

PENGARUH EKSTRAK DAUN SUKUN DAN MADU TERHADAP GAMBARAN MIKROSKOPIK GINJAL TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI DIETILNITROSAMIN

Patwi Purnamasari¹, Ratna Damma Purnawati², Neni Susilaningsih²

¹ Mahasiswa Program S-1 Ilmu Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

² Staf Pengajar Ilmu Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

JL. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang-Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar belakang: Daun sukun (*Artocarpus altilis*) dan madu mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang berpotensi menekan kerusakan oksidatif pada ginjal. Kerusakan oksidatif pada ginjal dapat disebabkan oleh zat nefrotoksik seperti DEN.

Tujuan: Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sukun dan madu terhadap gambaran mikroskopis ginjal tikus wistar yang diinduksi DEN.

Metode: Penelitian ini berjenis *true* eksperimental dengan desain *post test only control group*. Sampel sebanyak 25 ekor tikus wistar jantan dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok K1 diberikan akuades per oral dan injeksi akuades intraperitoneal. Kelompok K2, P1, P2, dan P3 diinjeksi DEN secara intraperitoneal dengan dosis 50 mg/kgBB/tikus/minggu; P1 diberikan ekstrak daun sukun per oral dengan dosis 200 mg/kgBB/tikus/hari, P2 diberikan madu per oral dengan dosis 2g/kgBB/tikus/hari, P3 diberikan ekstrak daun sukun dengan dosis 200 mg/kgBB/tikus/hari dan madu dengan dosis 2g/kgBB/tikus/hari per oral. Tikus diterminasi setelah 8 minggu perlakuan kemudian diamati gambaran mikroskopis ginjalnya yang berupa degenerasi dan nekrosis pada tubulus proksimal.

Hasil: Rerata skor degenerasi kelompok K1 = 1,12; K2 = 4,2; P1 = 2,52; P2 = 4,08; P3 = 3,72. Rerata skor nekrosis kelompok K1 = 1,12; K2 = 4,32; P1 = 2,48; P2 = 3,2; P3 = 3,28. Nilai p hasil uji beda dengan uji *Mann-Whitney* data degenerasi sel tubulus proksimal antara K2-P1, K2-P2, K2-P3 adalah 0,008; 0,501; dan 0,007 secara berurutan. Nilai p hasil uji *Mann-Whitney* data nekrosis sel tubulus proksimal antara K2-P1, K2-P2, K2-P3 adalah 0,007; 0,006; dan 0,007 secara berurutan.

Kesimpulan: Pemberian ekstrak daun sukun dan madu dapat menurunkan kerusakan oksidatif pada ginjal akibat DEN.

Kata kunci: Daun sukun, madu, dietilnitrosamin, gambaran mikroskopis ginjal.

ABSTRACT

THE EFFECT OF BREADFRUIT LEAVES EXTRACT AND HONEY ON HISTOPATHOLOGY OF DIETHYLNITROSAMINE-INDUCED WISTAR RAT'S KIDNEY

Background: Breadfruit leaves (*Artocarpus altilis*) and honey contained phenolic and flavonoids compounds which potentially suppressed oxidative damage of the kidneys. Oxidative damage on the kidney might be caused by DEN.

Aim: To determine the effect of breadfruit leaf extract and honey on histopathology of DEN-induced wistar rats' kidney.

Methods: This was a true experimental with post test only control group design research. Samples of 25 male wistar rats were divided into 5 groups. Group K1 was given per oral and intraperitoneal injections of aquadest. Group K2, P1, P2 and P3 was administered 50 mg/kgBW/rat/week intraperitoneal DEN injections; P1 was administered 200 mg/kgBW/day breadfruit leaf extract per oral, P2 was administered 2g/kgBW/rat/day honey per oral, P3 was administered 200 mg/ kgBW/rat/day breadfruit leaf extract and 2g/kgBW/rat/day honey per oral. Rats were terminated after 8 weeks of treatment and then being observed for degeneration and necrosis of the kidney proximal tubule.

Results: Mean of degeneration score of group K1 = 1,12; K2 = 4.2; P1 = 2.52; P2 = 4.08; P3 = 3.72. Mean of necrosis score of group: K1 = 1,12; K2 = 4.32; P1 = 2.48; P2 = 3.2; P3 = 3.28. Mann-Whitney test result p value on degeneration of proximal tubule data between K2-P1, K2-P2, K2-P3 were 0,008; 0,501; and 0,007 respectively. Mann-Whitney test result p value on necrosis of proximal tubule data between K2-P1, K2-P2, K2-P3 were 0,007; 0,006; and 0,007 respectively.

Conclusions: Breadfruit leaf extract and honey have the ability to decrease DEN induced-oxidative damage of wistar rats' kidney.

Keywords: Leaves of breadfruit, honey, diethylnitrosamine, histopathology of the kidney.

PENDAHULUAN

Ginjal adalah organ yang sangat rentan terpengaruh zat-zat berbahaya yang masuk ke dalam tubuh. Salah satu penyebab gangguan ginjal adalah paparan zat-zat nefrotoksik, contohnya dietilnitrosamin (DEN). DEN menurut *The International Agency for Research on Cancer* (IARC) merupakan salah satu senyawa nitrosamin yang paling karsinogenik bagi manusia.¹ DEN merupakan produk metabolisme berbagai makanan maupun minuman yang diberi pengawet nitrat maupun nitrit. Makanan yang paling sering menggunakan nitrat maupun nitrit sebagai pengawet adalah

keju, produk olahan daging, unggas, dan ikan.³

DEN telah dilaporkan memainkan peran kunci dalam patogenesis kerusakan ginjal. DEN di dalam tubuh menyebabkan pembentukan spesies oksigen reaktif yang berujung pada stress oksidatif dan jejassel. Secara fisiologis, tubuh memiliki sejumlah mekanisme untuk melindungi diri dari kerusakan akibat pembentukan spesies oksigen reaktif. Apabila radikal bebas yang menyerang tubuh berlebihan, maka diperlukan antioksidan dari luar (antioksidan eksogen) untuk membantu melawannya.¹² Antioksidan eksogen tersebut dapat berasal dari berbagai sumber

termasuk dari alam, contohnya adalah daun sukun (*Artocarpus altilis*) dan madu.^{3,4}

Sukun (*Artocarpus altilis*) merupakan tumbuhan tropis yang berbuah dua kali dalam setahun dan tidak terlalu sulit ditemukan keberadaannya di Indonesia. Daun sukun pada dasarnya mengandung senyawa fenolik, flavonoid, tanin, fenol, asam hidrosianat, kalium, polifenol, asetilkolin, dan saponin. Senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin terkondensasi yang ditemukan pada ekstrak daun sukun merupakan senyawa yang terkenal memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas.⁵ Daun sukun digunakan untuk mengobati gangguan ginjal, hati, dan jantung dalam penggunaan tradisional.⁶

Penggunaan madu sebagai obat tradisional telah ada sejak zaman kuno. Selain berpotensi sebagai antioksidan, madu juga memiliki potensi sebagai antikanker, antibakterial, bakteriostatik, antiinflamasi dan memiliki aktivitas penyembuhan luka bakar. Hal ini menjadikan madu bukan hanya bernilai sebagai sumber nutrisi, tetapi juga sebagai bahan yang berpotensi sebagai obat dan dapat digunakan untuk kepentingan medis.⁷

Daun sukun dan madu merupakan dua sumber antioksidan yang dapat dengan mudah ditemui. Penelitian mengenai aktivitas antioksidan daun sukun dan madu serta bagaimana kedua bahan ini memperbaiki organ yang rusak akibat stres oksidatif telah banyak dilakukan secara terpisah. Penelitian yang membahas mengenai kemampuan kedua bahan ini dalam memperbaiki kerusakan ginjal akibat induksi DEN terlebih dengan mencampurkan kedua zat tersebut masih belum ada sehingga penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sukun dan madu terhadap gambaran mikroskopis ginjal tikus wistar yang diinduksi DEN menjadi relevan untuk dilakukan.

METODE

Penelitian ini menggunakan rancangan *true experimental* dengan *Post Test Only Control Group Design*, yang menggunakan hewan coba sebagai objek penelitian. Perlakuan berupa pemberian ekstrak daun sukun dan madu pada tikus wistar jantan yang diinduksi DEN dengan parameter pengukuran variabel terikat yaitu gambaran mikroskopis ginjal. Sampel yang digunakan yaitu 25 ekor tikus wistar

jantan yang dibagi menjadi 5 kelompok: kelompok kontrol negatif (K1), kelompok kontrol positif (K2), kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), dan kelompok perlakuan 3 (P3).

Kelompok K1 diberikan akuades per oral dan injeksi akuades intraperitoneal. Kelompok K2, P1, P2, dan P3 diinjeksi DEN secara intraperitoneal dengan dosis 50 mg/kgBB/tikus/minggu, P1 diberikan ekstrak daun sukun per oral dengan dosis 200mg/kgBB/tikus/hari, P2 diberikan madu per oral dengan dosis 2g/kgBB/tikus/hari, P3 diberikan ekstrak daun sukun dengan dosis 200 mg/kgBB/tikus/hari dan madu dengan dosis 2g/kgBB/tikus/hari per oral. Tikus diterminasi setelah 8 minggu perlakuan kemudian dibuat preparat histologi dengan metode blok parafin dan diberi pengecatan HE. Gambaran mikroskopis ginjalnya yang berupa degenerasi dan nekrosis pada

tubulus ginjal diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x pada 5 lapangan pandang, yaitu keempat sudut dan bagian tengah preparat. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Pembuatan ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro. Pembuatan spesimen dan pemeriksaan histologis ginjal dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Nasional Diponegoro. Penelitian dilaksanakan selama 8 bulan yaitu pada Bulan Februari hingga Oktober 2017.

HASIL

Analisis deskriptif hasil pembacaan preparat histopatologi sel tubulus ginjal tikus wistar yang berupa degenerasi dan nekrosis ditampilkan pada tabel 1.

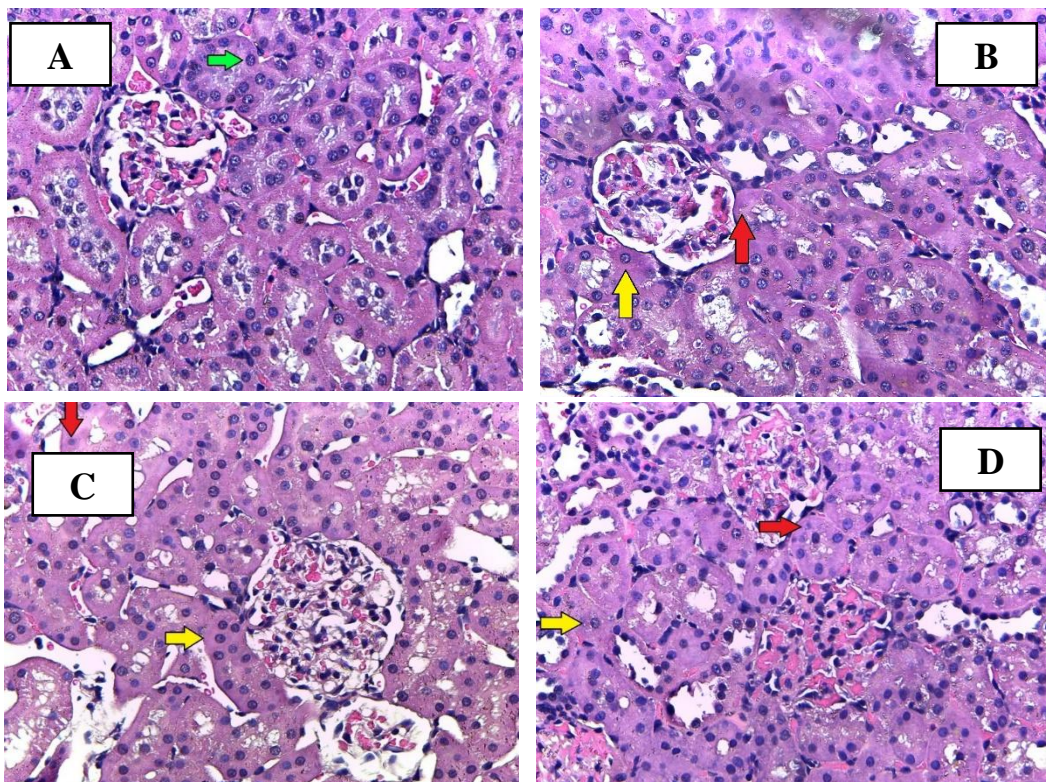
Tabel 1. Analisis deskriptif sel tubulus ginjal tikus wistar

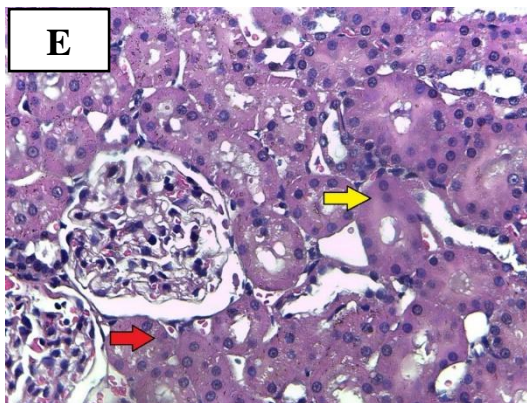
Kelompok	Mean		SD		Maksimum		Minimum	
	D	N	D	N	D	N	D	N
K1	1,12	1,12	0,1095	0,1095	1,2	1,2	1,0	1,0
K2	4,2	4,32	0,1414	0,1789	4,4	4,4	4,0	4,0
P1	2,52	2,48	0,2683	0,2280	2,8	2,8	2,2	2,2

P2	4,08	3,2	0,2683	0,2828	4,4	3,6	3,8	2,8
P3	3,72	3,28	0,1095	0,5407	3,8	3,8	3,6	2,6

Tabel 1 menunjukkan perbedaan nilai rerata degenerasi dan nekrosis antara kelompok K1 dan K2, dimana rerata perubahan gambaran histopatologis ginjal tikus wistar untuk degenerasi dan nekrosis pada kelompok K2 lebih tinggi daripada kelompok K1. Semua kelompok perlakuan memiliki nilai rerata degenerasi dan nekrosis yang lebih rendah dibandingkan

kelompok K2. Kelompok P1 memiliki nilai rerata degenerasi dan nekrosis yang paling rendah dari semua kelompok perlakuan. Gambar 1 menunjukkan gambaran mikroskopis dari setiap kelompok tikus wistar yang digunakan pada penelitian ini.





Gambar 1. Gambaran mikroskopis ginjal tikus wistar dari seluruh kelompok. Gambar A menunjukkan gambaran mikroskopis ginjal kelompok kontrol negatif. Panah hijau menunjukkan sel tubulus normal; Gambar B, C, D, dan E merupakan gambaran mikroskopis ginjal kelompok kontrol positif, perlakuan 1, perlakuan 2 dan perlakuan 3 secara berurutan. Pada keempat gambar tersebut terlihat adanya gambaran sel yang mengalami degenerasi (panah kuning) dan nekrosis (panah merah). (HE, 400X)

Data perubahan gambaran histopatologis sel tubulus ginjal tikus wistar yang berupa degenerasi diuji normalitasnya menggunakan uji *Saphiro-Wilk* kemudian didapatkan hasil data berdistribusi tidak normal dengan $p < 0,05$. Uji normalitas kemudian dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* didapatkan $p < 0,05$ yaitu $p = 0,001$. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan gambaran histopatologis sel tubulus ginjal tikus wistar yang berupa degenerasi yang bermakna paling tidak antar dua kelompok. Uji statistik kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui antar kelompok mana yang terdapat perbedaan

secara bermakna. Hasil uji *Mann Whitney* pada data degenerasi sel tubulus ginjal tikus wistar ditampilkan pada tabel 2.

Tabel 2. Nilai p uji *Mann Whitney* data degenerasi sel tubulus ginjal

Variabel	K2	P1	P2	P3
K1	0,007*			
K2		0,008*	0,501	0,007*
P1			0,008*	0,008*
P2				0,033*

Keterangan:

*Signifikan $p < 0,05$

Hasil uji beda antar kelompok menunjukkan bahwa seluruh kelompok memiliki perbedaan gambaran degenerasi yang bermakna kecuali pada kelompok K2 dengan kelompok P2 yang memiliki nilai

$p=0,501$ yang artinya pada kedua kelompok tersebut tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

Data perubahan gambaran histopatologis sel tubulus ginjal tikus wistar yang berupa nekrosis juga diuji normalitasnya menggunakan uji *Saphiro-Wilk* kemudian didapatkan hasil data berdistribusi tidak normal dengan $P < 0,05$. Uji normalitas dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* didapatkan $p < 0,05$ yaitu $p = 0,002$ artinya terdapat perbedaan gambaran histopatologis sel tubulus ginjal tikus wistar yang berupa nekrosis yang bermakna paling tidak pada dua kelompok. Uji statistik kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*. Hasil uji *Mann Whitney* pada data nekrosis sel tubulus ginjal tikus wistar ditampilkan pada tabel 3.

Tabel 3. Nilai p uji *Mann Whitney* data nekrosis sel tubulus ginjal

Variabel	K2	P1	P2	P3
K1	0,006*			
K2		0,007*	0,006*	0,007*
P1			0,011*	0,026*
P2				0,667

Keterangan:

*Signifikan $p < 0,05$

Hasil uji beda antar kelompok menunjukkan bahwa gambaran

histopatologis sel tubulus ginjal tikus wistar yang berupa nekrosis pada seluruh kelompok memiliki perbedaan yang bermakna kecuali pada kelompok P2 dengan kelompok P3 yang memiliki nilai $p=0,667$ yang artinya pada kedua kelompok tersebut tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

PEMBAHASAN

Hasil metabolisme beberapa senyawa toksik yang dikeluarkan oleh ginjal dapat menyebabkan disfungsi ginjal.⁸ Toksisitas bergantung pada dosis; penurunan volume cairan tubuh dapat menjadi predisposisi toksisitas.⁹ Pemberian DEN dengan dosis 50mg/kgBB sekali seminggu selama 8 minggu, berdasarkan hasil penelitian ini memiliki pengaruh terhadap gambaran mikroskopis ginjal tikus wistar berupa banyaknya sel-sel tubulus ginjal yang mengalami degenerasi dan nekrosis, terutama pada kelompok kontrol positif. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Sharmila dkk (2016) yang melaporkan bahwa DEN bersifat nefrotoksik, ditandai dengan adanya kerusakan berupa nekrosis tubulus proksimal, degenerasi pada sel epitel tubulus dan adanya *hyaline cast* pada

ginjal tikus wistar yang diinduksi DEN.¹⁰ DEN yang bersifat nefrotoksik ini juga telah dikonfirmasi oleh penelitian yang dilakukan oleh Ahmed dkk (2015) yang menyatakan bahwa DEN di dalam tubuh dapat memodulasi terjadinya stress oksidatif dan inflamasi sehingga menyebabkan berbagai kerusakan pada ginjal.¹¹

Degenerasi sel yang tampak pada gambaran mikroskopis ginjal tikus wistar yang diinduksi DEN pada penelitian ini yaitu pembengkakan sel (*Cell swelling/ Cloudy swelling/ Degenerasi albuminosa/ Degenerasi parenkimatosa*), degenerasi hidropik dan degenerasi lemak. Pembengkakan sel dan degenerasi hidropik disebabkan kegagalan pompa ion yang tergantung tenaga/ energi-dependen pada membran plasma, mengakibatkan sel tidak mampu mempertahankan homeostasis ion dan cairan sehingga terjadi akumulasi cairan di dalam sel.¹² Degenerasi lemak terjadi karena adanya gangguan metabolisme pada mitokondria dan aparatus golgi yang mengakibatkan trigliserida dan air tidak dapat dieliminasi sehingga zat-zat tersebut tertimbun di dalam sel.¹³ Kelompok kontrol negatif pada penelitian ini juga

memperlihatkan adanya degenerasi dan nekrosis pada sel tubulus ginjal namun dalam jumlah yang lebih sedikit apabila dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain. Hal ini dapat diakibatkan adanya proses penuaan sel, dan/atau adanya artefak histologis akibat penanganan jaringan sampel yang tidak tepat.^{12,14} Suatu artefak histologis dapat didefinisikan sebagai perubahan palsu dari jaringan atau suatu struktur akibat adanya faktor eksternal. Faktor eksternal tersebut dapat berupa injeksi anastesi lokal, panas yang berlebihan, pembekuan, kesalahan penanganan spesimen, fiksasi jaringan yang tidak adekuat, media fiksasi yang tidak tepat, pewarnaan yang tidak tepat, dan cacat dalam pemrosesan jaringan.¹⁴ Beberapa artefak dapat dengan mudah dibedakan dari jaringan normal maupun tidak normal, namun beberapa sulit untuk dibedakan sehingga dapat menyebabkan kesalahan diagnosis.¹⁵

Pemberian antioksidan telah banyak terbukti dapat mengurangi kerusakan ginjal yang diakibatkan oleh induksi DEN.^{11,16-18} Sumber antioksidan yang digunakan pada penelitian kali ini yaitu daun sukun dan madu. Pemberian daun sukun dan madu pada tikus wistar

yang telah diinduksi DEN menunjukkan adanya gambaran mikroskopis sel tubulus ginjal yang lebih baik. Hal ini mengindikasikan adanya aktivitas penangkapan radikal bebas yang dimiliki oleh daun sukun dan madu. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Adaramoye dkk (2016) dan Atagana dkk (2014) dimana ekstrak dengan metanol daun sukun maupun madu dapat memperbaiki kerusakan oksidatif pada ginjal tikus wistar yang diinduksi cadmium.^{6,19}

Efek perlakuan berupa pemberian ekstrak daun sukun menunjukkan hasil yang paling baik dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini menandakan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak daun sukun lebih baik dibandingkan madu ataupun ekstrak daun sukun yang telah dicampurkan dengan madu. Ekstrak daun sukun dengan metanol berdasarkan penelitian Udaya dkk (2017) memang memiliki aktivitas penangkapan antioksidan yang sangat potensial. Berdasarkan penelitian tersebut, ekstrak daun sukun dengan metanol memiliki kandungan fenolat total 14.31 ± 0.534 mg TAE/g DW, kandungan flavonoid 33.19 ± 0.126 μ g QE/g DW dan total kandungan

antioksidan 112.55 ± 0.196 mg TAE/g DW. Nilai EC₅₀ dari ekstrak daun sukun dengan metanol untuk penangkapan radikal bebas yang dievaluasi menggunakan pemeriksaan DPPH adalah 35 μ g/m sedangkan standar (BHA) adalah 25.78 μ g/ml.²⁰

Sel tubulus ginjal tikus wistar yang telah diinduksi DEN pada perlakuan dengan hanya memberikan madu menunjukkan gambaran mikroskopis yang lebih baik daripada kontrol positif, namun perbedaan degenerasinya tidak bermakna secara statistik. Hal ini mengindikasikan bahwa madu memiliki aktivitas antioksidan yang tidak sebaik ekstrak daun sukun tetapi masih mampu menangkal kerusakan sel yang lebih lanjut akibat pengaruh buruk DEN. Hasil penelitian ini sedikit berbeda dengan penelitian Yaman dkk (2016) yang melaporkan bahwa madu memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Madu dalam penelitian tersebut dapat memperbaiki gambaran mikroskopis ginjal tikus Sprague-Dawley yang diinduksi aflatoxin hingga hampir menyerupai gambaran mikroskopis ginjal yang normal.²¹ Perbedaan ini dapat disebabkan karena setiap madu memiliki kapasitas antioksidan serta kandungan yang sangat

bervariasi tergantung pada konsentrasi, jenis bunga nektar serta kondisi geografik dan cuaca sarang lebah.^{22,23} Faktor lingkungan seperti bagaimana cara pemrosesan juga dapat mempengaruhi komposisi madu dan aktivitas antioksidannya.²⁴

Perlakuan dengan pemberian ekstrak daun sukun yang telah dicampurkan dengan madu memberikan gambaran yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan yang hanya memberikan madu meskipun perbedaannya tidak signifikan secara statistik. Hasil dari perlakuan ini tidak lebih baik jika dibandingkan dengan perlakuan yang hanya memberikan ekstrak daun sukun. Seperti yang telah diketahui, sangat penting menjaga keseimbangan antara oksidan dan antioksidan untuk dapat mempertahankan sistem biologis yang sehat. Aktivitas prooksidan dari antioksidan sangat tergantung pada konsentrasinya.² Kadar antioksidan yang rendah mungkin menguntungkan bagi sistem biologi, namun dalam jumlah yang tinggi antioksidan mungkin akan mengacaukan keseimbangannya.^{2,25} Hal ini dikarenakan keberadaan spesies reaktif di dalam tubuh tidak sepenuhnya merugikan.

Spesies reaktif dibutuhkan untuk berbagai peran fisiologis seperti penyampaian informasi seluler dan perlawanan terhadap agen infeksius dalam konsentrasi rendah.²⁶ Ketika kadar antioksidan di dalam tubuh melebihi kadar spesies reaktif yang diproduksi oleh tubuh maka terjadilah suatu ketidakseimbangan yang disebut stress antioksidatif.²⁷ Keadaan ini dapat memicu kerusakan dalam tubuh karena dapat mengurangi atau bahkan menghilangkan peran fisiologis spesies reaktif tersebut.²⁶ Aktivitas prooksidan dari suatu antioksidan juga bergantung pada potensial redoksnya, keberadaan antioksidan lain, keberadaan logam transisi, dan aktivitas serta konsentrasi dari antioksidan endogen.²⁷

Flavonoid merupakan komponen utama senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan pada ekstrak daun sukun dan madu.^{28,29} Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa sebagian flavonoid dapat bersifat prooksidan.² Prooksidan mengacu pada seluruh senyawa endobiotik ataupun xenobiotik yang dapat menginduksi terjadinya stress oksidatif baik dengan membentuk ROS atau pun menghambat sistem antioksidan.³⁰ Flavonoid dalam konsentrasi tinggi

menghasilkan ROS lewat autooksidasi dan *redox-cycling*.^{2,27} Quersetin merupakan salah satu senyawa yang dapat bersifat prooksidan diantara senyawa flavonoid tersebut. Berdasarkan penelitian sebelumnya diketahui bahwa quersetin bersifat antioksidan pada konsentrasi 10-25 μM dan bersifat prooksidan pada konsentrasi 50-250 μM .² Pencampuran ekstrak daun sukun dengan madu dalam penelitian ini mungkin telah meningkatkan konsentrasi quersetinnya sampai ke batas dimana senyawa ini justru bersifat prooksidan.

Senyawa yang bersifat sebagai antioksidan dapat pula berinteraksi dengan senyawa lain sehingga senyawa antioksidan tersebut malah bersifat prooksidan. Sebagai contoh, antioksidan yang didapatkan dari diet seperti fenolat dapat menunjukkan aktivitas prooksidan dengan adanya ion logam transisi.² Ion logam tersebut terutama besi dan tembaga yang juga terkandung di dalam madu.⁴ Hal ini dapat menjadi alasan mengapa penambahan madu pada ekstrak daun sukun justru menurunkan efektivitas ekstrak daun sukun. Berdasarkan hasil penelitian ini maka pencampuran ekstrak

daun sukun dengan madu untuk dikonsumsi sebagai terapi tidak dianjurkan. Penelitian ini memiliki keterbatasan berupa tidak diperhitungkannya penyakit lain yang muncul selama penelitian serta apa saja dan berapa jumlah kandungan dari ekstrak daun sukun dan madu yang digunakan dalam penelitian ini.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

- a. Pemberian ekstrak daun sukun dan madu berpengaruh terhadap gambaran mikroskopis ginjal tikus wistar yang diinduksi DEN.
- b. Terdapat perbedaan gambaran mikroskopis ginjal antara kelompok tikus wistar yang diinduksi DEN dengan kelompok tikus wistar yang tidak diinduksi DEN. DEN menyebabkan kerusakan pada sel tubulus ginjal.
- c. Terdapat perbedaan gambaran mikroskopis ginjal kelompok tikus wistar yang diinduksi DEN dan diberikan daun sukun dengan kelompok tikus wistar yang diinduksi DEN namun tidak diberikan daun sukun. Daun sukun dapat mengurangi kerusakan sel tubulus ginjal.

- d. Terdapat perbedaan gambaran mikroskopis ginjal kelompok tikus wistar yang diinduksi DEN dan diberikan madu dengan kelompok tikus wistar yang diinduksi DEN namun tidak diberikan madu. Madu dapat mengurangi kerusakan sel tubulus ginjal.
- e. Terdapat perbedaan gambaran mikroskopis ginjal antara kelompok tikus wistar yang diinduksi DEN dan diberikan ekstrak daun sukun serta madu dibanding dengan kelompok tikus wistar lainnya. Gambaran mikroskopis ginjal kelompok yang diberikan ekstrak daun sukun menunjukkan hasil yang paling baik diikuti dengan kelompok yang diberikan ekstrak daun sukun dan madu kemudian kelompok yang hanya diberikan madu.

Saran

- a. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan dosis madu yang lebih bervariasi untuk menemukan dosis madu yang paling efektif dalam memperbaiki kerusakan ginjal akibat induksi DEN.
- b. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan rentang waktu penelitian yang lebih lama dari 8 minggu untuk mengetahui apakah penggunaan ekstrak daun sukun maupun madu dalam waktu yang lebih panjang memiliki efek yang tidak diharapkan.
- c. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan beberapa jenis madu yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

1. Al-Kaseem M, Al-Assaf Z, Karabeet F. Determination of Seven Volatile N-Nitrosamines in Fast Food. *Pharmacol Pharm.* 2014;5(2):195–203.
2. Bouayed J, Bohn T. Exogenous Antioxidants—Double-Edged Swords in Cellular Redox State: Health Beneficial Effects at Physiologic Doses versus Deleterious Effects at High Doses. *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. 2010 [dikutip pada 2 Apr 2017]; 3(4):228–37. Tersedia pada: Hindawi Journals
3. Jiyauddin K, Zulhabri O, Aishah UAM, Rasha S, Hamid K, Qamar M, et al. Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activity of *Artocarpus altilis* Against Human

- Pathogens. UK J Pharm Biosc 2014;2(4):10–4.
4. Bogdanov S. Honey as Nutrient and Functional food: a review. Bee Product Sci [Internet]. 2014 [dikutip pada 6 Mar 2017];1-43. Tersedia pada: www.bee-hexagon.net/
 5. Suryanto E, Wehantouw F. Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Dari Ekstrak Fenolik. J Bahan Alam Indones. 2008;6(5):185–8.
 6. Adaramoye OA, Akanni OO. Modulatory Effects of Methanol Extract of *Artocarpus altilis* (Moraceae) on Cadmium-Induced Hepatic and Renal Toxicity in Male Wistar Rats. Pathophysiology [Internet]. 2016 [dikutip pada 25 Feb 2017]; 23(1):1–9. Tersedia pada: Hindawi Journals.
 7. Bogdanov S. Honey in Medicine. Bee Prod Sci [Internet]. 2014 [dikutip pada 27 Maret 2017]; 1–24. Tersedia pada: <http://www.bee-hexagon.net/>
 8. Moneim AA, Ahmed OM, Fahim HI, Mohamed EE. The Preventive Effects of Avocado Fruit and Seed Extracts on Cardio-nephrotoxicity Induced by Diethylnitrosamine/2-acetylaminoflurine in Wistar Rats. J. Medicine. 2017;6(1):4–13.
 9. Jannete JC, Olson JL, Silva FG, D'Agati V., editor. Heptinstall's Pathology of the Kidney. 7 ed. New York. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2015.
 10. Sharmila R, Sindhu G, Arockianathan PM. Nephroprotective effect of β -sitosterol on N-diethylnitrosamine initiated and ferric nitrilotriacetate promoted acute nephrotoxicity in Wistar rats. J Basic Clin Physiol Pharmacol [Internet]. 2016 [Dikutip pada 23 Oktober 2017];27(5). Tersedia pada: <http://www.degruyter.com>
 11. Ahmed RR, Mahmoud AM, Ashour MB, Kamel AM. Hesperidin Protects Against Diethylnitrosamine-Induced Nephrotoxicity through Modulation of Oxidative Stress and Inflammation. Natl J Physiol Pharm Pharmacol. 2015;5(5):391–7.
 12. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Buku Ajar Patologi Robbins. Trans Krisnuhoni, E. Singapore: Elsevier; 2015.
 13. Soebowo S, Indra W, Siti A. Patologi

- Anatomi. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro; 2008.
14. Rastogi V, Puri N, Arora S, Kaur G, Yadav L, Sharma R. Artefacts: A Diagnostic Dilemma - A review. *J Clin Diagnostic Res.* 2013;7(10):2408–13.
 15. Ekundina VO, Eze G. Common Artifacts and Remedies in Histopathology (a Review). *African J Cell Pathol* [Internet]. 2015 [dikutip pada 1 Okt 2017];4:6–12. Tersedia pada: www.ajcpath.com
 16. Rezaie A, Fazlara A, Karamolah MH, Shahriari A, Zadeh HN, Pashmforosh M. Effects of Echinacea purpurea on Hepatic and Renal Toxicity Induced by Diethylnitrosamine in Rats. *Jundishapur J Nat Pharm Prod.* 2013;8(2):60–4.
 17. Pradeep K, Mohan CVR, Gobianand K, Karthikeyan S. Silymarin Modulates the Oxidant-Antioxidant Imbalance during Diethylnitrosamine Induced Oxidative Stress in Rats. *Eur J Pharmacol.* 2007;560(2–3):110–6.
 18. Kesmati M, Gholami K, Kazeminejad SR. Effects of Caffeine on Renal Toxicity Induced by Diethylnitrosamine. *Zahedan J Res Med Sci.* 2015;60–2.
 19. Atagana OS, Asagba SO. Protective Effects of Honey against Cadmium-Induced Alteration of Some Biochemical Parameters in Rats. *Toxicol Environ Chem.* 2014;96(10):1557–63.
 20. Udaya PNK, Sriraman V, Ranjith KM, Sripriya N, Bhuvanewari S. Antioxidant Potency and GC-MS Composition of Leaves of *Artocarpus altilis* (Park). *Der Pharma Chemica.* 2017;9(5):102–6.
 21. Yaman T, Yener Z, Celik I. Histopathological and Biochemical Investigations of Protective Role of Honey in Rats with Experimental Aflatoxicosis. *BMC Complement Altern Med* [Internet]. 2016 [Dikutip pada 23 Oktober 2017];16(1):232. Tersedia pada: <http://bmccomplementalternmed.biomedcentral.com>.
 22. Sari RK, Bertoni R. Kajian Manfaat Madu Hutan Anggota JMHI terhadap Penyakit Kanker dan Anti Aging. Pontianak: Jaringan Madu Hutan Indonesia; 2014.
 23. Ayoub S, Al-Asiri SA, Latief A.

- Role of Honey in Modern Medicine. Saudi J Biol Sci [Internet]. 2017 [dikutip pada 1 Okt 2017];24(5):975–8. Tersedia pada: <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.010>.
24. Lachman J, Hejtmánková A, Sýkora J, Karban J. Contents of Major Phenolic and Flavonoid Antioxidants in Selected Czech Honey. Czech. J. Food Sci. 2010;28(5):412–26.
25. Carochó M, Ferreira ICFR. A Review on Antioxidants, Prooxidants and Related Controversy: Natural and Synthetic Compounds, Screening and Analysis Methodologies and Future Perspectives. 2013;51:15–25.
26. Poljsak B, Milisav I. The Neglected Significance of “Antioxidative Stress.” Oxid Med Cell Longev. 2012;48(8):1-12.
27. Villanueva C, Kross RD. Antioxidant-Induced Stress. Int J Mol Sci. 2012;13(2):2091–109.
28. Sikarwar MS, Hui BJ, Subramaniam K, Valeisamy BD, Yean LK, Balaji K. A Review on *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg (Breadfruit). J Appl Pharm Sci. 2014;4(8):91–7.
29. Da Silva PM, Gauche C, Gonzaga LV, Costa ACO, Fett R. Honey: Chemical Composition, Stability And Authenticity. Food Chem [Internet]. 2016 [dikutip pada 2 Okt 2017];196(2016):309–23. Tersedia pada: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.051>.
30. Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S, et al. Oxidative stress, Prooxidants, and Antioxidants: The interplay. Biomed Res Int. 2014;2014:1-9.