

Efek Ekstrak Kunyit Putih (*Curcuma Zedoaria*) Sebagai Nefroprotektor Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Tembaga

Fiska Maya Wardhani, Linda Chiuman, Chrismis Novalinda
Ginting, Sahna Ferdinand Ginting, Ali Napih Nasution

Fakultas Kedokteran Universitas Prima Indonesia Medan, Sumatera Utara

Abstrak

Latar belakang: Pencemaran logam berat meningkat seiring dengan meningkatnya perkembangan industri. Paparan tembaga dalam jumlah besar dapat menyebabkan kerusakan ginjal dan hati. Berdasarkan penelitian terdahulu rimpang kunyit putih (*Curcuma zedoaria*) memiliki manfaat diantaranya sebagai antioksidan, antiinflamasi, antiproliferasi, antikanker, dan antimikroba. Kurkumin yang terkandung dalam rimpang kunyit putih pada penelitian sebelumnya digunakan sebagai senyawa nefroprotektif.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan apakah rimpang kunyit putih (*Curcuma zedoaria*) memiliki efek nefroprotektif dengan paparan CuSO_4 pentahidrat.

Metode: Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *the post test only control group design*. Pengambilan sampel pada penelitian ini menggunakan teknik *simple random sampling*. Tikus putih jantan galur wistar dibagi menjadi enam kelompok; kontrol normal, kontrol kunyit putih (45 mg/200 g), kontrol CuSO_4 pentahidrat, dan kelompok *co-treatment* (curcumin selama 14 hari diikuti CuSO_4 selama 5 hari).

Hasil: Data dianalisis menggunakan uji *One Way Anova* diikuti uji *Post-Hoc LSD*. Untuk Kelompok 4 (kelompok preventif) kadar ureum kreatinin serum tidak ada perbedaan yang bermakna dengan Kelompok 1 dan 2 ($p > 0,05$) dengan kerusakan struktur histologis yang ringan. Namun, didapatkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) pada Kelompok 3, 5, dan 6.

Kesimpulan: Dosis ekstrak kunyit putih 45 mg/200 g menunjukkan adanya penurunan kadar ureum kreatinin serum dan kerusakan histologi jaringan ginjal yang ringan.

Kata kunci: Kunyit Putih, Nefroprotektor, Nefrotoksik, Tembaga

Effects of White Turmeric Extract (*Curcuma Zedoaria*) as Nephroprotector in Male White Mice Copper-Induced Wistar Strain

Fiska Maya Wardhani, Linda Chiuman, Chrismis Novalinda Ginting, Sahna Ferdinand Ginting, Ali Napiah Nasution

Faculty of Medicine, University of Prima Indonesia Medan, North Sumatera

Abstract

Background: Metal pollution increases along with increasing industrial development. Exposure to copper in large quantities can cause kidney and liver damage. *Curcuma zedoaria* has benefits as an antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferation, anticancer, and antimicrobial. Curcumin which contained in white turmeric rhizomes in previous studies was used as a nephroprotective variation.

Objective: This study is used to know whether white turmeric rhizome (*Curcuma zedoaria*) had a nephroprotective effect with exposure to CuSO_4 pentahydrate.

Methods: This is an experimental study by designing post test only control group design. The sampling is using simple random sampling technique. Male white wistar rats are divided into six groups; normal control, control of white turmeric (45 mg / 200 g), control of CuSO_4 pentahydrate, and co-treatment group (curcumin for 14 days followed by CuSO_4 for 5 days).

Results: Data were analyzed using One Way test. For group 4 (preventive group) serum urea creatinine level was not different from group 1 and 2 ($p > 0.05$) with mild histological structure damage. However, differences were obtained ($p < 0.05$) in Groups 3, 5, and 6.

Conclusion: The dose of 45 mg / 200 g white turmeric extract showed a percentage decrease in serum creatinine urea level and mild histological damage to kidney tissue.

Keywords: White Turmeric, Nephroprotector, Nephrotoxic, Copper

Pendahuluan

Pencemaran logam meningkat seiring dengan perkembangan industri dan rumah tangga. Berdasarkan penelitian, paparan limbah logam tertinggi adalah timbal, merkuri, arsen, aluminium, tembaga, nikel, timah, antimon, brom, bismuth, dan vanadium.¹ Dalam kehidupan sehari-hari tembaga dibutuhkan manusia sebagai komponen vitamin B₁₂. Namun, bila asupan tembaga berlebihan dapat menyebabkan kerusakan ginjal dan hati.²

Penelitian oleh Hashish, et al, Antony, et al, Jayaprakasha, et al, rimpang kunyit putih (*Curcuma zedoaria*) memiliki efek nefroprotektif, antiproliferatif atau antinekrosis pada sel ginjal yang dipaparkan dengan logam tembaga. Dengan mengetahui efek proteksi dari ekstrak rimpang kunyit putih diharapkan menjadi terobosan baru ilmu biomedis dalam pengobatan mengatasi gangguan fungsi ginjal akibat paparan logam.³

Nefrotoksisitas dinilai dengan laju filtrasi glomerulus (LFG), nitrogen urea darah (BUN), kreatinin serum (sCr), atau keluaran urine. Namun, dapat juga menyebabkan kerusakan ginjal tanpa mengubah penanda klinis fungsi ginjal.⁴

Mineral merupakan salah satu unsur yang penting untuk membangun sistem dan fungsi tubuh kita yaitu menyusun struktur tubuh, keseimbangan cairan, struktur protein dan untuk menghasilkan hormon. Mineral bertindak sebagai kofaktor, katalis atau penghambat enzim dalam tubuh. Tembaga dan besi diperlukan untuk sistem transpor elektron, dan diperlukan untuk semua produksi energi sel.¹

Mineral diklasifikasikan menjadi empat kelompok yaitu makromineral: kalsium, magnesium, natrium, kalium, fosfor, belerang, besi, tembaga, dan seng; (*trace elements*); nutrisi mikro (*possibly required trace elements*); dan logam beracun.¹

Tembaga menjadi suatu pembahasan yang menarik dalam ilmu kedokteran karena merupakan unsur mineral esensial penting dalam

tubuh manusia sebagai neurotransmitter, neuropeptida, biosintesis kolagen, penyembuhan luka, dan angiogenesis.⁵ Namun, konsentrasi tembaga dalam tubuh manusia yang tidak seimbang dapat menyebabkan gangguan metabolisme di ginjal dan hati.¹

Keracunan tembaga sering diabaikan di dalam masalah kesehatan lainnya seperti anoreksia, kelelahan, sindrom pramenstruasi, depresi, kecemasan, sakit kepala migrain, alergi, hiperaktif masa kecil dan gangguan belajar.² Air minum merupakan salah satu sumber penghasil logam beracun dengan aluminium, tembaga, klorida dan flourida ditambahkan ke dalam pasokan air kota. Pipa yang terbuat dari tembaga dapat meningkatkan logam dalam air minum.²

Sebagian besar penduduk masih menggunakan sistem instalasi air minum yang menggunakan pipa berlapis tembaga dan penggunaan alat masak dari tembaga juga dapat menjadi sumber keracunan tembaga jika sering digunakan dalam jangka waktu tertentu.^{2,6}

Tembaga diabsorpsi oleh saluran pencernaan sebanyak 30–60%. Dalam keadaan fisiologis tembaga terikat dengan seruplasmin (95%) dan albumin di dalam darah.⁶ Hati, otak, jantung dan ginjal merupakan organ tubuh yang banyak menyimpan tembaga dan diekskresi melalui empedu.⁶

Saat ini masyarakat beropini mempunyai pilihan sendiri untuk mengubah pola hidup mereka dengan cara *back to nature*. Sehingga tanaman obat sekarang menjadi suatu pilihan. Tanaman obat yang memiliki fungsi perlindungan terhadap ginjal akan menjadi era baru dalam dunia pengobatan mengatasi gagal ginjal.³

Curcuma zedoaria dikenal sebagai kunyit putih, *zedoaria* atau *gajutsu*, termasuk dalam keluarga *Zingiberaceae*. Tanaman ini berasal dari Bangladesh, Srilanka, dan India, dan juga banyak dibudidayakan di Cina, Jepang, Brasil, Nepal, dan Thailand.⁷

Curcuma secara umum mengandung 60–70% karbohidrat, protein 8,6%, 5–10% lemak, 2–7% serat, 3–5% *curcuminoids* (50–70% *curcumin*), minyak esensial dan resin 5%. Senyawa *curcuminoid* dalam kunyit dapat bervariasi antara 2–9%, tergantung pada kondisi geografis. Komposisi *curcuminoids* adalah sekitar 70% *curcumin* (*curcumin I*), 17% *demethoxycurcumin* (*curcumin II*), 3% bis-demethoxycurcumin (*curcumin III*) dan sisanya (10%) adalah disebut *cyclocurcumin* (*curcumin IV*).⁸

Rimpang kunyit putih mengandung senyawa kimia seperti kurkuminoid, minyak atsiri, astringensia, flavonoid, sulfur, gum, resin, tepung, sedikit lemak. Selain itu, *Curcuma zedoaria* mengandung alkaloid, fenol, saponin, glikosida, steroid, terpenoid, dan kandungan lain yang diduga dapat digunakan sebagai antimikroba, antifungal, antikanker, antialergi, antioksidan, dan analgesik.⁹

Menurut Kossler, et al, *diferuloylmethan*, *trimethoxyflavone*, *tetramethoxyflavone*, *tetrahydrodemethoxycurcumin*, *dihydrocurcumin* memiliki manfaat secara farmakologis.¹⁰ Penelitian yang dilakukan oleh Syu, et al menunjukkan bahwa *Curcuma zedoaria* memiliki banyak kandungan senyawa, seperti kurkuminoid, flavonoid, *bisdemethoxycurcumin*, *demethoxycurcumin*, dan *ethyl pmethoxycinnamate*.¹¹

Kurkumin memiliki antioksidan *bifunctional* karena kemampuannya bereaksi secara langsung dengan reaktif spesies dan dapat membantu meningkatkan regulasi berbagai protein sitoprotektif dan antioksidan dalam tubuh. Mekanisme kerja dari senyawa fenol dalam struktur kurkumin menjelaskan kemampuannya dalam reaksi oksidasi (ROS) dan reaksi nitrogen (RNS) terapi kurkumin (merangsang superoksidas dismutase) dalam melindungi sel epitel tubulus ginjal.⁸

Ginjal merupakan organ yang penting dalam mempertahankan homeostasis dan mengeluarkan zat-zat yang tidak diperlukan lagi oleh tubuh.¹² Secara histologi ginjal dibagi menjadi 2 bagian yakni korteks dan medula.¹³

Apeks sel epitel tubulus kontortus proksimal memiliki banyak mikrovili dengan panjang kira-kira 1 mikromili, yang membentuk suatu *brush border*. Mitokondria berkumpul di basal sel, yang merupakan ciri khas untuk sel-sel yang terlibat dalam transpor ion secara aktif.¹³

Sel epitel tubulus proksimal sangat peka terhadap anoksia dan rentan terhadap toksik. Banyak faktor yang memudahkan tubulus mengalami toksik, seperti permukaan bermuatan listrik yang luas untuk reabsorpsi tubulus, sistem transport aktif untuk ion dan asam organik, kemampuan melakukan pemekatan secara efektif, selain itu kadar sitokrom P450 yang tinggi untuk mendetoksifikasi atau mengaktifkan toksikan.¹⁴

Metode

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *the post test only control group design*. Pengambilan sampel pada penelitian ini menggunakan teknik *simple random sampling*.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara Medan dan Departemen Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara Medan. Penelitian ini telah mendapatkan layak etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Universitas Prima Indonesia dengan Nomor: 001/KEKPK/UNPRI/III/2019.

Hewan uji yang digunakan adalah 24 ekor tikus putih (*Rattus noverticus*) galur *Wistar* jantan, dengan umur 6–8 minggu dan berat badan 160–200 gram. Besar sampel penelitian ini ditentukan berdasarkan rumus Federer untuk uji eksperimental, yaitu $(t-1)(n-1)e^{15}$. Tikus dibagi dalam 6 kelompok dengan jumlah sampel per kelompok 4 ekor sehingga didapatkan total jumlah sampel 24 ekor tikus.

Bahan uji berasal dari tanaman rimpang kunyit putih berupa serbuk simplisia kering rimpang kunyit putih yang didapatkan dari UPT Materia Medica Batu, Jawa Timur. Bahan nefrotoksik dalam bentuk CuSO_4 pentahidrat yang diperoleh dari PT. Artha Jaya Sanatasya Chemindo, Jakarta.

Pembuatan Ekstrak Rimpang Kunyit Putih

Kunyit putih dicuci dan dikeringkan di lemari pengering lalu dihaluskan dengan menggunakan blender. Ekstrak kunyit putih dibuat dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% yang terlebih dahulu telah didestilasi sebanyak 10 kali berat serbuk kunyit putih. Serbuk kunyit putih sebanyak 1.000 gram dimasukkan ke dalam wadah lalu tambahkan etanol 96% sebanyak 75 bagian (7,5 liter). Serbuk kunyit putih direndam selama 5 hari sambil sering diaduk dan terlindung dari cahaya kemudian di saring atau diserkai. Ampas kunyit putih yang sudah disaring direndam lagi dengan sisa etanol 96% (2,5 liter) selama 2 hari lalu disaring. Filtrat digabungkan dan dipekatkan dengan alat *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak hampir kental. Ekstrak hampir kental tersebut diuapkan di penangas air sampai diperoleh ekstrak kental.

Dosis bahan uji yang diberikan pada penelitian ini ditentukan berdasarkan metode perhitungan faktor konversi dengan dosis ekstrak rimpang kunyit putih 45 mg/ 200 g, 67,5 mg/ 200 g, dan 90 mg / 200 g . Dosis bahan uji nefrotoksik CuSO_4 pentahidrat adalah 0,36 mg/ 200 g.¹⁵

Penyiapan Hewan Uji dan Perlakuan

Tikus *Wistar* jantan dipelihara di Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi USU dan diberi kode 1 sampai 24. Sampel sebanyak 24 ekor tikus jantan yang dikelompokkan secara acak menjadi 6 kelompok, setiap kelompok terdiri atas 4 ekor tikus. Perlakuan pada masing-masing kelompok adalah sebagai berikut: **Kelompok 1 (1-4):** Kelompok normal hanya diberi makanan dan minuman standar. **Kelompok 2 (5-8):** Kelompok kontrol negatif, diberi ekstrak kunyit putih 45 mg/ 200 g. **Kelompok 3 (9-12):** Kelompok kontrol positif diberi larutan mengandung CuSO_4 pentahidrat 0,36 mg/200 g diberikan secara per oral menggunakan *intra gastric oral tube* satu kali sehari pada hari ke-10, 11, 12, 13, 14. **kelompok 4 (13-16); kelompok 5 (17-20); kelompok 6 (21-24)** masing-masing kelompok perlakuan diberi ekstrak kunyit putih dengan dosis 45 mg, 67,5 mg, 90 mg/200 g secara per oral menggunakan *intra gastric oral tube* satu kali sehari selama 14 hari berturut-turut diikuti pemberian larutan mengandung CuSO_4 pentahidrat 0,36 mg / 200 g pada hari ke-10, 11, 12, 13, 14.

Pada hari ke-15 tikus dikurbankan (euthanasia) menggunakan eter. Sebanyak 2–3 ml darah diambil secara intrakardiak, lalu darah dibiarkan mengalir dengan lancar ke dalam tabung tanpa antikoagulan, dibiarkan membeku selama 2 jam di kamar suhu kemudian disentrifugasi pada 3000 rpm selama 10 menit. Serum supernatan yang jelas dikumpulkan menggunakan pipet steril Pasteur sekali pakai. Serum yang dikumpulkan adalah trans-fermentasi menjadi 1,5 ml tabung mikro steril kering (Eppendorf, Jerman) untuk analisis biokimia lebih lanjut.

Pembedahan dilakukan untuk mengambil organ ginjal kemudian dimasukkan ke dalam pot berisi formalin 10%. Setelah itu, dilakukan pembuatan preparat histopatologi ginjal menggunakan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE).

Dari setiap organ dibuat beberapa preparat jaringan ginjal dan dari masing-masing preparat diamati dibawah mikroskop cahaya pada lima pandang yang berbeda dengan pembesaran 100 dan 400 kali. Pada setiap lapangan pandang dilihat kerusakan (nekrosis) sel-sel ginjal yang ditandai berupa pengecilan glomerulus, *cloudy swelling*, dan oklusi tubulus-tubulus ginjal.

Data yang diperoleh dari keseluruhan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dilakukan uji normalitas dan menggunakan *Shapiro Wilk* bila data terdistribusi normal ($p>0,05$), maka dilanjutkan dengan uji analisis varian (ANOVA). Untuk mengetahui rerata

perbedaan hasil pengamatan pada setiap kelompok perlakuan menggunakan uji jarak berganda *Post Hoc LSD* dengan bantuan perangkat lunak program *SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 25.00 for Windows*.

Hasil

Hasil Pemeriksaan Kadar Ureum dan Kreatinin Serum

Hasil pemeriksaan kadar ureum dan kreatinin serum dapat dilihat pada **Tabel 1**. Nilai rerata kadar ureum serum Kelompok 1 (kelompok normal) adalah $46,90 \pm 1,69$ mg/dL. Pada Kelompok 3 dengan pemberian induktor CuSO_4 pentahidrat mengalami kenaikan kadar ureum serum $48,60 \pm 1,74$ mg/dL. Namun terdapat peningkatan kadar ureum serum pada Kelompok 5 dan 6 dengan pemberian kunyit putih 67,5 mg/200 g, 90 mg/200 g dan diberi induksi dengan CuSO_4 pentahidrat masing-masing $57,62 \pm 3,84$ mg/dL dan $64,32 \pm 4,03$ mg/dL.

Kadar kreatinin serum Kelompok 1 (kelompok normal) $0,67 \pm 0,064$ mg/dL. Kelompok 3 dengan pemberian induktor CuSO_4 pentahidrat mengalami peningkatan kadar kreatinin serum $1,15 \pm 0,130$ mg/dL. Untuk Kelompok 5 dan 6 dengan pemberian kunyit putih 67,5 mg/200 g, 90 mg/200g dan diberi induksi dengan CuSO_4 pentahidrat, masing-masing mengalami kenaikan kadar kreatinin serum $1,32 \pm 0,049$ mg/dL dan $1,75 \pm 0,090$ mg/dL.

Tabel 1. Rerata Kadar Ureum dan Kreatinin Serum

Kelompok	Ureum (mg/dL)	Kreatinin (mg/dL)
Kelompok 1	$46,90 \pm 1,69$	$0,67 \pm 0,06$
Kelompok 2	$43,47 \pm 1,66$	$0,63 \pm 0,06$
Kelompok 3	$48,60 \pm 1,74$	$1,15 \pm 0,13$
Kelompok 4	$45,42 \pm 2,86$	$0,80 \pm 0,06$
Kelompok 5	$57,62 \pm 3,84$	$1,32 \pm 0,05$
Kelompok 6	$64,32 \pm 4,03$	$1,75 \pm 0,09$

Keterangan: Kadar ureum dan kreatinin rata-rata (*mean*) \pm standard deviasi (*SD*) ($n=5$). Kelompok 3 (kelompok kontrol CuSO_4) memiliki perbedaan yang bermakna dengan kelompok 1 (kelompok kontrol normal), 2 (Kelompok kontrol kunyit 45 mg/200 g) dan 4 (kelompok perlakuan kunyit 45 mg/200 g dan CuSO_4 0,36 mg/200

g) dengan $p > 0,05$; dan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok 3 dengan kelompok 5 (kelompok perlakuan kunyit 67,5 mg/200 g dan CuSO_4 0,36 mg/200 g) dan 6 (kelompok perlakuan kunyit 90 mg/200 g dan CuSO_4 0,36 mg/200 g) ($p < 0,05$).

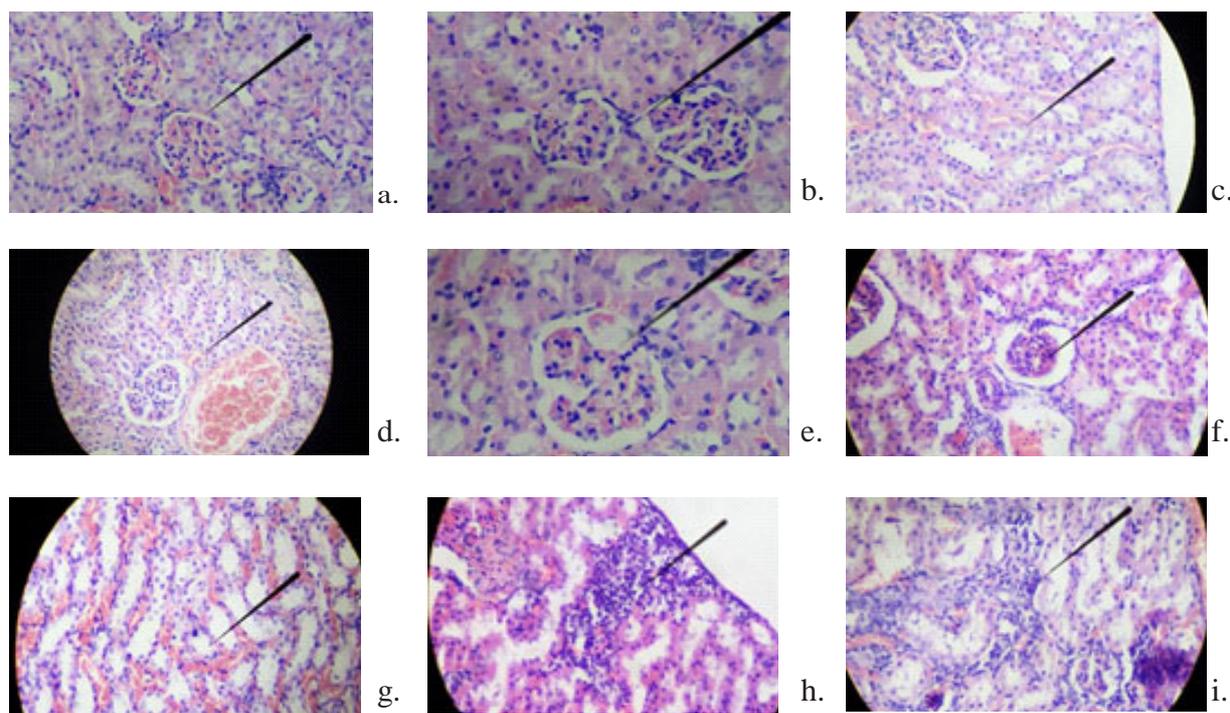
Hasil Pemeriksaan Histopatologi Ginjal

Hasil rerata skor histopatologi ginjal ditampilkan pada **Tabel 2**. Masing-masing kelompok perlakuan. Pada kelompok 1 dan 2 gambaran histologi ginjal normal. Pada Kelompok 3 (kontrol positif) dengan pemberian induktor CuSO_4 pentahidrat glomerulus mengalami kontraksi atau pengecilan sehingga celah Bowman melebar (**Gambar 1 c**) diikuti dengan adanya degenerasi bengkak keruh, oklusi tubulus-tubulus ginjal dan gambaran sebulan sel PMN. Pada kelompok 4 dengan pemberian kunyit putih 45 mg/200 g selama 14 hari dan diinduksi CuSO_4 pentahidrat terdapat perbaikan struktur histologi ginjal mendekati struktur normal. Namun dengan pemberian dosis kunyit putih 67,5 mg/200 g dan 90 mg/200 g kemudian diinduksi dengan CuSO_4 pentahidrat pada kelompok 5 dan kelompok 6 glomerulus mengalami kontraksi atau pengecilan sehingga celah Bowman melebar (**Gambar 1 e,f**) diikuti dengan adanya degenerasi bengkak keruh, oklusi tubulus-tubulus ginjal dan gambaran sebulan sel PMN (**Gambar 1 g,h,i**).

Tabel 2. Rerata Total Skor Histopatologi Ginjal

Kelompok	Mean Skor Histopatologi Ginjal
Kelompok 1	$0,00 \pm 0,00$
Kelompok 2	$0,00 \pm 0,00$
Kelompok 3	$9,00 \pm 0,00$
Kelompok 4	$3,25 \pm 0,50$
Kelompok 5	$9,00 \pm 0,00$
Kelompok 6	$9,00 \pm 0,00$

Keterangan: Gambaran rerata histopatologi ginjal (*mean*) \pm standard deviasi (*SD*) ($n=5$). Kelompok 3 (kelompok kontrol CuSO_4) memiliki perbedaan yang tidak bermakna dengan dengan kelompok 5 (kelompok perlakuan kunyit 67,5 mg/200 g dan CuSO_4 0,36 mg/200 g) dan 6 (kelompok perlakuan kunyit 90 mg/200 g dan CuSO_4 0,36 mg/200 g) ($p > 0,05$) dan terdapat perbedaan yang bermakna dengan kelompok 1 (kelompok kontrol normal), 2 (kelompok kontrol kunyit 45 mg/200 g) dan 4 (kelompok perlakuan kunyit 45 mg/200 g dan CuSO_4 0,36 mg/200 g) dengan $p < 0,05$.



Gambar 1. Gambaran Mikroskopik Histopatologi Ginjal (H.E pembesaran 400x)

Keterangan: Dari (a) kelompok kontrol menunjukkan histologi ginjal normal; (b) kelompok kontrol kunyit (Kelompok 3) memperlihatkan tidak dijumpai kerusakan pada struktur histologi ginjal; (c) kelompok kontrol CuSO_4 pentahidrat (Kelompok 3) gambaran histologis glomerulus mengalami pengecilan/kontraksi (tanda panah) sehingga terjadi pelebaran lumen Bowman dan oklusi tubular; (d) kelompok perlakuan (Kelompok 4) dosis kunyit putih 45 mg/200 g memperlihatkan struktur histologis glomerulus mendekati normal; (e) kelompok perlakuan (Kelompok 5) dengan dosis kunyit 67,5 dan (f) kelompok perlakuan (Kelompok 6) dengan dosis kunyit 90 mg/200 g menunjukkan adanya kontraksi glomerulus dan pelebaran ruang Bowman; (g) kelompok 3, 5 dan 6 mengalami pecah pembuluh darah; (h) terjadi sebaran sel radang PMN pada kelompok 3, 5, dan 6; (i) terdapat gambaran oklusi tubular yang terjadi pada kelompok 3, 5, dan 6.

Tabel 3. Uji *post-hoc* LSD Kadar Ureum

Kelompok	Kelompok Uji	Nilai p
Kelompok 1	Kelompok 5 dan 6	<0,001; <0,001
Kelompok 2	Kelompok 3, 5, dan 6	0,02; <0,001; <0,001
Kelompok 3	Kelompok 2, 5, dan 6	0,02; <0,001; <0,001
Kelompok 4	Kelompok 5 dan 6	<0,001; <0,001
Kelompok 5	Kelompok 1, 2, 3, 4, dan 6	<0,001; <0,001; <0,001; <0,001
Kelompok 6	Kelompok 1, 2, 3, 4, dan 5	<0,001; <0,001; <0,001; <0,001; 0,04

Keterangan: Pada uji *Post-Hoc* LSD kadar ureum serum didapatkan perbedaan bermakna pada semua kelompok ($p < 0,05$).

Dari hasil uji normalitas data dengan *Shapiro Wilk* (jumlah sampel < 30), didapatkan bahwa $p > 0,05$ untuk masing-masing kelompok perlakuan, maka didapatkan data-data tersebut terdistribusi normal.¹⁶ Data yang terdistribusi normal dilanjutkan dengan uji statistik parametrik ANOVA.¹⁷ Berdasarkan data hasil uji ANOVA didapatkan *p value* kadar ureum kreatinin sereum dan skor histopatologis masing-masing perlakuan adalah $p < 0,001$ ($p < 0,05$).

Dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna dari masing-masing kelompok. Analisis dilanjutkan dengan *Post-Hoc* LSD untuk mengetahui hubungan antara masing-masing perlakuan lebih lanjut (**Tabel 3, 4, dan 5**).

Diskusi

Pemberian senyawa CuSO_4 pentahidrat secara per oral berdampak terhadap kadar ureum dan kreatinin serum normal dan juga terhadap

perubahan struktur histologi ginjal. Pada penelitian ini didapatkan perbaikan kadar ureum kreatinin dan perubahan struktur histologi ginjal pada kelompok 4 yang mendapat perlakuan kurkumin selama 14 hari bersama dengan induksi senyawa CuSO_4

pentahidrat selama 5 hari. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Antony, et al, terdapat perbaikan kadar ureum dan kreatinin pada tikus dengan gagal ginjal setelah diberi kurkumin.³

Tabel 4. Uji *post-hoc* LSD Kadar Kreatinin

Kelompok	Kelompok Uji	Nilai p
Kelompok 1	Kelompok 3, 4, 5, dan 6	<0,001; 0,03; <0,001; <0,001
Kelompok 2	Kelompok 3, 4, 5, dan 6	<0,001; <0,001; <0,001; <0,001
Kelompok 3	Kelompok 1, 2, 3, 5, dan 6	<0,001; <0,001; <0,001; <0,001
Kelompok 4	Kelompok 1, 2, 3, 5, dan 6	<0,001; <0,001; <0,001; <0,001
Kelompok 5	Kelompok 1, 2, 3, 4, dan 6	<0,001; <0,001; <0,001; <0,001
Kelompok 6	Kelompok 1, 2, 3, 4, dan 5	<0,001; <0,001; <0,001; <0,001

Keterangan: Pada uji *Post-Hoc* LSD kadar kreatinin serum didapatkan perbedaan bermakna pada semua kelompok ($p < 0,05$).

Tabel 5. Uji *post-hoc* LSD Histopatologi Ginjal

Kelompok	Kelompok Uji	Nilai p
Kelompok 1	Kelompok 3, 4, 5, dan 6	<0,001; <0,001; <0,001; <0,001
Kelompok 2	Kelompok 3, 4, 5, dan 6	<0,001; <0,001; <0,001; <0,001
Kelompok 3	Kelompok 1, 2, dan 4	<0,001; <0,001; <0,001
Kelompok 4	Kelompok 1, 2, 3, 5, dan 6	<0,001; <0,001; <0,001; <0,001
Kelompok 5	Kelompok 1, 2, dan 4	<0,001; <0,001; <0,001
Kelompok 6	Kelompok 1, 2, dan 4	<0,001; <0,001; <0,001

Keterangan: Pada uji *Post-Hoc* LSD skor histopatologi ginjal didapatkan perbedaan bermakna pada semua kelompok ($p < 0,05$).

Menurut Hashish, efek toksik dari senyawa CuSO_4 pentahidrat dalam tubuh memiliki konsekuensi perubahan stres oksidatif pada membrane lipid dan menurunkan enzim antioksidan (SOD, GSH)¹⁵ dan Hasan, menyebutkan adanya efek toksik memungkinkan ginjal tidak mampu mengekskresikan produk tersebut sehingga menyebabkan gangguan.¹⁸ Hal ini dapat dilihat pada Kelompok 3, 5, dan 6 yang diberi CuSO_4 pentahidrat 0,36 mg/ 200 g yaitu didapatkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) dengan kadar ureum kreatinin serum meningkat (rerata Ureum: K3=48,6, K5=57,6, K6=64,3 dan Kreatinin: K3=1,15, K5=1,32, K6=1,75) diikuti dengan kerusakan histologis ginjal yang menyeluruh (rerata skor histopatologi K3=9, K5=9, K6=9) berupa

kontraksi glomerulus, pelebaran membran Bowman, degenerasi bengkak keruh, dan oklusi tubular. Kelaianan histologi ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Wani 2018.¹⁹ Gangguan fungsi kemungkinan berkaitan dengan batas kemampuan reabsorpsi tubulus, aliran darah ginjal dan filtrasi glomerulus.²⁰

Terdapat signifikansi ($p < 0,05$) efek nefroprotektif kunyit putih dengan dosis 45 mg/ 200 g pada Kelompok 4 menunjukkan perbaikan struktur histologi ginjal dibanding dosis 67,5 mg dan 90 mg/ 200 g pada kelompok 5 dan 6. Dengan kata lain bahwa dosis nefroprotektif 45 mg/ 200 g mampu melindungi jaringan ginjal dari senyawa CuSO_4 pentahidrat. Sesuai dengan penelitian Hashih, yang menyatakan bahwa kurkumin memiliki efek sitoprotektif dan memiliki efek terapeutik dan efek penyingkiran

senyawa CuSO_4 sebagai bahan nefrotoksik. Kurkumin juga memungkinkan secara tidak langsung dapat menurunkan ROS dengan cara menurunkan O_2 juga pengaturan subunit NADPH oksidase yang memiliki manfaat sebagai anti inflamasi dalam proses merusak ginjal.¹⁵

Tembaga menyebabkan kerusakan oksidatif melalui ROS dan penurunan enzim antioksidan seperti CAT dan SOD yang merupakan enzim-enzim yang mampu menyingkirkan radikal bebas. Antioksidan esensial seperti SOD, CAT, dan GSH memiliki mekanisme kerja pertahanan terhadap stres oksidatif. Walaupun dalam data tidak disebutkan bahwa kerusakan yang diakibatkan tembaga karena enzim lipid peroksidase, diduga kuat terdapat peran dalam mekanisme kerjanya.¹⁵

Kurkumin mampu menghambat disfungsi mitokondria yang berhubungan dalam proses cedera ginjal. dan mencegah peroksidasi lipid serta penurunan fungsi mitokondria dalam pemakaian oksigen, aktivitas kompleks I, II, II-III dan V, aktivitas oksigen dan enzim antioksidan, kandungan GSH, potensial membran, retensi kalsium dan konten ATP.⁸

Kurkumin mampu mencegah beberapa mekanisme yang menyebabkan cedera ginjal. Efek nefroprotektif kurkumin telah dikaitkan dengan pencegahan tiga faktor utama, pertama pengurangan stres oksidatif dengan mencegah generasi dari O_2 dan mencari ROS yang berbeda, dan dengan mencegah degradasi Nrf2 oleh jalur *ubiquitin* proteosoma, sehingga meningkatkan enzim antioksidan. Kurkumin telah terbukti mampu mengurangi proses inflamasi dengan mengurangi faktor transkripsi inflamasi seperti NF- κ B dan TNF- α .⁸

Kurkumin dapat mengurangi kelainan fungsi ginjal, stres oksidatif dan penurunan enzim antioksidan yang disebabkan oleh logam. Dalam penelitian sebelumnya oleh Molina-Jijón, *pretreatment* 10 hari dengan 400 mg / kg kurkumin dapat mengurangi kerusakan ginjal baik dari struktur dan fungsionalnya.²¹ Hal ini sesuai dengan hasil pengamatan pada kelompok 4 tikus mengalami perbaikan kadar ureum kreatinin serum dan struktur histologi ginjal. Mitokondria memiliki fungsi dalam proses penghambatan dan penurunan stres oksidatif dan ketetapannya dalam konsumsi oksigen, kontrol pernapasan, menghasilkan ATP, retensi kalsium dan potensial membran. Disini peran kurkumin dalam mencegah penurunan aktivitas enzim *aconitase*, enzim

antioksidan dan kompleks pernapasan mitokondria I, II, II-III dan V.²¹

Menurut Barnett, et al, ginjal rentan terhadap cedera yang diinduksi oleh senyawa oksidan karena ginjal sangat tergantung pada kerja mitokondria dan ATP yang fungsinya memfasilitasi fungsi transportasi dalam nefron. Mekanisme ini juga berlaku terutama untuk sel tubulus proksimal memiliki banyak mitokondria untuk memfasilitasi fungsi transportasi dan sekretornya. Hasil pengamatan pada penelitian ini dijumpai oklusi tubulus-tubulus ginjal pada kelompok yang diberi CuSO_4 pentahidrat 0,36 mg/200 mg. Mitokondria juga merupakan kunci utama sebagai perantara untuk proses pelepasan induktor proapoptosis dan produksi ATP, yang merupakan regulator utama dalam penentuan kematian sel secara apoptosis, nekrosis, atau autofagi.⁴

Pemberian dosis besar 67,5 dan 90 mg/200 g pada kelompok 5 dan 6 menunjukkan adanya kerusakan struktur histologi ginjal yang luas dan peningkatan kadar ureum kreatinin serum. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Winarsih, terdapat dosis toksik pada pemberian ekstrak rimpang kunyit pada sel parenkim hati dan ginjal. Sehingga dikemudian hari diperlukan penelitian kuantitatif lebih lanjut dosis toksik ekstrak kunyit putih terhadap ginjal.²²

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, bahwa terdapat kenaikan kadar ureum kreatinin serum disertai kerusakan struktur histologi ginjal berupa kontraksi glomerulus, pelebaran celah Bowman, degenerasi bengkak keruh, dan oklusi tubular pada perlakuan dengan pemaparan CuSO_4 pentahidrat.

Perlakuan preventif dengan ekstrak kunyit putih dosis 45 mg/ 200 g menunjukkan adanya penurunan kadar ureum kreatinin serum dan kerusakan minimal struktur histologi jaringan ginjal. Pemberian ekstrak kunyit putih dalam dosis yang besar tidak menunjukkan manfaat dalam proses nefroprotektif.

Saran

Perlu penelitian lebih lanjut untuk mendeteksi lebih dini kerusakan ginjal karena senyawa nefrotoksik dan perlu dilakukan penelitian kuantitatif untuk mengetahui kadar metabolit toksik kunyit putih terhadap fungsi ginjal.

Daftar Pustaka

1. Wilson L. Toxic metals and human health. In: Eck PC, Wilson L, editors. Toxic metals in human health and

- disease. 2nd ed. Mexico: Eck Institute Nutrition and Bioenergetics. 2012; p. 1–37.
2. Sembel DT. Toksikologi lingkungan. Jakarta: Andi; 2015.
 3. Antony AS, Gomathy S, Rajmohan T, Anoop P, Issaic C. Pharmacological evaluation of curcumin for its nephroprotective activity in 5/6 nephrectomized rat model. *Drug Invent Today*. 2018;10(1):10–3.
 4. Barnett LMA, Cummings BS. Nephrotoxicity and renal pathophysiology: a contemporary perspective. *Toxicological Sciences*. 2018;164(2):379–90.
 5. Zischka H, Lichtmanegger J. Pathological mitochondrial copper overload in livers of wilson's disease patients and related animal models. *Ann N Y Acad Sci*. 2014;1315:6–15.
 6. Eck PC, Wilson, L. Copper toxicity. Mexico: Eck Institute Of Applied Nutrition And Bioenergetics Ltd; 1989.
 7. Lobo R, Prabhu KS, Shirwaikar A, Shirwaikar A. *Curcuma zedoaria* Rosc.(white turmeric): a review of its chemical, pharmacological and ethnomedicinal properties. *J Pharm Pharmacol*. 2009;61(1):13–21.
 8. Trujillo J, Chirino YI, Molina-Jijón E, Andérica-Romero AC, Tapia E, Pedraza-Chaverrí J. Renoprotective effect of the antioxidant curcumin: Recent findings. *Redox Biol*. 2013;1(1): 448–56.
 9. Putri MS. White turmeric (*curcuma zedoaria*): its chemical substance and the pharmacological benefits. *J Majority*. 2014; 3(7):88–93.
 10. Kössler S, Nofziger C, Jakab M, Dossena S, Paulmichl M. Curcumin affects cell survival and cell volume regulation in human renal and intestinal cells. *Toxicol*. 2012; 292:123–35.
 11. Syu WJ, Shen CC, Don MJ, Ou JC, Lee GH, Sun CM. Cytotoxicity of curcuminoids and some novel compounds from *curcuma zedoaria*. *J Nat Prod*. 1998; 61(12):1531–4.
 12. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Basic histology: text and atlas. Philadelphia: McGraw-Hill New York; 2003.
 13. Mescher AL. Histologi dasar Junqueira teks & atlas. 14th ed. Jakarta: EGC; 2016.
 14. Cotran S, Kumar C, Collins T, Robbins W. Pathologic basis of disease. Philadelphia: Saunders Elsevier Co; 1999.
 15. Hashish EA, Elgaml SA. Hepatoprotective and nephroprotective effect of curcumin against copper toxicity in rats. *Indian J Clin Biochem*. 2016; 31(3): 270–7.
 16. Ahad NA, Yin TS, Othman AR, Yaacob CR. Sensitivity of normality tests to non-normal data. *Sains Malays*. 2011;40(6):637–41.
 17. Wahyuni AS. Statistika kedokteran. Jakarta: Bamboedoea Communication; 2007.
 18. Hassan S, Shaikh MU, Ali N, Riaz M. Copper sulphate toxicity in a young male complicated by methemoglobinemia, rhabdomyolysis and renal failure. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2010;20(7):490–1.
 19. Wani AA, Sikdar M, Zuber SM. Nephroprotective action of taurine and garlic extract against copper sulphate induced renal toxicity in *clarias gariepinus*. *Int J Pharm Biol Sci*. 2018;8(1):2321–72.
 20. Wang T, Long X, Cheng Y, Liu Z, Yan S. The potential toxicity of copper nanoparticles and copper sulphate on juvenile *epinephelus coioides*. *Aquat Toxicol*. 2014; 152:96–104.
 21. Molina-Jijón E, Tapia E, Zazueta C, El Hafidi M, Zatarain-Barrón ZL, Hernández-Pando R, et al. Curcumin prevents cr (vi)-induced renal oxidant damage by a mitochondrial pathway. *Free Radic Biol Med*. 2011;51(8):1543–57.
 22. Winarsih W, Wientarsih I, Sulistyawati NP, Wahyudina I. Uji toksisitas akut ekstrak rimpang kunyit pada mencit: kajian histopatologis lambung, hati dan ginjal (Acute oral toxicity of turmeric extract in mice: histopathological studies of stomach, liver and kidney). *Jurnal Veteriner*. 2012;13(4):402–9

