Anova satu arah menggunakan program SPSS 25 untuk masing-masing perlakuan, karena variable bebas yang akan dianalisa tidak lebih dari satu. Dimana variable bebasnya adalah konsentrasi sediaan uji, sedangkan variable terikatnya adalah data yang diperoleh dari masing-masing parameter uji yang bergantung pada konsentrasi yang diujikan. Hasil uji ANOVA akan berbeda secara nyata apabila didapatkan secara statistic ($P < 0.05$).

Analisa data dilanjutkan dengan uji lanjut berjarak DUNCAN, menggunakan Software Statistik SPSS 25, tujuannya untuk mengetahui kebermaknaan perbedaan hasil dari masing-masing kelompok perlakuan

DAFTAR PUSTAKA

- Acar dkk. 2002. Efficacy of micronized flavonoid fraction on healing in thermally injured rats. *Annals of Burns & Fire Disaster*. XV:102-105.
- Andriza, Ridho. 2021. *Uji Efek Nefroprotektor Ekstrak Etanol Rambut Jagung (stigma maydis) Terhadap Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Gentamicin*. Skripsi. Prodi S1 Farmasi. Padang: Universitas Perintis Indonesia.
- Aniagu SO, Nwinyi Fc, Akumka DD, Ajoku GA, Dzarma S, Izebe KS, Ditse M, Nwaneri PEC, Wambebe C dan Gemaniel K, 2005. Toxicity Studies in Rats Fed nature Cure Bitters. *African Journal of Biotechnology*. 4(1):72-78
- Bally, I.S.E. 2006. *Mangifera indica(mango)*.3rd Edition Elevitch CR (editor). Species Profiles for Pacific Island Agroforestry. Permanent Agriculture. Hawaii, pp 1-25.
- Bhuvaneswari, K. 2012. Isolasi Mangiferin dari Daun *Mangifera indica* L var Alphonso . *Jurnal Penelitian Farmasi dan Klinis Asia*, vol 6 Supll 2, 2013.
- Callaghan,C,O.2009 *At a Glance Sistem Ginjal*. Diterjemahkan oleh: Elizabeth Yasmin. Jakarta:Erlangga.
- Chou, C. L. 2005. Acquired Bartter Like Syndrome Associated with gentamisin Administration. *The American Journal Of The Medical Sciences*;329 (9): 145-146.
- Corwin, E, J.2001. *Hands Book of Pathophysiologi*. Jakarta: EGC
- Dahal, A, dan Sirisha, M. (2015). Flavonoids In Kidney Protection. Review Article. *World Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Science*. 4: hal. 362-365.
- Dahal, A., & Mulukuri, S. 2015. *Flavonoids in kidney protection*. 4(03),362-367.
- Deghani F, Namavar MR, Noorafshan, KarbalayDoust, Esmailpour T. Evaluation of the kidney extract on gentamicin incudednephrotoxicity in rat. *Kidney Research Journal*. 2011;1(1):24-32.
- Depkes RI. 1979. *Farmakope Indonesia* (Edisi Tiga). Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Depkes RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia* (I). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- Elim, H. I., & Mapanawang, A. L. 2018. *Nanotechnology & Applications Electronics Physical System of Large Antioxidant Structure in Herbal Medicine based Zingiberaceae Fruit* : Understanding and Application. 1(1), 7-10.
- Hajir, Siti. 2021, *Uji Efektivitas Ekstrak Daun Mangga Arumanis (Mangifera indica L.) Sebagai Antihipertensi Pada Tikus Putih Jantan Diinduksi Prednison dan Nacl-*. Skripsi. Prodi S1 Farmasi. Padang: Universitas Perintis Indonesia
- Harbone, J.B, 1987. *Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Cetakan kedua, diterjemahkan oleh K. Padmawinata dan Soediro, Bandung: ITB
- Hasanah, Nuraini, 2019. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Seledri (Apium Graveolens L.) Selama 14 Hari Terhadap Fungsi Ginjal Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Gentamisin* Skripsi. Prodi S1 Farmasi. Padang: Universitas Perintis Indonesia
- Ichsan, M.C, dan I.Wijaya. 2015. *Karakter Morfologi dan Beberapa Keunggulan Mangga Arumanis (Mangifera indica L.)*. Jember, Fakultas Pertanian UM, Agrotrop 13(1) ; 65-71
- Idacahyati, K, 2021.*Uji Aktivitas Nefroprotektor Ekstrak Etil Asetat Buah pining Bawang (Hornstedtia allicea) Pada Tikus Putih Jantan (Rattus norvegicus) Galur Wistar yang Diinduksi Gentamisin*. Skripsi. Prodi S1 Farmasi. Tasikmalaya: STIKes BTH Tasikmalaya.
- Istiantoro YH, G, V. 2007. *Farmakologi dan Terapi (Edisi Kelima)*. Aminoglikosid. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Jutiviboonsuk, A., & Sardsaengjun, C.2010. Mangiferin in Leaves of Three Thai Mango (*Mangifera indica* L.) Varieties. *Isan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6(3), 122-129
- Kemenkes,. InfoDATIN. *Situasi Penyakit Ginjal Kronis*. 2017
- Kowalak JP, Welsh W, Mayer B, 2011. *Buku Ajar Patofisiologi*. Jakarta: EGC hal 548-566
- Lintong, P.M., Kairupan, C.F., and Sondakh, P.L.N.,2012. Gambaran Mikroskopik Ginjal Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) setelah Diinduksi dengan Gentamisin.*J.Biomedik* 4, 185-192
- Lu, F, C.1995. *Toksikologi Dasar:Asas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko (Edisi II)*, Diterjemahkan oleh Nugroho, Jakarta: UI Press
- Mulholland PJ, Ferry DR, Anderson D. 2001. Pre-clinical and Clinical Study of QC12, A Water-soluble, pro-drug of quarcetin. *Ann oncol*,12 (2)p:245-248

- Naeshiro, I., Ishimura, Y., Chatani, F., dan Sato, S. 1997. Possible Mechanism for the Anaemia Induced by gentamisin in Rats, Original Article. *Comporative Haematology International*;7(8) : 220-225
- Namita, P, dan Mukesh, R., 2012. Medica Plants Used as Antimicrobial Agents: A Review, *International Research Journal of Pharmacy*,3(10:31-40
- Niken W. 2010. *Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan metode CUPRAC,DPPH, & FRAP serta Kolerasinya dengan Fenol dan Flavonoid pada Enam Tanaman*. Fakultas MIPA, Institut Pertanian: Bogor
- Ningsih, D.R, Zufahai, dan Mantari, D., 2017, Ekstrak Daun Mangga (*Mangifera indica* L.) sebagai Antijamur terhadap Jamur Candida Albicans dan Identifikasi Golongan Senyawanya, *Jurnal Kimia Riset*,2(1):61
- Normasari R, Rosnita D, Sheila R. 2017. Efek Ekstrak Daun Singkong Terhadap Perbaikan Struktur dan Fungsi Ginjal Mencit yang Diinduksi Gentamisin. *Journal of Agromedicineand Medical Sciences* 3 (1)
- Normasari,R,Dewi,R, & Rachmania,S. Efek Ekstrak Daun Singkong terhadap perbaikan Struktur dan Fungsi Ginjal Mencit yang diinduksi Gentamisin. *Journal of Agromedicine and Medical Science*.2017;3(1):3-4
- Novoa, J, M, L., Quiros Y., Vicente, L., Morales, A,I., dan Hernandez, F. J. L. 2010. New Insight into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: an intergrative point of view. *International Society of Nephrology*: 22 (7): 1-4
- Nursyamsiah,Noveli, 2019, *Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Seledri (Apium graveolens L.) Selama 7 Hari Terhadap Fungsi Ginjal Tikus Putih Jantan Yang Diinduksi Gentamisin*. Skripsi. Prodi S1 Farmasi.Padang: Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia
- Parvez, G.M. (2016). Pharmacological Activities of Mango (*Mangifera indica* L.) Cantek, Ireng, Empok, Jempol Di Desa Tiron, Kecamatan Banyak Kabupaten Kediri. *Jurnal Produksi Tanaman*,3(2)
- Piarameti, Lusi. 2020. *Efek Nefroprotektif Ekstrak Etanol Daun Srikaya (Annona squamosa L.) Pada Tikus Jantan* .Skripsi. Prodi S1 Farmasi. Padang: Universitas Perintis Indonesia
- Pieta, P, G. 2000. Flavonoids as Antioksidants, *Journal Of Natural Products*; 63 (50 : 1043-1046
- Prakoso, Gilang Dimas. 2021, *Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Mangga Arumanis (Mangifera indica L.) Terhadap Tekanan Darah Tikus Putih Jantan Hipertensi*. Skripsi. Prodi S1 Farmasi. Padang: Universitas Perintis Indonesia
- Price, S. A. & Wilson L. M. 1994, *Patofisiologi, Konsep Klinis proses-proses Penyakit*. Edisi 4. Jakarta: EGC

- Price, S. A. & Wilson, L. M. 2003, *Patofisiologi Konsep Klinis proses-proses Penyakit (Ed 6)*. Diterjemahkan oleh P. Anugerah. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas), 2018. *Badan Penelitian & Pengembangan Kesehatan*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI
- Rukmana, R. 1997. *Mangga: Budidaya dan Pasca Panen*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sari RD, Mulqie L, dan Hazar S. 2015. Uji Efek Diuretik Ekstrak Etanol Herbal
- Saptarini, M, N. 2011. Aktivitas Nefroprotektif Ekstrak *Artocarpus communis* Terhadap Toksisitas yang Diinduksi Gentamisin pada Tikus. *Jurnal Medica Planta*:1(3):34-42
- Savira, Nadia, 2018. *Efek Nefroprotektif Ekstrak Etanol Daun Kari (Murayya koenigii (L.) Spreng) Pada Tikus Jantan Yang Diinduksi Gentamisin*. Skripsi. Prodi S1 Farmasi. Medan: Universitas Sumatera Utara
- Sudoyo, A, W. 2009. *Buku Ajar Ilmu Penyakit dalam (Ed V, Jilid II)*. Jakarta: Departemen ilmu penyakit dalam
- Stahl E. 1985. *Analisi Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. ITB: Bandung Hal 3-5
- Sujono, T.A., & Rizki, F.A. (2020). *Efek Nefroprotektif Ekstrak Etanol Bawang Putih (Allium sativum L.) pada Tikus yang Diinduksi Gentamisin*. Pharmacon Jurnal Farmasi Indonesia, 1-9.
- Sutono, S., 2008. *Budidaya Tanaman Mangga (Mangifera indica)*. Bogor: Balai Penelitian Tanah Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.
- Syah, I. S., Suwendar, & Mulqie, L. 2015. Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Mangga Arumanis (*Mangifera indica* L."Arumanis") pada Mencit Swiss Webster Jantan dengan Metode Tes Toleransi Glukosa Oral (Ttgo). *Jurnal Scientifica UNSIBA*, 2, 297-303
- Verdiansyah. 2016. *Pemeriksaan Fungsi Ginjal. Cermin Dunia Kedokteran. Cermin Dunia Kedokteran*. Bandung, Indonesia
- Yuwanda, Elsi, 2019. *Uji Efek Nefroprotektif Ekstrak Etanol Daun Ceri (Muntingia calabura L.) Pada Tikus Jantan*. Skripsi. Prodi S1 Farmasi. Padang: Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia
- Wilfatri, E. 2018. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Seledri (Apium graveolens L.) Terhadap Fungsi Ginjal Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Gentamisin*. Skripsi. Prodi S1 Farmasi. Padang: Universitas Perintis Indonesia