

Uji Keamanan Paparan Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.) terhadap Struktur Ren Mencit (*Mus musculus* L.) Jantan

Safety Test of Ethanolic Neem Leaf (Azadirachta indica A. Juss.) Extract on Male Mice (Mus musculus L.) Renal Structure

Ayu Dwi Lestari^{1*}, Agung Janika Sitasiwi¹, Sri Isdadiyanto¹

¹Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Semarang

*Corresponding author, Email: agssiwi@yahoo.co.id

Naskah diterima: 18 Juni 2019, direvisi: 7 Juli 2023, disetujui: 11 Juli 2023

Abstract

Neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) leaves are often used as traditional medicine because they contain bioactive compounds such as azadirachtin, nimbidin and nimbolides. Consumption of traditional medicines for long periods can cause side effect on kidney. This study aims to examine the safety test of ethanolic of neem leaves extract on the histological structure of glomerular and proximal tubular in the male mice (*Mus musculus* L.) kidneys. Completely Randomized Design (CRD) consists of 2 treatment groups with 15 replicationson each was used in this study. The first group was K (treated with aquadest only) and P group (treated with ethanolic neem leaves extract with the dosage 14 mg/ kg body weight). The treatment was given orally for 21 days with 0.2 mL in volume. Feeding and drinking were carried out ad-libitum. At the 22th treated days, kidney was isolated, weighted and made for histological processed with 5 µm in thickness using paraffin method with Hematoxylin and Eosin staining. The variables observed in this study were kidney weight, water consumption, glomerular diameter, Bowman capsule thickness, diameter of proximal tubule and lumen. Data were analyzed by using t-test with a confidence level of 95%. The results of the analysis showed there were no significant difference ($p > 0.05$) of kidney weight, water consumption, glomerular diameter, thick of Bowman capsule, diameter of proximal tubules and lumen. The study showed that the use of ethanolic neem leaves extract for 21 days still safe to the renal structure of male mice.

Keywords: glomerular diameter; neem leaves; proximal tubule diameter

Abstrak

Daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.) sering dimanfaatkan sebagai obat tradisional karena mengandung senyawa bioaktif diantaranya azadirachtin, nimbidin dan nimbolides. Konsumsi obat tradisional dalam jangka waktu yang lama dapat menimbulkan efek samping salah satunya pada organ ginjal. Penelitian ini bertujuan untuk menguji tingkat keamanan paparan ekstrak etanol daun mimba terhadap struktur histologi glomerulus dan tubulus kontortus proksimal pada ginjal mencit (*Mus musculus* L.) jantan. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas 2 perlakuan dengan 15 kali ulangan, yaitu K (kelompok control, hanya diberi akuades) dan P (perlakuan ekstrak etanol daun mimba dosis 14 mg/kg BB). Perlakuan diberikan secara oral dengan volume 0,2 mL selama 21 hari. Pemberian pakan dan minum secara *ad libitum*. Organ ginjal diisolasi pada hari ke-22, selanjutnya ditimbang dan dibuat sediaan histologi dengan tebal sayatan 5 µm menggunakan metode parafin dan pewarnaan Hematoksilin dan Eosin. Variabel yang diamati pada penelitian ini yaitu bobot ginjal, konsumsi air, diameter glomerulus, tebal kapsula Bowman, diameter tubulus proksimal dan diameter lumen. Data dianalisis menggunakan uji t dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil analisis menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna ($p > 0,05$) pada bobot ginjal, konsumsi air, diameter glomerulus, tebal kapsula Bowman, diameter tubulus proksimal dan lumen. Kesimpulan dari

penelitian ini yaitu pemberian ekstrak etanol daun mimba selama 21 hari masih aman terhadap struktur histologi ginjal mencit jantan.

Kata kunci: *daun mimba; diameter glomerulus; diameter tubulus proksimal*

Pendahuluan

Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.) merupakan tanaman yang telah dikenal sebagai tanaman obat (Hashmat *et al.*, 2012). Alzohairy (2016) menyatakan bahwa tanaman mimba memiliki aktivitas biologi dan farmakologis yaitu anti-bakteri, anti-fungi, anti-inflamasi, anti-arthritik, anti-piretik, hipoglikemik, anti-bakteri dan antitumor. Seriana *et al.* (2019) menyatakan bahwa daun mimba mengandung senyawa yang berpotensi sebagai antifertilitas, baik pada hewan jantan maupun betina sehingga dapat digunakan untuk menekan pertumbuhan populasi hewan tersebut.

Penggunaan tanaman sebagai obat tradisional umumnya dilakukan dengan alasan khasiat senyawa kimia yang terkandung di dalamnya (Ashafa *et al.*, 2012). Alzohairy (2016) menyatakan bahwa daun mimba mengandung nimbin, nimbanene, 6-desacetylnimbinene, nimbandiol, nimbolide, asam askorbat, n-hexacosanol dan asam amino, 7-desacetyl-7-benzoylazadiradione, 7-desacetyl-7-benzoylgedunin, 17-hydroxyazadiradione, nimbiol, quercetin, β -sitosterol, dan polifenol alkaloid. Gupta *et al.* (2019) menyatakan bahwa senyawa aktif yang terkandung dalam mimba meliputi azadirachtin, meliacin, gedunin, nimbidin, nimbolides, salanin, nimbin dan valassin.

Toksikitas karena obat tradisional dapat disebabkan karena konsumsi obat tradisional dengan kadar toksik yang tidak diketahui (Jha, 2010). Braga *et al.* (2021) menyatakan bahwa dosis meningkat dengan besarnya konsentrasi, lama dan frekuensi paparan serta cara masuknya ke dalam tubuh. Resiko keracunan akan semakin besar jika paparan terhadap zat kimia tertentu semakin besar dan lama. Sitaswi dkk. (2017) membuktikan bahwa penggunaan ekstrak etanol daun mimba sebagai senyawa antifertilitas sampai dosis 14 mg/kgBB/hari selama 21 hari menyebabkan penurunan kadar Hb dan eritrosit mencit jantan. Hal tersebut membuktikan bahwa paparan ekstrak daun mimba berpotensi

memberikan efek yang merugikan. Seriana *et al.* (2021) menyatakan bahwa efek samping mimba diduga dapat menyebabkan kerusakan struktur hati dan ginjal.

Suhita dkk. (2013) menyatakan bahwa toksisitas suatu senyawa dapat mengakibatkan kerusakan fungsi berbagai organ tubuh, termasuk ginjal. Glomerulus dan tubulus adalah bagian dari ginjal yang mudah mengalami kerusakan sehingga akan berdampak secara morfologis dan fungsional (Adinata dkk., 2013). Glomerulus berfungsi menyaring darah dalam kapiler menuju ruang Bowman. Saat terjadi peningkatan permeabilitas kapiler dan filtrasi pada glomerulus, maka protein plasma dan sel darah merah dapat bocor dari glomerulus sehingga membran filtrasi glomerulus rusak dan terjadi pembengkakan yang dapat mengakibatkan ruang Bowman menyempit (Mayori dkk., 2013). Takaori *et al.* (2016) menyatakan bahwa zat kimia yang direabsorpsi dari filtrat glomerulus akan melalui sel epitel tubulus dengan konsentrasi tinggi. Proses pemekatan tersebut menyebabkan zat-zat toksik ini akan terakumulasi di tubulus proksimal. Korelasi antara akumulasi zat kimia, transport segmental tubulus dan toksisitas dapat menimbulkan kerusakan tubulus proksimal. Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi tingkat keamanan paparan ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) terhadap struktur glomerulus dan tubulus kontortus proksimal ginjal mencit jantan.

Materi dan Metode

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu mencit (*Mus musculus* L.) jantan berusia 3 bulan dengan rata-rata bobot badan 30-35 g sebanyak 30 ekor. Mencit diaklimasi selama 12 hari dalam kondisi laboratorium yang terkontrol, sebelum diberi paparan bahan uji. Mencit dipelihara pada kandang terpisah dengan kepadatan 3 ekor per kandang. Pakan standar HI-PRO-VITE Medicated 594 dan air minum diberikan secara *ad libitum*.

Daun tanaman Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) didapat dari area kampus FSM UNDIP, Tembalang, Semarang. Sediaan daun mimba diperoleh dari daun yang berada di urutan ke-4 sampai ke-20 pada setiap tangkainya. Pembuatan ekstrak etanol daun mimba dilakukan dengan metode maserasi. Ekstraksi dilakukan dengan cara merendam sampel dalam larutan etanol 70% dengan perbandingan 1:3. Larutan kemudian diaduk selama 1 menit pada suhu kamar kemudian didiamkan selama 12 jam. Ekstrak dipisahkan dengan cara penyaringan sehingga diperoleh filtrat dan ampas. Filtrat yang mengandung ekstrak dievaporasi dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50-60°C, untuk memisahkan antara pelarut dengan ekstrak (Kediso *et al.*, 2021). Hasil akhir ekstraksi etanol daun mimba berupa serbuk. Ekstrak etanol daun mimba selanjutnya dibuat sediaan bahan perlakuan dengan dosis 14 mg/kgBB. Penentuan dosis dilakukan berdasar penelitian Sitasiwi dkk. (2017) mengenai penggunaan ekstrak etanol daun mimba sebagai senyawa antifertilitas pada mencit.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 2 perlakuan dengan masing-masing perlakuan sebanyak 15 ulangan. Hewan uji yang berjumlah 30 ekor dikelompokkan menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P). Masing-masing kelompok ditempatkan pada 5 kandang yang berbeda, tiap kandang terdiri dari 3 ekor mencit jantan. Kelompok kontrol (K) adalah hewan uji yang diberi akuades 0,2 ml/ekor/hari. Kelompok perlakuan (P) merupakan kelompok hewan uji yang diberi ekstrak daun mimba dosis 0,2 ml/ekor/ hari. Perlakuan dilakukan selama 21 hari berturut-turut.

Koleksi sampel berupa organ ginjal dilakukan pada hari ke-22. Mencit dibius dengan kloroform kemudian dibedah untuk diisolasi organ ginjalnya. Ginjal yang telah diisolasi kemudian dibersihkan menggunakan tissue dan ditimbang menggunakan timbangan analitis dengan ketelitian 0.1 gram. Ginjal selanjutnya difiksasi menggunakan BNF (*buffer neutral formalin* 10%) untuk dibuat sediaan histologi dengan metode paraffin dan pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E) dengan ketebalan sayatan 5 µm.

Variabel yang diamati adalah bobot ginjal, diameter glomerulus, tebal kapsula Bowman, diameter tubulus proksimal dan lumen tubulus proksimal kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Pengamatan sediaan histologi dilakukan menggunakan fotomikrograf dengan perbesaran 200x. Setiap sediaan histologi diamati 4 bidang pandang, dari setiap bidang pandang diambil 5 glomerulus dan 5 tubulus proksimal. Pengukuran diameter bagian-bagian organ ginjal dilakukan dengan mengukur diameter secara vertikal dan horizontal untuk penampang berbentuk bulat atau dari jarak terjauh (x) dan jarak terdekat (y) untuk penampang yang berbentuk oval. Pengukuran menggunakan rumus .

Pengukuran diameter glomerulus dilakukan dengan mengukur diameter masing-masing glomerulus secara vertikal dan horizontal atau dari sisi terpanjang dan terpendek untuk glomerulus yang bentuknya tidak bulat sempurna. Pengukuran tebal kapsula bowman dilakukan dengan mengukur diameter kapsula bowman kemudian dikurangi diameter glomerulus. Pengukuran diameter tubulus proksimal dilakukan dengan cara memilih tubulus yang bentuknya relatif bulat kemudian diukur secara vertikal dan horizontal dari sisi terluar tubulus ke sisi terluar yang berlawanan. Diameter lumen tubulus proksimal diukur dari epitelium tubulus proksimal secara vertikal dan horizontal.

Data yang diperoleh yaitu rata-rata bobot ginjal, diameter glomerulus tebal kapsula Bowman, diameter tubulus proksimal dan diameter lumen dari kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Data dianalisis dengan menggunakan uji t dengan taraf kepercayaan 5%.

Hasil dan Pembahasan

Hasil analisis uji t bobot ginjal, diameter glomerulus, tebal kapsula Bowman, diameter tubulus proksimal dan diameter lumen antara kelompok kontrol (K) dengan kelompok perlakuan (P) disajikan pada Tabel 1. Rerata bobot ginjal mencit dari masing-masing kelompok perlakuan yaitu kontrol (K) $0,19 \pm 0,43$ dan perlakuan (P) $0,21 \pm 0,03$. Hasil uji t menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun mimba memberikan hasil yang berbeda

tidak bermakna ($p>0,05$) terhadap bobot ginjal antara kelompok kontrol (K) dengan kelompok perlakuan (P). Hal tersebut menunjukkan pemberian ekstrak etanol daun mimba dengan dosis 14 mg/kg BB selama 21 hari masih dapat ditolerir oleh tubuh dan belum mempengaruhi bobot ginjal.

Lazic *et al.* (2020) menyatakan bahwa perubahan bobot organ telah lama digunakan sebagai indikator dari perubahan kimiawi pada organ. Perbandingan bobot organ antara kelompok hewan kontrol dan perlakuan telah digunakan untuk mengevaluasi efek toksik bahan uji. Ginjal sebagai organ ekskresi mempunyai sifat yang rentan terhadap efek toksik dan zat xenobiotik. Koreim (2013) menyatakan bahwa pemberian minyak ekstrak mimba dengan dosis 2 ml tidak menimbulkan efek toksik. Penelitian menunjukkan pemberian ekstrak etanol daun mimba dengan dosis 14 mg/kg BB masih dibawah dosis toksik mimba sehingga tidak mempengaruhi bobot ginjal. Braga *et al.* (2021) menyatakan bahwa dosis toksik ekstrak daun mimba untuk mencit adalah lebih dari 50mg/kbBB.

Hasil uji t mengenai pengaruh pemberian ekstrak etanol daun mimba terhadap diameter glomerulus menunjukkan hasil yang berbeda tidak bermakna ($p>0,05$). Glomerulus merupakan struktur yang menyerupai sebuah bola yang tersusun dari kapiler yang dilapisi oleh sel endotel. Kapiler-kapiler disatukan oleh sel mesangium sedangkan pada permukaan kapiler dilapisi oleh sel endotel khusus yang disebut podosit (Gilbert *et al.*, 2014). Terasaki *et al.* (2020) menyatakan bahwa diameter

glomerulus pada mencit normal adalah sekitar 70 μm . Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rerata diameter glomerulus mencit jantan pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan mendekati ukuran normal glomerulus mencit.

Rerata tebal kapsula Bowman pada kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P) yaitu K (14.88 \pm 4.32) dan P (15.61 \pm 2.34). Hasil uji t menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun mimba memberikan hasil yang berbeda tidak bermakna ($p>0,05$) pada variabel tebal kapsula Bowman kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Sasaki *et al.* (2018) menyatakan bahwa salah satu bentuk kerusakan pada ginjal terlihat adanya penyempitan pada ruang Bowman. Penyempitan ruang Bowman disebabkan terjadinya peradangan glomerulus ataupun proliferasi dari epitel kapsul Bowman. Saat terjadi peningkatan permeabilitas kapiler dan filtrasi pada glomerulus, maka protein plasma dan sel darah merah dapat lolos dari glomerulus sehingga membran filtrasi glomerulus rusak dan terjadi pembengkakan yang dapat mengakibatkan ruang Bowman menyempit. Yang *et al.* (2020) menyatakan bahwa pembesaran glomerulus (*glomerulomegaly*) ditandai dengan meningkatnya volume glomerulus sehingga terjadi penyempitan pada ruang Bowman. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun mimba dengan dosis 14 mg/kg BB masih dalam dosis yang aman bagi ginjal yang ditandai dengan tidak ada penyempitan ruang Bowman dan perbedaan tebal kapsulan Bowman pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Tabel 1. Rerata bobot ginjal, diameter glomerulus, tebal kapsula Bowman, diameter tubulus proksimal, diameter lumen, dan konsumsi air setelah paparan ekstrak etanol daun mimba selama 21 hari

Variabel	K (Kelompok kontrol)	P (Kelompok Perlakuan)
Bobot Ginjal (g)	0.19 ^a \pm 0.43	0.21 ^a \pm 0.03
Diameter Glomerulus (μm)	74.67 ^a \pm 9.75	72.94 ^a \pm 5.07
Tebal Kapsula Bowman (μm)	14.88 ^a \pm 4.32	15.61 ^a \pm 2.34
Diameter Tubulus Proksimal (μm)	55.81 ^a \pm 6.82	55.75 ^a \pm 2.69
Diameter Lumen	23.65 ^a \pm 3.16	22.95 ^a \pm 2.82
Konsumsi Air (ml)	4.97 ^a \pm 1.06	5.25 ^a \pm 0.98

Keterangan: Data disajikan dalam rata-rata (\bar{x}) \pm simpangan baku (SD). Rerata yang diikuti superskrip yang sama pada baris yang sama menunjukkan perbedaan tidak bermakna dengan uji t pada taraf kepercayaan 95%. K; kelompok kontrol dengan bahan uji akuades 0,2 ml/ ekor/hari, P; Kelompok perlakuan dengan bahan uji ekstrak etanol daun mimba 0,2 ml/ekor/hari

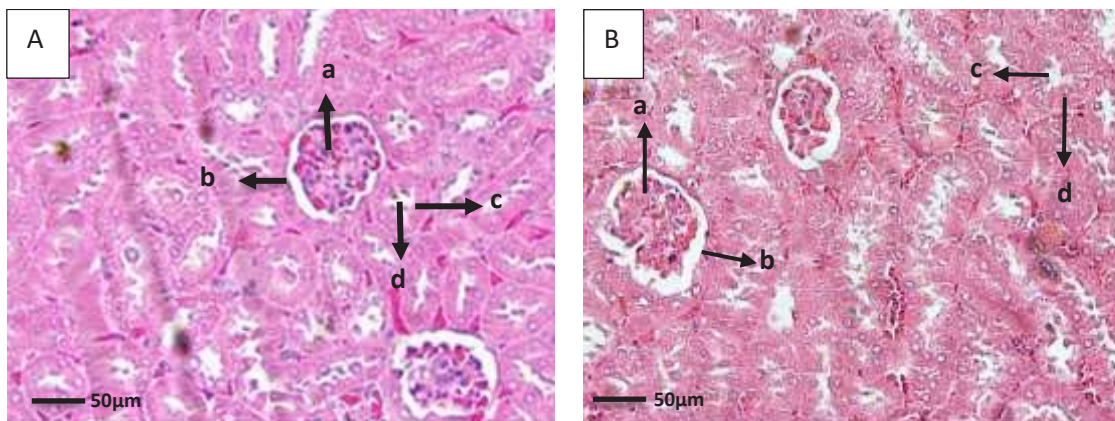
Ukuran diameter tubulus proksimal pada kelompok kontrol (K) berkisar $55,81 \pm 6,82$ dan kelompok perlakuan (P) berkisar $55,75 \pm 2,69$. Hasil uji t menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun mimba memberikan hasil yang berbeda tidak bermakna ($p > 0,05$) pada diameter tubulus proksimal kelompok kontrol dan perlakuan. Kerusakan tubulus proksimal mencit dapat disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya karena tingginya aliran darah menuju ginjal yang menyebabkan berbagai macam obat dan bahan kimia dalam sirkulasi sistemik dikirim ke ginjal dalam jumlah yang besar (Takaori *et al.*, 2016). Gartner and Hiatt (2016) menyatakan bahwa tubulus kontortus proksimal terdapat banyak pada korteks ginjal dengan diameter sekitar $60 \mu\text{m}$ dan panjang sekitar 14 mm. Hasil penelitian menunjukkan tidak ada kerusakan pada tubulus proksimal ditunjukkan dengan diameter tubulus proksimal pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang mendekati ukuran normal. Hal ini diduga karena zat kimia yang terkandung dalam ekstrak etanol mimba dalam jumlah yang sedikit sehingga tidak menimbulkan peningkatan konsentrasi zat kimia yang menimbulkan perbedaan tekanan dan memicu terjadinya osmosis.

Ukuran diameter lumen pada kelompok kontrol (K) berkisar $23,65 \pm 3,16$ dan kelompok perlakuan (P) berkisar $22,95 \pm 2,82$. Hasil uji t menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun mimba memberikan hasil yang berbeda tidak bermakna ($p > 0,05$) pada diameter lumen. Penelitian Kusuma dkk. (2017) menyatakan bahwa rerata diameter lumen tubulus proksimal mencit pada kelompok kontrol adalah 24,4

μm . Hasil penelitian pemberian ekstrak etanol daun mimba pada mencit baik pada kelompok kontrol maupun perlakuan menunjukkan rerata diameter lumen yang tidak berbeda bermakna dan mendekati ukuran diameter normal lumen tubulus proksimal.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun mimba dengan dosis 14 mg/kg BB selama 21 hari secara oral pada mencit jantan tidak menyebabkan penyempitan pada lumen. Takaori *et al.* (2016) menyatakan bahwa tubulus proksimal ginjal dikatakan abnormal apabila terdapat pembengkakan pada sel-sel penyusun epitel, sehingga lumen tubulus proksimal menjadi menyempit bahkan menutup. Zat kimia terlebih dahulu diakumulasi dalam tubulus proksimal sebelum diekskresi melalui urin atau pada saat substansi kimia ini direabsorpsi dari urin maka akan melalui sel epitel tubulus dengan konsentrasi tinggi. Akibat dari proses tersebut zat-zat toksik ini akan terakumulasi di ginjal dan menyebabkan kerusakan bagi ginjal, terutama di tubulus proksimal berupa penyempitan lumen karena pada tubulus proksimal ginjal merupakan tempat terjadinya proses reabsorpsi dan ekskresi dari zat-zat toksik (Kusuma dkk., 2017).

Pengamatan struktur mikroanatomi ginjal mencit pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (Gambar 1) tidak menunjukkan adanya kerusakan. Hal tersebut diduga disebabkan pemberian ekstrak etanol daun mimba dengan dosis 14 mg/kg BB masih aman dikonsumsi. Shi *et al.* (2022) menyatakan bahwa perubahan struktur histologis ginjal ini tentu dipengaruhi oleh jumlah senyawa yang masuk



Gambar 1. Mikroanatomi Ginjal Mencit (pewarnaan H&E, perbesaran 200x), (A) Kelompok Kontrol, (B) Kelompok Perlakuan. Keterangan: (a) glomerulus, (b) kapsula Bowman. (c) tubulus proksimal, (d) lumen

ke dalam tubuh. Efek toksik sangat mungkin muncul apabila pemberiannya dengan dosis yang berlebihan. Gambar struktur mikroanatomi ginjal menciit ditunjukkan pada Gambar 1.

Ekstraksi bahan uji dalam penelitian ini menggunakan pelarut etanol. Utami dan Putri (2020) menyatakan bahwa etanol adalah pelarut dengan indeks polaritas 5,2. Pelarut ini dapat melarutkan semua metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, steroid, dan terpenoid. Ujah *et al.* (2021) menyatakan bahwa daun mimba mengandung saponin, steroid, terpen, tannin, glikosida, alkaloid, flavonoid, fenol dan asam oksalat. Senyawa- tersebut diduga terkandung dalam ekstrak etanol daun mimba yang digunakan sebagai bahan uji dalam penelitian ini. Saponin merupakan senyawa yang menyebabkan apoptosis dan necrosis sel (Assour *et al.*, 2019). Senyawa alkaloid yang berasal dari tanaman berakasi dengan cara berikatan dengan mikrotubulus sehingga pembelahan mitosis tertahan (Bhambhani and Khondare, 2021). Panche *et al.* (2016) menyatakan bahwa flavonoid membantu meregulasi aktivitas selular dan menekan radikal bebas yang menyebabkan stress oksidatif dalam tubuh. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak etanol daun mimba dengan dosis 14mg/kgBB tidak menyebabkan gangguan struktur glomerulus dan tubulus proksimal ginjal sehingga diduga beberapa senyawa dalam bahan uji masih dapat ditolerir oleh jaringan tubuh hewan uji.

Rerata konsumsi air pada kelompok kontrol (K) berkisar $4,97 \pm 1,06$ dan kelompok perlakuan (P) berkisar $5,25 \pm 0,98$. Hasil uji t menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun mimba memberikan hasil yang berbeda tidak bermakna ($p > 0,05$) terhadap konsumsi air. Analisis tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun mimba dengan dosis 14 mg/kg BB dalam jangka waktu 21 hari tidak mempengaruhi metabolisme cairan dalam tubuh. Delima dkk. (2017) menyatakan bahwa perilaku minum merupakan salah satu fungsi ginjal. Keadaan dehidrasi akibat kurang minum akan memperberat kerja ginjal terlebih jika ditambah dengan konsumsi minuman atau obat yang bersifat diuretik. Tandi dkk. (2017) menyatakan bahwa senyawa flavonoid yang terkandung dalam tanaman mimba dapat memberikan

efek yang potensial sebagai antioksidan dan diuretikum sehingga mampu meningkatkan laju filtrasi glomerulus. Peningkatan laju filtrasi glomerulus menyebabkan zat nefrotoksik yang masuk ke dalam ginjal akan dikeluarkan secara cepat akibat aktivitas urinisasi yang meningkat. Penelitian ini tidak menunjukkan adanya peningkatan urinasi ditandai dengan konsumsi air yang tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$) antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Keseimbangan cairan merupakan bagian dari kontrol tubuh untuk mempertahankan homeostasis. Homeostasis cairan dapat dipertahankan oleh tubuh dengan cara mengatur cairan ekstraselular, yang selanjutnya akan mempengaruhi cairan intraselular. Dua faktor yang diatur tubuh untuk mempertahankan keseimbangan cairan, yaitu volume dan osmolaritas cairan ekstraselular (Gilbert *et al.*, 2014). Pengaturan osmolaritas dilakukan dengan cara mengatur air. Peningkatan osmolaritas cairan ekstraselular akan dideteksi oleh osmoreseptor di hipotalamus, yang kemudian akan merangsang neuron hipotalamus sehingga menimbulkan rasa haus dan akan meningkatkan sekresi hormon vasopressin (Yanga *et al.*, 2020). Rasa haus yang timbul akan menyebabkan lebih banyak minum air, sehingga akan menyebabkan penurunan osmolaritas cairan ekstraselular. Penurunan osmolaritas ekstraselular juga dilakukan oleh hormon vasopressin (Barret *et al.*, 2012). Hormon vasopresin akan menyebabkan protein aquaporin (AQP) menempatkan dirinya di membran sel tubulus koligentes, sehingga permeabilitas membran terhadap air meningkat (Terasaki *et al.*, 2020). Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat perbedaan konsumsi air yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Hal ini diduga karena kandungan kimia pada ekstrak etanol daun mimba tidak menimbulkan perbedaan osmolaritas cairan tubuh sehingga tidak menimbulkan gangguan metabolisme.

Kesimpulan

Hasil dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun mimba selama 21 hari dengan dosis 14 mg/kg BB masih aman terhadap struktur histologi ginjal menciit jantan.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Dekan Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro yang telah memberikan dana melalui Surat Penugasan Kegiatan Penelitian Sumber Dana Selain APBN dengan Nomor Kontrak:1754 I / UN7.5.8/PG/2018 pada tahun 2018.

Daftar Pustaka

- Adinata, M.O., Sudira, I.W. dan Berata, I.K. (2013). Efek Ekstrak Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit (Mus musculus) Jantan. *Buletin Veteriner Udayana*. 4(2):55-62.
- Alzohairy, M.A. (2016). Review Article: Therapeutics Role of *Azadirachta indica* (Neem) and Their Active Constituents in Diseases Prevention and Treatment. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Volume 2016, Article ID 7382506, 11 page
- Ashafa, A. O. T., Orekayo, L.O., and Yakubu, M.T. (2012). Toxicity Profile of Ethanolic Extract of *Azadirachta indica* Stem Bark in Male Wistar rats. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2(10): 811-817.
- Ashour, A.S., El Aziz, M.M.A., Melad, A.S.G. (2019). A Review on Saponins from Medicinal Plants: Chemistry, Isolation, and Determination. *J. Nanomed Res*. 8(1):282-288.
- Barret, K.E, Barman, S.M., Boitano S., Brooks, H.L. (2012). *Ganong's Review of Medical Physiology 24th Ed*. Mc Graw Hill, Singapore.
- Bhambhani, S., and Kondhare, K.R. (2021). Diversity in Chemical Structures and Biological Properties of Plant Alkaloids. *Molecules*. 26(11): 3374-3381.
- Braga, T.M., Rocha, L., Yan Chung, T., Oliveira, R.F., Pinho, I.C., Oliveira, A.I., Morgado, J., and Cruzl, A. (2021). *Azadirachta indica* A. Juss. In Vivo Toxicity-An Updated Review. *Molecules*. 26(2): 252-273.
- Delima, E. Tjitra, L., Tana, F.S., Halim, L., Ghani, H., Siswoyo, S., Idaiani, L., Andayasari, L., Widowati, R., Gitawati, M., Sihombing, I.T., Sintawati, T.A., Jovina, M., Karyana, P., Nugroho, D., Wibisono, J., Sarwono, H., Agustin, Suhardjono, S., Sastroasmoro dan Siswanto. (2017). Faktor Risiko Penyakit Ginjal Kronik: Studi Kasus Kontrol di Empat Rumah Sakit di Jakarta Tahun 2014. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 45(1): 17 - 26.
- Gartner J. P. and Hiatt, J.L. (2016). *Color Atlas of Histology 6th Edition*. Elsevier Saunders, Philadelphia.
- Gilbert, S. J., Weiner, D.E., Gipson, D.S., Parazella, M.A. and Tonelli, T. (2014). *National Kidney Foundation's Primer on Kidney Disease Sixth Edition*. Elsevier Saunders, Philadelphia.
- Gupta, A., Ansari, S., Gupta, S., Narwani, M., Gupta, M., and Singh, M. (2019). Therapeutics Role of Neem and Its Bioactive Contituents in Desease Prevention and Treatment. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 8(3): 680-691.
- Hashmat, I., Azzad, H. and Ahmed, A. (2012). Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) A Nature's Drugstore: An overview. *International Research Journal of Biological Sciences*. 1(6): 76-79.
- Jha, V. (2010). Herbal Medicines and Chronic Kidney Disease. *Nephrology*. 15:10-17.
- Kediso, T.E., Tolesa, T., Getachew, F., Makonnen, E. and Seifu, D. (2021). Research Article Effect of 70% Ethanol Extract and its Solvent Fractions of *Artemisia afra* (Jacq. Ex Willd.) against Pentylenetetrazole Induced Seizure in Mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Volume 2021, Article ID 6690965, 6 pages.
- Koreim, K.M.M. (2013). Revies on Pharmacological and Toxicological Effects of Oleum *Azadirachti* Oil. *Asia Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 3(10):834-840.

- Kusuma, D., Dewi, A.K. dan Hermanto, B. (2017). Pengaruh Pemberian Triheksifenidil Dosis Bertingkat Per Oral terhadap Diameter Lumen Tubulus Ginjal *Mus musculus*. *Ejki*. 5(3): 151-154.
- Lasic, S.E., Smenova, E., and Wiliams, D.P. (2020). Determining Organ Weight Toxicity with Bayesian Causal Models: Improving on the Analysis of Relative Organ Weights. *Scientific Reports*. 10:1-12.
- Mayori, R., Marusin, N., dan Tjong., D.H. (2013). Pengaruh Pemberian Rhodamin B Terhadap Struktur Histologis Ginjal Mencit Putih (*Mus musculus* L.). *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 2(1):43-49.
- Panche, A.N., Diwan, A.D. and Chandra, S.R. (2016). Review Article: Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*. 5(47):1-15.
- Sasaki, T., Tsuboil, N., Haruhara, K., Okabayashi, Y., Kanzaki, G., Koike, K., Kobayashi, A., Yamamoto, I., Ogura, M., Yokoo, T. (2018). Bowman Capsule Volume and Related Factors in Adults with Normal Renal Function. *Kidney International Reports*. 3:314–320.
- Seriana, I., Akmal, M., Darusman, S. Wahyuni. (2019). Neem leaves extract (*Azadirachta indica* A. Juss) on male reproductive system: a mini-review. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci*. 399012106.
- Shi, X., Chang, M., Zhao, M., Shi, Y., Zhang, Y. (2022). Traditional Chinese Medicine Compounds Ameliorating Glomerular Diseases via Autophagy: A Mechanism Review. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 156: 1-14.
- Silverthron, D.U. (2010). *Human Physiology an Integrated Approach 5th Ed*. Pearson, San Fransisco.
- Sitasiwi, A. Janika, Isdadiyanto, S., dan Mardiaty, S.M. (2017). Kadar Hemoglobin dan Jumlah Eritrosit Mencit (*Mus musculus*) Jantan setelah Perlakuan dengan Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica*). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 2(2): 161-167.
- Suhita, N. L. P. R., Sudira, I.W. dan Winaya, I.O. (2013). Histopatologi Ginjal Tikus Putih Akibat Pemberian Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) Peroral. *Buletin Veteriner Udayana*. 5(1): 63-69.
- Takaori, K., Nakamura, J., Yamamoto, S., Nakata, H., Sato, Y., Takase, M., Nameta, M., Yamamoto, T., Economide, A.N., Kohno, E., Haga, H., Sharma, K., and Yanagita, M. Nakata, H. (2016). Severity and Frequency of Proximal Tubule Injury Determines Renal Prognosis. *J. Am. Soc. Nephrol*. 27(8): 2393–2406.
- Tandi, J., Roem, M. dan Yuliet. (2017). Efek Nefrotoksik Kombinasi Daun Gedi Merah dan Daun Kumis Kucing pada Tikus Induksi Etilen Glikol. *J. Trop. Pharm. Chem*. 4(1): 27-34.
- Terasaki, M., Brunson, J.C., and Sardi, J. (2020). Analysis of the Three Dimensional Structure of the Kidney Glomerulus Capillary Network. *Scientific Reports*. 10:20334.1-8
- Ujah, I.L., Nude, C.A., Ani, O.N., Alozieuwa, U.B., Okpako, I.O., and Okwor, A.E. 2021. Phytochemicals of Neem Plant (*Azadirachta indica*) Explains Its Use in Traditional Medicine and Pest Control. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*. 14(2): 165-171.
- Utami, L.A. and Putri, D.H. (2020). Article The Effect of Ethanol Solvent Concentration on Antimicrobial Activities the Extract of Andalas Endophytic Bacteria (*Morus macroura* Miq.) Fermentation Product. *Eksakta: Berkala Ilmiah Bidang MIPA*. 21(01):01-06.
- Yanga, S., Caoa, C., Denga, T., and Zhoua, Z. (2020). Obesity-Related Glomerulopathy: A Latent Change in Obesity Requiring More Attention. *Kidney Blood Press Res*. 45:510–522.