

**Pengaruh Paparan Sediaan Nanopartikel Ekstrak Etanol
Daun Mimba terhadap Struktur dan Fungsi Ren
Tikus Sprague Dawley Jantan**

*The Effect of Exposure to Neem Leaf Ethanol Extract Nanoparticle
Preparation on the Structure and Function of
Mal Sprague Dawley Rat Kidneys*

Ulfah Nuraini^{1*}, Agung Janika Sitaswi², Sri Isdadiyanto³

¹Laboratorium Struktur Dan Fungsi Hewan Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika,
Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia

²Laboratorium Struktur dan Fungsi Hewan Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika,
Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia

³ Laboratorium Struktur dan Fungsi Hewan Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika,
Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia

Email: agssiwi@yahoo.co.id

Naskah diterima: 1 Januari 2025, direvisi: 22 Januari 2025, disetujui: 30 Maret 2025

Abstract

Technological advancements in the development of herbal plants for medicinal purposes continue to grow in Indonesia. People consider herbal medicine to be safer, more practical, and more affordable compared to synthetic drugs, and the desired herbal ingredients are also easily accessible. Neem plants (*Azadirachta indica* A.Juss) are herbal plants that have high antioxidant content and have the potential as medicine. The obstacle in oral administration is the low bioavailability of drugs and the distribution of active compounds in herbal plants. One way to overcome this problem is by packaging herbal plant extracts into smaller particle forms. This study used 32 rats aged 2 months which were divided into 4 treatments, each treatment had 8 replications, namely K-, K+, P1 and P2. The results showed that the administration of nanoparticle-chitosan preparations of ethanol extract of neem leaves 1; 0.5 and 1; 1 had no significant effect on glomerular diameter, Bowman's capsule diameter, kidney weight, creatinine levels and MDA levels $p > 0.05$ it can be concluded that the administration of nanoparticle-chitosan preparations of ethanol extract of neem leaves has no significant effect on the kidneys so that it can deliver the Bioactive compounds of neem leaves to the target organ, namely the kidneys and can minimize histological damage and kidney function of male white rats with the presence of antioxidant compounds in neem leaves.

Keywords: antioxidant; *azadirachta indica*; kidney; glomerular, nanoparticle

Abstrak

Kemajuan teknologi dalam pengembangan tanaman herbal untuk pengobatan terus meningkat di Indonesia. Masyarakat menilai obat herbal lebih aman, praktis, dan murah dibandingkan dengan obat sintesis, serta bahan herbal yang diinginkan mudah didapatkan. Tanaman mimba (*Azadirachta indica* A.Juss) merupakan tanaman herbal yang memiliki kandungan antioksidan tinggi dan berpotensi sebagai obat. Salah satu kendala pemberian secara oral adalah rendahnya bioavailabilitas dan distribusi senyawa aktif pada obat herbal. Salah satu cara untuk mengatasi masalah ini adalah dengan mengemas ekstrak tanaman herbal ke dalam bentuk partikel yang lebih kecil. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh paparan terhadap struktur histologi dan fungsi ginjal tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* L) melalui pemberian sediaan nanopartikel-kitosan ekstrak etanol

daun mimba. Penelitian ini menggunakan 32 ekor tikus berusia 2 bulan yang dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan, masing-masing dengan 8 ulangan: K-, K+, P1 dan P2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian sediaan nanopartikel-kitosan ekstrak etanol daun mimba pada rasio 1:0,5 dan 1:1 tidak berpengaruh signifikan terhadap diameter glomerulus, diameter kapsula Bowman, bobot ginjal, kadar kreatinin, dan kadar MDA ($p>0,05$). Disimpulkan bahwa pemberian sediaan nanopartikel-kitosan ekstrak etanol daun mimba tidak berpengaruh signifikan pada ginjal. Sediaan ini dapat mengantarkan senyawa bioaktif daun mimba ke organ target, yaitu ginjal, serta meminimalkan kerusakan histologis dan fungsional ginjal pada tikus putih jantan berkat adanya senyawa antioksidan pada daun mimba.

Kata Kunci: antioksidan; *Azadirachta indica*; ginjal; glomerulus; nanopartikel

Pendahuluan

Indonesia memiliki sumber daya alam yang berlimpah serta keanekaragaman flora dan fauna. Keragaman tanaman di Indonesia terdapat sekitar 30.000 jenis tanaman dan 7000 diantaranya memiliki khasiat obat (Jumiarni, 2017). Seiring berkembangnya zaman dan pesatnya kemajuan teknologi, masyarakat saat ini cenderung menerapkan gaya hidup “*back to nature*” yang menyebabkan peningkatan penggunaan obat tradisional serta obat herbal. Salah satu penggunaan tanaman sebagai pengobatan adalah Mimba (*Azadirachta indica*) karena dinilai mudah ditemukan dan memiliki banyak manfaat.

Pohon mimba dapat tumbuh dengan baik pada area tropis maupun sub tropis. Di Indonesia mimba dapat ditemukan di tempat yang beriklim kering seperti di pulau Jawa, Madura, Bali dan Nusa tenggara. Pohon mimba termasuk jenis tumbuhan liar yang tumbuh di hutan dan di tempat dengan tanah agak tandus dan kering, dan sering ditanam di tepi jalan sebagai pohon perindang (Pramita, 2020).

Daun Mimba (*Azadirachta indica*) merupakan tanaman yang mempunyai banyak manfaat karena mengandung senyawa bioaktif sehingga dapat dijadikan pengobatan herbal. Kandungan yang dimiliki daun mimba adalah beberapa flavonoid, tannin, alkaloid, steroid, fenol dan saponin yang merupakan sumber antioksidan bagi tubuh (Martien *et al.*, 2014). Khasiat tanaman mimba yang semakin meningkat bukan berarti tanaman mimba tidak memiliki efek samping hal ini disebabkan oleh kandungan daun mimba yang memiliki senyawa toksik yaitu azadirachtin yang dapat menghambat metabolisme dan sintesis protein (Javandira, 2016). Antioksidan merupakan

senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi lipid. Kurniasari & Atun (2017), mengatakan bahwa antioksidan digunakan oleh tubuh sebagai penangkal radikal bebas. Antioksidan dalam menstabilkan radikal bebas dengan cara melengkapi elektron yang dimiliki oleh radikal bebas, serta menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas. Berbagai tipe antioksidan dapat bekerja sama dalam melindungi sel normal dan dapat menetralkan radikal bebas (Supriyanto *et al.*, 2017).

Ginjal merupakan organ utama ekskresi obat. Urin merupakan jalur utama ekskresi bahan toksikan, akibatnya ginjal mempunyai volume aliran darah yang tinggi untuk mengkonsentrasikan toksikan. Melalui urin, ginjal mengekskresikan bahan-bahan yang tidak lagi dibutuhkan oleh tubuh. Fungsi vital ginjal sebagai pengatur volume dan komposisi kimia darah dan lingkungan dalam tubuh dengan mengekskresikan zat terlarut dan air secara selektif dengan reabsorpsi sejumlah zat terlarut dan air dalam jumlah yang sesuai di sepanjang tubulus ginjal (Tana, *et al.*, 2022).

Penelitian penggunaan Mimba sebagai bahan pengobatan menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus* L) berkelamin jantan dengan galur Sprague Dawley sebagai bahan uji untuk dapat dilihat pada struktur dan fungsi pada ginjal sebagai organ ekskresi obat. Keunggulan dari tikus putih Sprague Dawley antara lain tubuhnya kecil sehingga mudah dalam penanganan dan pemeliharaannya, sehat dan bersih, kemampuan reproduksi tinggi dengan masa kebuntingan singkat penggunaan tikus sebagai hewan percobaan juga didasari atas pertimbangan ekonomis dan kemampuan hidup tikus hanya 2-3 tahun dengan lama reproduksi 1 tahun (Nugroho

et al., 2018). Menurut (Fahriansyah *et al.*, 2021), pemberian ekstrak etanol daun mimba selama 27 hari penelitian menyebabkan pembengkakan glomerulus disertai penyempitan dari ruang kapsula bowman diduga dikarenakan hipertrofi glomerulus yang disebabkan oleh keadaan hiperglikemia. Pelebaran dari ruang kapsula bowman diduga dikarenakan oleh banyaknya filtrat yang masuk ke dalam ruang kapsula dari glomerulus dikarenakan terjadi hiperfiltrasi. Ketika terdapat kadar gula darah yang berlebih.

Penelitian penggunaan mimba sebagai bahan pengobatan herbal dilakukan untuk melihat respon tubuh setelah dilakukan pemberian, namun dari hasil penelitian sebelumnya, ekstrak etanol daun mimba dinilai dapat merusak organ yang dituju. Mimba perlu dialihkan melalui sistem penghantar nanopartikel karena ukurannya sangat kecil sehingga tepat menuju organ target. Pengemasan dalam bentuk nanokitosan juga menyebabkan senyawa aktif dalam ekstrak dapat terlindung dari kerusakan fisik atau kimia (Luthfiyana *et al.*, 2020). Sifat kitosan yang tidak toksik dapat menghambat senyawa Azadirachtin yang toksik pada mimba dengan agen silang natrium natrium tri-poli-fosfat (NaTPP) dalam formulasi nanopartikel (Kafshgari *et al.*, 2015). Nanopartikel merupakan partikel berukuran nano yang dapat diaplikasikan untuk menghantarkan obat dengan molekul kecil atau makromolekul besar dengan cara memerangkap atau mengenkapsulasi molekul obat ke dalam suatu polimer. Polimer yang digunakan untuk membentuk nanopartikel dapat berupa polimer sintetik dan alami (Patilaya *et al.*, 2015).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dilakukan penelitian tentang pengaruh paparan sediaan nanopartikel ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) terhadap struktur dan fungsi ginjal tikus (*Rattus norvegicus*) Sprague Dawley jantan.

Materi dan Metode

Etika Penelitian

Permohonan izin penelitian pemakaian hewan coba telah mendapat persetujuan dari Komite Etik Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Diponegoro yang menyatakan

prosedur penelitian telah sesuai dengan prinsip penggunaan dan asas kesejahteraan hewan sesuai dengan *Ethical Clearance* yang diterbitkan No. 29/EC/H/FK-UNDIP/III/2021.

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Dasar dan kandang hewan uji Biologi Struktur dan Fungsi Hewan Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro, Semarang. Pembuatan ekstrak etanol daun mimba dan nanopartikel dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro. Pembuatan sediaan histologis dilakukan di Lab. Kesehatan Hewan Semarang. Pengukuran variabel fungsi ginjal dilakukan di Lab. Kesehatan Hewan Semarang. Waktu pelaksanaan penelitian yaitu 8 bulan, dimulai dari bulan Maret sampai dengan Oktober 2021.

Objek Penelitian

Hewan uji berupa 32 ekor tikus Sprague Dawley jantan dengan bobot berkisar 200 g yang diperoleh dari Unit Pemeliharaan Hewan Penelitian Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan kandang pemeliharaan dan perlengkapannya, tempat pakan, tempat minum, sarung tangan, neraca analitik, timbangan digital, blender, jarum gavage, spuit 1 mL dan 3 mL, gelas ukur, seperangkat alat bedah, seperangkat alat pembuatan sediaan nanopartikel. Seperangkat alat pembuatan sediaan histologis, seperangkat alat pengukuran kadar kreatinin dan kadar MDA.

Bahan yang digunakan ekstrak etanol 70% daun mimba, seperangkat bahan untuk pembuatan sediaan nanopartikel dengan pelarut kitosan, akuades, sekam padi, air minum, pakan tikus (berupa pakan ayam hi-provite 594 produksi Pokhpand Indonesia), larutan garam fisiologis (NaCl), larutan PBS. Seperangkat bahan pembuatan sediaan histologis. Seperangkat bahan pengukuran fungsi ginjal.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan 4

kelompok perlakuan dan 8 kali pengulangan, Paparan bahan uji diberikan secara oral selama 28 hari. Pemberian perlakuan pada masing-masing perlakuan, yaitu:

K-: Kontrol normal (tikus diberi akuades secara oral 2 ml/ekor/hari)

K+: Kontrol positif (tikus diberi suspensi kitosan 2 ml/ekor/hari)

P1: Perlakuan 1 (tikus diberi nanopartikel ekstrak daun mimba dalam 2ml kitosan/ekor/hari dengan perbandingan 1: 0,5)

P2: Perlakuan 2 (tikus diberi nanopartikel ekstrak daun mimba 2ml kitosan/ekor/hari dengan perbandingan 1:1)

Variabel Penelitian

Variabel pada penelitian meliputi struktur dan fungsi ren tikus putih Sprague Dawley. Struktur ren berupa bobot ginjal, diameter glomerulus dan tebal kapsula bowman sedangkan fungsi ren yaitu kadar kreatinin dan kadar MDA.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Suspensi Nanopartikel Kitosan - Ekstrak Etanol Daun Mimba

Ekstrak kental dibuat menjadi ekstrak kering dengan menambahkan laktosa dengan perbandingan 1 bagian ekstrak kental dan 2 bagian laktosa. Pembuatan ekstrak kering dilakukan dengan cara campuran ekstrak kental dan laktosa selanjutnya sebanyak 10 gram dilarutkan dalam N-hexane 200mL. Campuran diuapkan pada suhu 80 0C, selama 1-2 jam. Pembuatan sediaan nanopartikel dilakukan dengan melarutkan serbuk ekstrak etanol ke dalam NaTPP, dihomogenisasi dengan stirer pada kecepatan 1200rpm dengan suhu 60 °C selama 5 menit kemudian ultrasonifikasi pada suhu 30°C selama 30 menit. Selanjutnya ditambahkan dengan cara menambahkan larutan kitosan dengan cara meneteskan sambil dilakukan homogenisasi menggunakan stirer. Perbandingan kitosan: NaTPP adalah 5:1 (v/v). Misal 80mL (serbuk+NaTPP) diteteskan pada 400mL kitosan sehingga volume akhir 480mL.

Pemberian perlakuan

Pemberian Sediaan Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Mimba diberikan dengan cara

sonde oral dengan dosis pada masing-masing perlakuan. Pemberian perlakuan bahan uji dilakukan selama 28 hari (4 minggu). Pengukuran bobot badan hewan uji dilakukan tiap minggu.

Pengambilan sampel darah

Pengambilan sampel darah dilakukan setelah pemberian perlakuan berakhir. Sebelum darah diambil, tikus di anestesi dengan chloroform. Sampel darah dikoleksi dari jantung tikus kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang berisi EDTA (ethylene diamine tetra acetic acid). Darah dihomogenkan kemudian plasma dipisahkan dengan cara di sentrifugasi kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Plasma yang diperoleh selanjutnya dianalisis kandungan kadar kreatinin dan kadar MDA.

Setelah perlakuan selama 28 hari, dilakukan pengambilan darah melalui ginjal untuk diperiksa kadar Kreatinin dan MDA. Pemeriksaan kadar kreatinin serum menggunakan metode Jaffe. Metode ini menggunakan 2 jenis reagen yaitu sodium hidroksida (R1) dan asam pikrat (R2). Kedua reagen tersebut dibuat menjadi monoreagen dengan rumus $4R1 + 1R2$. Serum terlebih dahulu diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Kemudian 50µL serum diambil dan diletakkan ke dalam kuvet lalu ditambahkan dengan 1000 µL reagen. Reagen tersebut direaksikan dengan kreatinin dalam sampel yang akan membentuk perubahan warna. Perubahan warna ini dibaca dengan panjang gelombang 492 nm. Kadar kreatinin dianalisis dengan Kit Randox dan pembacaan dilakukan menggunakan Spektrofotometer UV/Vis.

Pengujian kadar MDA serum menggunakan metode *thiobarbituric acid* (TBA). Jaringan ginjal dengan berat $\pm 0,5$ g dari setiap kelompok yang telah dicairkan dilakukan pembuatan homogenat dengan sentrifus pada 4000 rpm selama 10 menit. Homogenat sebanyak 0,5 ml digunakan untuk pengukuran kadar MDA dengan metode TBA. Panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer UV-Vis sebesar 532 nm digunakan dalam pengukuran kadar MDA homogenate jaringan ginjal dan serum darah.

Pembuatan preparat

Pembuatan preparat histologis organ ren dilakukan dengan metode parafin dan pewarna hematoxilin-eosin.

Pengamatan mikroskopis

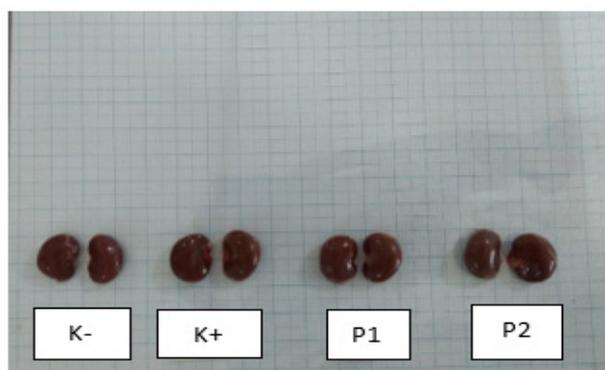
Pengamatan mikroskopis preparat ren dilaksanakan di Laboratorium Biologi Dasar Universitas Diponegoro. Pengamatan ini menggunakan mikroskop cahaya dan fotomikrograf untuk pengukuran diameter glomerulus dan diameter kapsula bowman.

Analisa Data

Data yang bersifat numerik dianalisa dengan One way ANOVA pada taraf kepercayaan 95% menggunakan software SPSS versi 24. Jika hasil analisa data yang menunjukkan perbedaan yang signifikan, dilanjutkan dengan uji Duncan dengan taraf kepercayaan 95% (nilai $p < 0.05$). Data pengamatan Histologi dianalisa secara deskriptif.

Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan hasil pengamatan secara makroskopis dapat dilihat bahwa ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus* L) pada hewan uji kelompok kontrol normal dan perlakuan menunjukkan perbedaan warna. Hasil pengamatan menunjukkan terjadi peningkatan gradasi warna kelompok P2 lebih merah kecokelatan dari kelompok K- dan K+ dan P2 karena seiring peningkatan dosis ekstrak etanol daun mimba terhadap nanokitosan. Perbedaan warna kemungkinan disebabkan oleh ginjal mengeluarkan vasopressor (renin) yang mengakibatkan tekanan darah meningkat karena adanya hipervolemia. Kondisi hipervolemia menyebabkan ginjal mengandung banyak cairan sehingga diduga menyebabkan perbedaan warna organ tersebut. Hipervolemia adalah suatu keadaan atau terjadinya peningkatan volume cairan ekstrasel khususnya intravascular melebihi kemampuan tubuh mengeluarkan air melalui ginjal (Yuniarti *et al.*, 2015). Perbandingan morfologi ginjal *Rattus norvegicus* L setelah pemberian bahan uji selama 28 hari dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Keterangan : K- = Kontrol Normal (tikus normal diberi aquades 2 mL, K+ = Kontrol positif tikus normal diberi larutan NaTTP dan kitosan 2 mL, P1 = tikus normal diberi nanopartikel-kitosan dan ekstrak etanol daun mimba 1:0.5, P2 = tikus normal diberi nanopartikel-kitosan dan ekstrak etanol daun mimba 1:1

Pengaruh pemberian sediaan nanokitosan ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A.Juss) terhadap diameter glomerulus, diameter kapsula bowman dan bobot ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) di tunjukkan pada Tabel 1. Hasil analisis ANOVA yang menunjukkan pemberian sediaan nanopartikel ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) memberikan pengaruh tidak nyata terhadap Bobot ginjal ($P > 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian sediaan nanopartikel ekstrak etanol daun mimba selama 28 hari tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap perubahan bobot ginjal di semua kelompok perlakuan dengan rerata bobot ginjal tikus dari masing-masing kelompok perlakuan. P1 adalah bobot ginjal yang paling tinggi. K-, K+ dan P2 memiliki rata-rata bobot ginjal yang lebih rendah jika dibandingkan P1 dengan perlakuan diberi nanopartikel-kitosan dan ekstrak etanol daun mimba 1:0.5. Hal ini menunjukkan bahwa bobot ginjal dapat dijadikan parameter adanya perubahan fungsi pada ginjal. Perubahan bobot ginjal berkaitan dengan berbagai komponen seluler yang berperan dalam proses ekskresi dan eliminasi metabolit tubuh. Perubahan bobot ginjal disebabkan oleh kerusakan komponen seluler yang berdampak pada perubahan fungsi ginjal (Anindita, 2019).

Hasil uji ANOVA yang menunjukkan pemberian sediaan nanokitosan ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) memberikan pengaruh tidak nyata

Tabel 1. Pengaruh pemberian sediaan nanopartikel-kitosan ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* a. Juss) terhadap bobot ginjal, diameter glomerulus dan diameter kapsula bowman tikus putih jantan (*Rattus noervegicus* L) selama 28 hari.

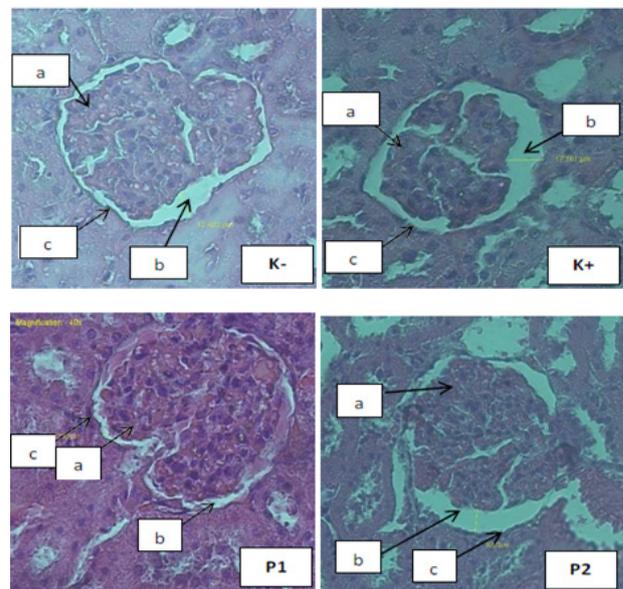
Perlakuan	Variabel		
	Bobot Ginjal	Diameter glomerulus (µm)	Tebal Kapsula Bowman (µm)
K-	1.605 ± 0.177	72.457 ± 2.705	10.118 ± 2.171
K+	1.617 ± 0.151	73.119 ± 5.547	9.951 ± 1.203
P1	1.637 ± 0.546	70.109 ± 3.483	10.030 ± 1.504
P2	1.582 ± 0.109	73.411 ± 3.646	9.455 ± 2.776

Keterangan : K- = Kontrol Normal (tikus normal diberi aquades 2 mL, K+ = Kontrol positif tikus normal diberi larutan NaTPP dan kitosan 2 mL, P1 = tikus normal diberi nanopartikel-kitosan dan ekstrak etanol daun mimba 1:0,5, P2 = tikus normal diberi nanopartikel-kitosan dan ekstrak etanol daun mimba 1:1

terhadap diameter glomerulus ($P > 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian sediaan nanokitosan ekstrak etanol daun mimba selama 28 hari tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap ketersediaan energi pada uji di semua kelompok perlakuan. Perlakuan P2 dengan dosis 1:1 memperlihatkan ukuran glomerulus paling besar dibandingkan perlakuan lainnya mengalami pembengkakan glomerulus serta penyempitan ruang kapsula bowman dengan nilai diameter glomerulus 73.411 ± 3.646 dan ruang kapsula bowman 9.455 ± 2.776 .

Penyempitan ruang kapsula bowman menurut Wardani (2012) disebutkan bahwa penyempitan jarak antara kapsula bowman dengan glomerulus dapat disebabkan oleh pembesaran glomerulus atau karena penyempitan dari kapsula bowman itu sendiri. Peningkatan volume glomerulus menandakan adanya perbesaran glomerulus (*glomerulomegaly*) yang dapat mengakibatkan penyempitan terhadap lebar ruang kapsula bowman. Kerusakan yang ditemukan berupa inti mengalami piknosis. Epitelium pars parietalis sudah mengalami penyempitan. Adanya perubahan yang terjadi pada struktur ginjal terutama pada bagian sel glomerulus diakibatkan oleh bagian tersebut sering terpapar zat-zat maupun bahan asing yang masuk kedalam tubuh. Tresnati *et al.*, (2007), menyatakan bahwa fungsi penyaringan oleh ginjal dimulai dari glomerulus yakni pembentukan ultrafilter dari plasma, selanjutnya filtrat akan masuk kedalam kapsula bowman

dan menuju lumen tubulus. Sulistyowati (2010), menyatakan bahwa glomerulus yang normal ditandai dengan kapsula bowman melingkupi secara keseluruhan dan tampak seperti mangkuk. Glomerulus normal memiliki bentuk polihedral, inti bulat berada didalam sel, sitoplasma yang ada didalam sel tampak jernih serta bagian epitelium pars parietalis masih terlihat jelas. Hasil ini berbeda dengan penelitian oleh



Gambar 2. Struktur Histologi ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). Pewarnaan Hematoxylin-Eosin. Perbesaran 400x. K- = Kontrol normal (tikus normal diberi aquades), K+ = Kontrol positif (tikus diberi NaTPP-kitosan), P1 = Perlakuan (tikus normal diberi NaTPP-kitosan dan ekstrak dengan perbandingan 1:0,5), P2 = Perlakuan (tikus normal diberi NaTPP-kitosan dan ekstrak dengan perbandingan 1:1). Keterangan: a: Glomerulus, b: Ruang Bowman, c: Epitelium pars parietalis.

Tabel 2. Pengaruh pemberian sediaan nanopartikel-kitosan ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* a. Juss) pada kadar kreatinin dan kadar MDA tikus putih jantan (*Rattus noervegicus* L) selama 28 hari.

Perlakuan	Variabel	
	Kadar Kreatinin	Kadar MDA
K-	1.011 ± 0.052	2.257 ± 0.213
K+	1.040 ± 0.023	2.185 ± 0.155
P1	1.060 ± 0.046	2.237 ± 0.161
P2	1.075 ± 0.089	2.052 ± 0.215

Keterangan : K- = Kontrol normal (tikus normal diberi aquades), K+ =Kontrol positif (tikus diberi NaTPP-kitosan), P1 = Perlakuan (tikus normal diberi NaTPPkitosan dan ekstrak dengan perbandingan 1;0,5), P2 = Perlakuan (tikus normal diberi NaTPP-kitosan dan ekstrak dengan perbandingan 1:1)

Septiva (2019) menyatakan bahwa pemberian ekstrak etanol daun mimba memberikan hasil yang berbeda bermakna terhadap diameter glomerulus ginjal mencit. Penambahan diameter glomerulus disebabkan karena adaptasi seluler yang diakibatkan oleh pemberian ekstrak etanol daun mimba Mayori (2014), menyatakan bahwa adaptasi sel berupa perbesaran ukuran sel disebabkan oleh peningkatan beban kerja suatu sel. Histologi glomerulus, kapsula bowman dan Epitelium pars parietalis dapat dilihat pada Gambar 2.

Berdasarkan tabel 2, kadar terendah kreatinin serum adalah 1.011 mg/dL dan kadar tertinggi, yaitu 1,060 mg/dL. Kadar kreatinin serum normal tikus adalah 0,578-1,28 mg/dL sehingga kadar kreatinin yang dihasilkan masih dalam batas aman. Uji statistik menunjukkan bahwa $p > 0,05$ peningkatan kadar kreatinin pada perlakuan P2 tidak berbeda signifikan dengan perlakuan kelompok K-, K+ dan P1 namun tidak menunjukkan gangguan fungsi ginjal. Hal ini terjadi karena penurunan fungsi ginjal sebagai bagian dari dinamika fisiologis namun flavonoid yang terkandung dalam ekstrak mimba sebagai antioksidan mampu mengembalikan fungsi ginjal tersebut sehingga kadar kreatinin kembali pada kisaran normal. Kreatinin adalah produk limbah dalam darah yang berasal dari aktivitas otot. Produk limbah ini biasanya dibuang dari darah melalui ginjal, tapi ketika fungsi ginjal melambat, tingkat kreatinin akan meningkat. Biasanya hasil pemeriksaan serum/darah kreatinin digunakan untuk menghitung GFR. Kreatinin merupakan indikator kuat bagi fungsi ginjal, peningkatan kadar kreatinin serum dua kali lipat dari serum

normal menunjukkan penurunan fungsi ginjal sebanyak 50% (Ivanovna, 2014).

Uji ANOVA dilakukan untuk melihat signifikansi kadar MDA pada masing-masing kelompok. Berdasarkan hasil statistik menunjukan nilai $p > 0.05$ yang berarti tidak ada perbedaan secara signifikan kadar sehingga tidak memberikan pengaruh terhadap kerusakan seluler. MDA dalam serum berfungsi sebagai sebuah penanda kerusakan seluler akibat radikal bebas. MDA merupakan dialdehid tiga karbon yang sangat reaktif yang juga dapat diperoleh dari hidrolisis pentosa, deoksiribosa, heksosa, beberapa asam amino dan DNA (Situmorang, 2019).

Kelompok perlakuan P2 memiliki rerata kadar MDA yang lebih rendah dibanding kelompok perlakuan hal ini dapat terjadi dikarenakan kadar MDA yang terbentuk sangat bergantung pada jumlah stres oksidatif dan hanya mampu dinetralisasi oleh antioksidan sedangkan pada kondisi normal kadar MDA dapat terbentuk pada kadar yang rendah. Pada kondisi kadar MDA yang turun biasanya disertai dengan peningkatan kadar antioksidan. Kandungan antioksidan pada daun mimba yang di kemas dalam bentuk nanopartikel mampu mencapai target sehingga dapat melindungi organ ren dari zat toksik (Puspitasari, 2016).

Antioksidan dapat menurunkan MDA dengan cara langsung dan tidak langsung. Secara langsung yaitu dengan cara menangkap ROS dan mekanisme tidak langsung dengan menginduksi enzim antioksidan, menghambat enzim prooksidan, dan menghasilkan enzim detoksifikasi fase II dan enzim antioksidan. Mimba telah diketahui mengandung senyawa

antioksidan flavonoid yang mampu melindungi jaringan yang rusak akibat paparan radikal bebas. Hal ini sesuai dengan penelitian (Jiang Shi *et al.*, 2019) bahwa flavonoid lebih khususnya quercetin dapat bersifat antioksidan dengan mencegah stress oksidatif yang diinduksi oleh diabetes dan kerusakan DNA yang berkaitan dengan penurunan kadar nitric oxide synthase (NOS) di jaringan ginjal. Ketidakseimbangan antara oksidan dalam hal ini ROS dengan antioksidan akan menimbulkan stress oksidatif. Dampak negatif yang dikhawatirkan adalah pembentukan Reaktif Oxygen Species (ROS). Radikal bebas dan senyawa oksigen reaktif yang diproduksi dalam jumlah yang normal, penting untuk fungsi biologis, seperti sel darah (leukosit) untuk menghasilkan H₂O₂ untuk membunuh beberapa jenis bakteri dan jamur serta pengaturan pertumbuhan sel, namun tidak menyerang sasaran spesifik, sehingga memungkinkan menyerang asam lemak tidak jenuh ganda dari membrane sel, organel sel, atau DNA, selanjutnya dapat menyebabkan kerusakan struktur dan fungsi sel Untuk itulah diperlukan antioksidan yang akan mengatasi oksidan (Anggraeni *et al.*, 2017).

Mekanisme terjadinya kerusakan sel oleh radikal bebas yaitu terjadinya peroksidasi lipid tidak jenuh yang memiliki ikatan rangkap yang diselingi oleh metilen pada komponen fosfolipid membran sel. Reaksi perioksidasi adalah reaksi berantai yang menghasilkan kembali radikal bebas, sehingga terjadi reaksi peroksidasi asam lemak tidak jenuh pada fosfolipid membran sel berikutnya. Akibatnya permeabilitas lipid membran sel akan menurun. Penurunan ini akan menyebabkan terjadinya penurunan pengikatan insulin oleh reseptor insulin, serta penurunan aktivitas enzim Na⁺/K⁺ ATPase sehingga akan memicu penurunan sistem transpor aktif glukosa dan asam amino serta peningkatan kadar insulin plasma. Akibatnya terjadi penurunan kecepatan produksi energi sel dan biosintesis makromolekul sel (Salminen, 2013).

Kesimpulan

Pemberian sediaan ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A.Juss) dalam bentuk nanopartikel dengan masing-masing perlakuan kontrol normal (tikus normal diberi

aquades), kontrol positif (tikus diberi NaTPP-kitosan), perlakuan tikus normal diberi NaTPP-kitosan dan ekstrak dengan perbandingan 1:0,5, perlakuan tikus normal diberi NaTPP-kitosan dan ekstrak dengan perbandingan 1:1 tidak berpengaruh terhadap struktur dan fungsi ginjal sebagai organ ekskresi obat.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dekan Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro yang telah hibah dana penelitian melalui nomor kontrak 1970/UN.7.5.8/PP/2020 dengan Ketua Peneliti Dr. Dra. Agung Janika Sitasawi, M.Si.

Daftar Pustaka

- Anggraeni, S., Setyaningrum, T. and Listiawan, M. Y. (2017). Perbedaan Kadar Malondialdehid (MDA) sebagai Petanda Stres Oksidatif pada Berbagai Derajat Akne Vulgaris. *Jurnal Kesehatan Kulit Dan Kelamin*, 29(1):1–8.
- Anindita, R. (2019). Uji Seduhan Daun Teh Hijau (*Camelia sinensis* L). Pada Ginjal Mencit yang Diberi Monosodium Glutamat (MSG). *Borneo Journal of Phamascientech*. 3 (2):189-200.
- Fahriansyah, Isdadiyanto, S dan Sitasawi, A. J. (2022). Gambaran Histologi Ren Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Hiperglikemia Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta Indica* A. Juss). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 6(2):193-202.
- Ivanovna. (2014). Analisis Kadar Kreatinin Serum Sebelum dan Setelah Terapi Tenovofir pada Penyandang HIV di RS Dr. M. Djamil Padang Periode 2012-2013. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 3(2): 1-6.
- Jumiarni, W.O. (2017). Eksplorasi Jenis Dan Pemanfaatan Tumbuhan Obat Pada Masyarakat Suku Muna Di Permukiman Kota Wuna. *Traditional Medicine Journal*. 22 (1): 45-56.
- Jiang shi, G., Y. Li, Q. H. Cao, H. X. Wu, X. Y. Tang, X. H. Gao, J. Q. Yu, Z. Chen, and Y. Yang. (2019). In Vitro And In

- Vivo Evidence That Quercetin Protects Against Diabetes And Its complications: A Systematic Review Of The Literature. *Biomedicine and Pharmacotherapy Journal*. 109: 1085- 1099.
- Luthfiyana, N., S. Bija, C.D. Nugraeni, M.S. Lembang, E. Anwar, D.R. Laksmiawati, Nusaibah, P.W. Ratrinia. Mukmainna. (2022). Characteristic and antibacterial activity of chitosan nanoparticles from mangrove cran shell (*Scylla sp.*) in Tarakan Waters, North Kalimantan, Indonesia. *Biodiversitas*. 23(8): 4018-4025.
- Mayori R, N Marusin, & D. H. Tjong. (2014). Pengaruh pemberian Rhodamin B terhadap struktur histologis ginjal mencit putih (*Mus musculus L.*). *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 2(1): 1-7.
- Nugroho, Kanti, R. F., Dondin, S., dan Huda S . D. (2018). Profil Tekanan Darah Normal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar dan Sprague-Dawley. *Jurnal Veteriner*. 6(2): 32-37.
- Kafshgari, M.H., Khorram, M., Khodadoost, M., dan Khavari, S. (2015). Reinforcement of Chitosan Nanoparticles Obtained by an Ionic Cross-Linking Process. *Iran Polymer Journal*. 20(5): 445- 456.
- Kurniasari, D., dan Atun, S. (2017). Pembuatan Dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) Pada Berbagai Variasi Komposisi Alginat. *Jurnal Kimia Dasar*. 6(1): 31–35.
- Martien, R., Adhyatmika., Irianto, I.D.K., Verda, F., dan Sari, P.S. (2014). Perkembangan Teknologi Nanopartikel Sebagai Sistem Pengantaran Obat. *Jurnal Farmaseutik*. 8(1): 133-144.
- Patilaya, P., Azisah, N., dan Nerdy. (2015). Comparison of Antimicrobial Activity of Red Betel (*Piper crocatum ruiz and Pav*) Leaves Nanoparticle and Power Etanolic Extract Against Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus. *International Journal of PharmTech Research*. 8(4): 696-701.
- Pramita. (2020). Peran Azadirachtin Dalam Pohon Mimba (*Azadirachta indica A. Juss.*) Sebagai Terapi Anti Skabies. *Journal of Dermatology, Veneorology, and Aesthetic*. 1(1): 40-48.
- Puspitasari M. L, Wulansari T. V, Widyaningsih TD, Mahar J. (2016). Aktivitas Antioksidan Suplemen Herbal Daun Sirsak (*Annona muricata L*) dan Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L*). *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*. 4(1): 283–90.
- Septiva E. B., Sitasiwi, A. J., dan Isdadiyanto, S. (2019). Struktur Mikroanatomi Ginjal Mencit (*Mus musculus L.*) Betina Setelah Paparan Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica A. Juss.*). *Jurnal Pro-Life*. 6(2): 180-190.
- Situmorang, R. (2015). Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Bangun bangun (*Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng) Sebagai Preventif dan Kuratif Terhadap Efek Toksik Rhodamin B Pada Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Biosains*. (1)3: 73-85.
- Supriyanto S, B Sinon, M Rivai, dan Yunianta. (2017). Uji fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica A. Juss.*). *Prosiding SNATIF*. 523-529.
- Tana, S., Shivaluhung, M. Suprihatin, T. (2022). Gambaran Histologi Ren Tikus Putih (*Rattus norvegicus L.*) yang Diinduksi Insulin. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 7(2): 127-134.