

**EFEK PREVENTIF PERASAN SEMANGGI AIR  
(*Marsilea crenata*) TERHADAP GAMBARAN  
HISTOPATOLOGI GINJAL DAN VESIKA  
URINARIA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)  
MODEL UROLITHIASIS**

**SKRIPSI**

Oleh :  
**MARDIANA KUSUMAWATI SARTONO**  
**0911310019**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN  
PROGRAM KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2013**

**EFEK PREVENTIF PERASAN SEMANGGI AIR  
(*Marsilea crenata*) TERHADAP GAMBARAN  
HISTOPATOLOGI GINJAL DAN VESIKA  
URINARIA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)  
MODEL UROLITHIASIS**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :  
**MARDIANA KUSUMAWATI SARTONO**  
0911310019



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN  
PROGRAM KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2013**

## LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Efek Preventif Perasan Semanggi Air (*Marsilea crenata*) Terhadap  
Gambaran Histopatologi Ginjal dan Vesika Urinaria  
Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Urolithiasis

Oleh :  
**MARDIANA KUSUMAWATI SARTONO**  
0911310019

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji  
pada tanggal 28 Oktober 2013  
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

**Dr. Sri Murwani, drh., MP**  
NIP. 19630101 198903 2 001

**Prof. Dr. Pratiwi Trisunuwati, drh., MS**  
NIP. 19480615 197702 2 001

Mengetahui,  
Ketua Program Kedokteran Hewan  
Universitas Brawijaya  
Malang

Mengetahui,  
Ketua Program Studi Kedokteran Hewan  
Program Kedokteran Hewan  
Universitas Brawijaya - Malang

**Prof. Dr. Pratiwi Trisunuwati, drh., MS**  
NIP. 19480615 197702 2 001

**Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES**  
NIP. 19600903 198802 2 001



## LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Mardiana Kusumawati Sartono  
NIM : 0911310019  
Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan  
Penulis Skripsi Berjudul : Efek Preventif Perasan Semanggi Air (*Marsilea crenata*) Terhadap Perubahan Gambaran Histopatologi Ginjal dan Vesika Urinaria Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Urolithiasis.

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 14 November 2013

Yang Menyatakan,

(Mardiana Kusumawati Sartono)

NIM.0911310019

Efek Preventif Perasan Semanggi Air (*Marsilea crenata*) Terhadap  
Perubahan Histopatologi Ginjal dan Vesika Urinaria  
Tikus Putih *Rattus norvegicus* Model Urolithiasis

**ABSTRAK**

Urolithiasis adalah gangguan pada sistem urinaria akibat terbentuknya kristal melalui proses fisiologis dan kimiawi dalam tubuh, salah satu penyebab utamanya adalah kalsium oksalat. *Marsilea crenata* merupakan tanaman rawa mengandung kalium memiliki efek sebagai diuretik dan flavonoid sebagai diuretik serta antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan mengetahui efek perasan *Marsilea crenata* dapat mencegah terjadinya urolithiasis yang dilihat berdasarkan gambaran histopatologi ginjal dan vesika urinaria. Penelitian ini bersifat eksperimental dengan *Posttest Only Control Design* dan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan model yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan berumur 12 minggu yang dibagi dalam 6 kelompok masing-masing 4 ekor. Kelompok (P1) kontrol negatif yang hanya diberi pakan standart dan air minum, Kelompok (P2) kontrol positif, (P3), (P4), (P5), dan (P6) diberi kombinasi etilen glikol (EG) 0,75% dan amonium klorida (AK) 2% sebanyak 12 ml/200 g BB. Kelompok (P3) ditambahkan perasan *Marsilea crenata* 5%, kelompok (P4) 10%, kelompok (P5) 20%, dan kelompok (P6) 40% dengan dosis 1 ml/100 g BB. Pemberian bahan induksi urolithiasis dan perasan Semanggi Air (*Marsilea crenata*) diberikan secara peroral dengan menggunakan sonde lambung. Perlakuan diberikan selama 10 hari. Hasil skoring pada gambaran histopatologi yang dilanjutkan dengan pengujian *Kruskall-Wallis* menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata ( $p < 0,01$ ). Perasan Semanggi Air (*Marsilea crenata*) pada konsentrasi 40% efektif mencegah urolithiasis dengan menghambat pembentukan kristal dan mengurangi terjadinya kerusakan sel.

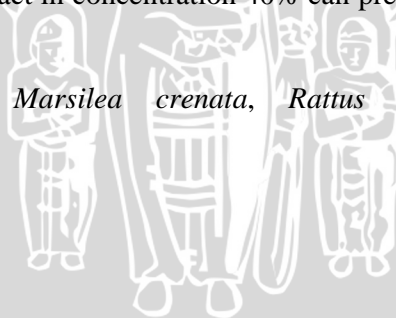
Kata Kunci : Urolithiasis, *Marsilea crenata*, *Rattus norvegicus*, Ginjal, Vesika Urinaria.

Preventive Effects of Water Clover's (*Marsilea crenata*) Extract Against  
Histopathology Change Kidney and Gall Bladder  
On Rat (*Rattus novvegicus*) Urolithiasis Model

**ABSTRACT**

Urolithiasis is the disease of the urinary system due to the formation of crystals through physiological and chemical processes in the body which one of the main cause is the calcium oxalate. *Marsilea crenata* is a swamp plant which contain potassium and flavonoids. This research aims to know the preventive effects of extract of *Marsilea crenata* on urolithiasis observed by the histopathology of kidney and gall bladder. This study is an experiment with Posttest Only Control Design and use Completely Randomized Design (CRD). The animal model for this research is twenty four head of 12 weeks old male rats (*Rattus norvegicus*) which divided into six groups of four. Group P1 as negative control are fed by standard pellet and mineral water, the Group P2 as positive control and group (P3, P4, P5), and (P6) was given ethylene glycol (EG) 0.75% and ammonium chloride (AK) 2% as much as 12 ml/200 g BB. The treatment of *Marsilea crenata* are divided into several concentrations, (P3) 5% (P4) 10%, (P5) 20%, and group (P6) 40%. The dose of *Marsilea crenata* juice as much as 1 ml/100 g BB. The treatment is given orally using oral gavage for 10 days. The resulting score based on the change of histopathology appearance followed by *Kruskall-Wallis* test showed significant differences ( $p < 0,01$ ). It can be concluded that, *Marsilea crenata* extract in concentration 40% can prevent the occurrence of urolithiasis.

**Keywords** : Urolithiasis, *Marsilea crenata*, *Rattus norvegicus*, Kidney, Gallbladder.





## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT karena rahmat dan hidayah-Nya, penulis dapat membuat dan menyelesaikan penelitian yang berjudul **“Efek Preventif Perasan Semanggi Air (*Marsilea crenata*) Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal dan Vesika Urinaria Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Urolithiasis”**. Harapan penulis, penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi penulis dan pembaca.

Dalam penyelesaian penelitian ini penulis banyak mendapat bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Sri Murwani, drh., MP dan Prof. Dr. Pratiwi Trisunuwati, drh., MS selaku dosen pembimbing atas segala bimbingan, motivasi, dan kesabaran yang luar biasa selama penulisan skripsi ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
2. drh. Rositawati Indrati, MP dan drh. IDP Anom Adnyana, M.Vet selaku dosen penguji atas segala ilmu, masukan, dan dukungan dalam penyempurnaan penulisan skripsi ini.
3. Dr. dr. I Ketut Gede Muliarta, SpPA atas segala bimbingan dan ilmu dalam menyelesaikan pengamatan histopatologi.
4. Bapak dan ibu tercinta, adik tersayang, serta seluruh keluarga besar atas setiap pengorbanan, kasih sayang, bimbingan, dan dukungan disetiap langkah, serta mendoakan kebahagiaan dan keberhasilan penulis sehingga penulis mampu menyelesaikan studi.

5. Seluruh staff Klinik Program Kedokteran Hewan, Laboratorium Histologi dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian.
6. Teman seperjuangan “Semanggi Air” Jefri hardyanto, Lelyta Damayanti, dan Bonanza Wahyu atas semua kerjasama, bantuan, dan semangatnya.
7. Shandy Pieter terima kasih atas dukungan dan bantuannya.
8. Semua pihak yang telah banyak membantu, semoga Allah SWT selalu memberikan kebaikan atas melimpahkan rahmat-Nya.

Penulis berharap semoga penelitian skripsi ini dapat memberikan manfaat dan kebaikan bagi ilmu pengetahuan dan sesama. Penulis sadar bahwa dalam penelitian ini masih banyak kekurangan yang dikarenakan keterbatasan kemampuan dan pengetahuan dari penulis. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran dari rekan-rekan serta pembaca. Semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Akhir kata, penulis memohon maaf apabila dalam penulisan laporan ini terdapat kesalahan yang disengaja atau yang tidak disengaja.

Malang, November 2013



## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>ABSTRAK</b> .....	v
<b>ABTRACT</b> .....	vi
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ix
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiii
<b>DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG</b> .....	xiv
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
2.1 Sistem Urinaria .....	5
2.1.1. Definisi .....	5
2.1.2. Organ Penyusun Sistem Urinaria .....	5
2.1.3. Penyakit Pada Sistem Perkemihan .....	7
2.2 Urolithiasis .....	7
2.2.1 Definisi .....	7
2.2.2. Jenis-Jenis Kristal .....	7
2.2.3. Patomekanisme .....	9
2.2.4. Diagnosa .....	9
2.2.5. Pencegahan .....	10
2.2.6 Pengobatan .....	11
2.3 Semangi Air ( <i>Marsilea crenata</i> ) .....	11
2.3.1. Definisi dan Klasifikasi .....	11
2.3.2. Morfologi .....	12
2.3.3. Kandungan .....	12
2.3.4. Manfaat .....	14
2.4 Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Sebagai Hewan Hewan Model Urolithiasis .....	15
2.5 Bahan Induksi Urolithiasis .....	17
2.5.1. Etilen Glikol .....	17
2.5.2 Amonium Klorida .....	17
2.6 Histopatologi .....	18

<b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b> .....	21
3.1 Kerangka Konseptual .....	21
3.2 Hipotesis Penelitian .....	22
<b>BAB 4. METODE PENELITIAN</b> .....	23
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	23
4.2 Alat dan Bahan .....	23
4.3 Tahapan Penelitian .....	24
4.4 Prosedur Kerja .....	28
<b>BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	29
5.1 Pengaruh Pemberian Perasan Semanggi Air ( <i>Marsilea crenata</i> ) Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal .....	29
5.2 Pengaruh Pemberian Perasan Semanggi Air ( <i>Marsilea crenata</i> ) Terhadap Gambaran Histopatologi Vesika Urinaria .....	38
<b>BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	43
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	44
<b>LAMPIRAN</b> .....	50



DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
4.1	Data Hasil Penelitian.....	26
4.2	Kelompok Perlakuan.....	31
5.1	Data Hasil Uji <i>Kruskall-Wallis</i> Pada Tubulus Ginjal Bagian Kanan.....	30
5.2	Data Hasil Uji <i>Kruskall-Wallis</i> Pada Tubulus Ginjal Bagian Kiri .....	31
5.3	Hasil Pengamatan Endapan Kristal Pada Tubulus Ginjal ...	31
5.4	Hasil Uji <i>mann-Whitney</i> Pada Ginjal Bagian Kanan dan Kiri .....	37
5.5	Data Hasil Uji <i>Kruskall-Wallis</i> Pada Vesika Urinaria .....	38
5.6	Hasil Pengamatan Endapan Kristal Pada Vesika Urinaria..	39





## DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
4.1	Proses Pengenceran Perasan Semangi Air .....	30
5.1	Histologi Tubulus Ginjal Kelompok P1 .....	32
5.2	Histopatologi Tubulus Ginjal Kelompok P2 .....	32
5.3	Histopatologi Tubulus Ginjal Kelompok P3 .....	33
5.4	Histopatologi Tubulus Ginjal Kelompok P4 .....	33
5.5	Histopatologi Tubulus Ginjal Kelompok P5 .....	34
5.6	Histopatologi Tubulus Ginjal Kelompok P6 .....	34
5.7	Histologi Vesika Urinaria Kelompok P1.....	40
5.8	Histopatologi Vesika Urinaria Kelompok P2.....	40
5.9	Histopatologi Vesika Urinaria Kelompok P3.....	40
5.10	Histopatologi Vesika Urinaria Kelompok P4.....	41
5.11	Histopatologi Vesika Urinaria Kelompok P5.....	41
5.12	Histopatologi Vesika Urinaria Kelompok P6.....	41



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Kandungan Nutrisi Pakan Phokpand BR2® .....	51
2 Perhitungan Homogenitas Berat Badan Tikus Dengan Uji <i>Bartlett</i> .....	52
3 Sertifikat Laik Etik Penelitian .....	54
4 Sertifikat Determinasi Tanaman Semanggi Air.....	55
5 Perhitungan Dosis Bahan Induksi Urolithiasis.....	56
6 Kategori Skoring.....	57
7 Prosedur Kerja .....	58
8 Diagram Alir Tahapan Penelitian .....	61
9 Perhitungan Uji <i>Kruskall-Wallis</i> dan Uji Lanjutan <i>Mann-Whitney</i> .....	62
10 Hasil Skoring Kerusakan Organ Ginjal dan Vesika Urinaria.....	68
11 Dokumentasi Kegiatan Penelitian.....	69

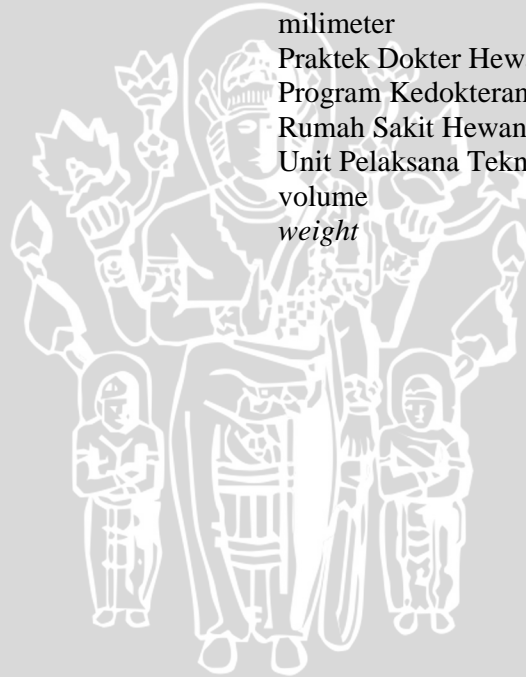


## DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

### Simbol/Singkatan

### Keterangan

®	merk dagang
µm	mikrometer
cm	sentimeter
Drh.	Dokter hewan
FK	Fakultas Kedokteran
g	gram
IPB	Institut Pertanian Bogor
mg	miligram
ml	mililiter
mm	milimeter
PDHB	Praktek Dokter Hewan Bersama
PKH	Program Kedokteran Hewan
RSH	Rumah Sakit Hewan
UPT	Unit Pelaksana Teknis
V	volume
w	<i>weight</i>





## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Gangguan kesehatan yang paling sering terjadi pada anjing dan kucing adalah urolithiasis. Hasil penelitian yang dilaksanakan di *The Ohio State University Hospital* pada 109 ekor kucing dengan gangguan sistem perkemihan, 15 diantaranya mengalami urolithiasis (Buffington, 2001). Urolithiasis merupakan akibat adanya kristal pada saluran perkemihan yang terbentuk melalui proses fisiologis dan patologis (Stevenson, 2002).

Berdasarkan data kesehatan tahun 2007 hingga 2008 yang diambil dari RSH Jakarta, RSH IPB dan klinik PDHB drh. Cucu K., ditemukan 71 kasus urolithiasis dan penyebab terjadinya urolithiasis tersebut adalah kalsium oksalat sebanyak 42 %, struvit sebanyak 33 %, silika 17 %, dan sistin 8 % (Mariyani, 2009). Hasil penelitian yang dilakukan di *Canadian Veterinary Urolith Centre* selama sepuluh tahun pada 11.353 ekor kucing mengenai penyebab urolithiasis menunjukkan bahwa 5570 ekor akibat kalsium oksalat, 4887 ekor akibat struvit, 462 ekor akibat urat, 118 ekor akibat kalsium fosfat, 25 ekor akibat DSBC, 14 ekor akibat xantin, 13 ekor akibat silika, 11 ekor akibat sistin, dan 11 ekor akibat sodium pyrofosfat (Houston and Moore, 2009). Berdasarkan data tersebut, diketahui bahwa penyebab utama terjadinya urolithiasis adalah kalsium oksalat.

Kalsium oksalat merupakan salah satu penyebab terjadinya urolithiasis yang terbentuk pada pH asam sampai netral yaitu 5,8 – 6,3. Pembentukan kalsium oksalat akan menyebabkan terjadinya obstruksi renal, ureter, vesika urinaria dan uretra. Perubahan tersebut dapat dilihat melalui pengamatan mikroskopis.

Urolithiasis merupakan salah satu jenis penyakit yang dapat disembuhkan melalui pengobatan herbal. Beberapa jenis herbal yang dapat digunakan untuk terapi urolithiasis diantaranya daun alpukat, meniran, kumis kucing, kejibeling, dan asparagus. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Wientarsih, dkk. (2012), kandungan flavonoid dan kalium dalam daun alpukat dapat mencegah terbentuknya kristal dan mencegah terjadinya inflamasi pada ginjal. Kandungan tersebut juga terdapat pada tanaman Semanggi Air (*Marsilea crenata*).

Semanggi Air memiliki kandungan kalium yang sangat tinggi yaitu sekitar 937,56 mg/100gram (Arifin, 2009). Kalium berfungsi untuk menghambat reaksi ikatan kalsium dengan asam oksalat agar tidak membentuk kristal dan berfungsi sebagai diuretik. Semanggi Air juga mengandung antioksidan yang dapat menghambat reaksi oksidasi dan menangkal radikal bebas, diantaranya adalah flavonoid yang berfungsi sebagai antiinflamasi dan sebagai diuretik (Nurjanah dan Abdullah, 2012). Kalium dan flavonoid berperan untuk mencegah terjadinya urolithiasis.

Dalam penelitian ini menggunakan hewan model tikus putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar dikarenakan harga tikus dan biaya perawatannya murah, cara perawatannya mudah, serta dapat dikontrol. Tikus putih juga pernah digunakan dalam penelitian urolithiasis seperti penggunaan ekstrak daun alpukat

sebagai antiurolithiasis (Fuadi, 2009). Hewan model yang digunakan berkelamin jantan karena lebih cepat terbentuk kristal dibandingkan dengan tikus betina. Hewan model urolithiasis yang digunakan dalam penelitian ini diinduksi dengan menggunakan campuran etilen glikol 0,75% dan amonium klorida 2% karena berdasarkan hasil penelitian telah terbukti dalam sepuluh hari terbentuk kristal kalsium oksalat (Jagannath, *et al.*, 2012).

### **1.2 Rumusan Masalah**

Apakah perasan Semanggi Air (*Marsilea crenata*) dapat mencegah terjadinya urolithiasis berdasarkan gambaran histopatologi ginjal dan vesika urinaria hewan model urolithiasis ?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Untuk mengetahui efek perasan Semanggi Air (*Marsilea crenata*) terhadap gambaran histopatologi ginjal dan vesika urinaria hewan model urolithiasis.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bahwa Semanggi Air (*Marsilea crenata*) dapat digunakan sebagai tanaman obat untuk mencegah urolithiasis.



## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Sistem Urinaria

#### 2.1.1 Definisi

Sistem perkemihan adalah suatu sistem yang berfungsi untuk menyaring darah sehingga zat-zat yang tidak digunakan lagi oleh tubuh akan dikeluarkan melalui urin dan zat-zat yang masih berguna bagi tubuh akan diserap kembali melalui pembuluh kapiler yang ada didalam ginjal.

#### 2.1.2 Organ Penyusun Sistem Urinaria

Sistem perkemihan terdiri atas sepasang ginjal, ureter, vesika urinaria, dan uretra (Delmann *and* Brown, 1992).

##### a) Ginjal

Ginjal berfungsi untuk menyaring darah, mengekskresikan berbagai zat sisa metabolik dan mengatur keseimbangan cairan dalam tubuh (Lina, 2008). Berdasarkan hasil sebuah penelitian pada ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar jantan dan betina di Nigeria tahun 2009 didapatkan hasil bahwa ginjal tikus jantan lebih besar daripada ginjal tikus betina dengan berat rata-rata ginjal tikus adalah  $0,605 \pm 0,012$  g dan dapat diketahui bahwa ginjal tikus dapat beradaptasi untuk mempertahankan homeostasis walaupun dengan mengkonsumsi sedikit air (Onyeanusu *et al*, 2009).

Induksi etilen glikol menyebabkan terbentuknya kristal berupa kalsium oksalat pada bagian tubulus renalis sehingga menyebabkan kerusakan pada daerah disekitarnya (Hosseinzadeh *et al*, 2010).

**b) Ureter**

Ureter adalah saluran yang menghubungkan bagian hilus ginjal dengan bagian vesika urinaria. Pada bagian ujung ureter terdapat katup yang berfungsi untuk menutup vesika urinaria apabila dalam keadaan penuh (Dellman *and* Brown, 1992).

**c) Vesika Urinaria**

Vesika urinaria atau kandung kemih merupakan saluran ureter yang meluas, dimana lapisan yang terdapat dalam ureter terdapat dalam vesika urinaria pula. Perbedaannya adalah ketebalan relatif dinding terutama tunika muskularis pada vesika urinaria lebih tebal dibanding ureter. Tunika muskularis pada bagian vesika urinaria terdiri atas lapisan dalam, lapisan luar, dan lapis tengah melingkar. Hasil metabolisme dari ginjal berupa urin dikeluarkan melalui ureter yang kemudian ditampung di vesika urinaria, apabila kapasitas vesika urinaria sudah penuh maka urin akan dikeluarkan dari tubuh melalui uretra (Dellman *and* Brown, 1992). Vesika urinaria berbentuk kantong rongga yang bersifat elastis. Vesika urinaria menyimpan urin dalam waktu berkala (Lina, 2008). Batu ginjal yang terbentuk akan berkumpul di dalam vesika urinaria (Fuadi, 2009).

**d) Uretra**

Uretra merupakan saluran yang berfungsi untuk menyalurkan urin dari vesika urinaria menuju keluar tubuh. Struktur anatomis uretra pada hewan jantan lebih panjang dan sempit, sedangkan pada hewan betina struktur anatomisnya lebih pendek dan lebar.

### 2.1.3 Penyakit Pada Sistem Perkemihan

Penyakit pada sistem perkemihan dapat bersifat infeksius maupun non-infeksius. Penyakit infeksius pada saluran perkemihan seperti *glomerulonefritis*, *pyelonefritis*, *nefrosis*, *nefritis* dan *cystitis*. Penyakit pada saluran perkemihan yang bersifat non-infeksius adalah adanya kelainan genetik, *acute renal failure*, dan *chronic renal failure*. Sedangkan penyakit pada sistem perkemihan yang dapat bersifat infeksius dan non-infeksius adalah urolithiasis.

## 2.2 Urolithiasis

### 2.2.1 Definisi

Urolithiasis atau batu ginjal tersebut merupakan suatu pembentukkan kristal di dalam saluran kemih melalui proses fisiologis dan kimiawi tubuh. Terminologi kata *urolith* berasal dari Bahasa Yunani yaitu, *ouron* yang berarti urin dan *lithos* yang berarti batu (Osborne, *et al.*, 1999). Data epidemiologi yang ada menunjukkan bahwa kalsium oksalat merupakan penyebab utama terjadinya pembentukkan kristal (Butterweck *and* Khan, 2009). Beberapa hal yang berperan dalam pembentukkan kristal pada kasus urolithiasis pada hewan model laboratorium diantaranya kalsium oksalat, fosfat, magnesium, ammonia, pH urin, dan sitrat (Mandel, 1996). Kondisi supersaturasi urin menyebabkan terjadinya peningkatan ekskresi kristal pada ginjal dan reabsorpsi air pada tubulus renalis, sehingga konsentrasi dan pH urin berubah (Mariyani, 2009).

### 2.2.2 Jenis – Jenis Kristal

Berikut ini adalah beberapa jenis kristal yang sering ditemukan dalam kasus urolithiasis :



### 1. Kalsium Oksalat (70-80%)

Kalsium oksalat terbentuk dalam kondisi hiperkalsemia (Houston *et al.*, 2004).

Kalsium oksalat terbentuk dalam kondisi asam sampai netral dengan pH 5,8-6,3.

Kalsium oksalat memiliki dua tipe yaitu, kalsium oksalat monohidrat/*whewellite/single* ( $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) dan kalsium oksalat dihidrat/*weddellite/multiple* ( $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Faktor resiko dalam pembentukan kalsium oksalat adalah konsumsi tinggi kalsium, vitamin D, vitamin C, dan bahan yang mengandung derivat asam oksalat yang tinggi

### 2. *Struvite* (20%)

*Struvite* atau dikenal dengan istilah lain magnesium ammonium fosfat heksahidrat dengan komposisi kimia  $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . *Struvite* terbentuk dalam kondisi basa, dalam kondisi tersebut jumlah fosfat meningkat. pH urin yang tinggi mempengaruhi solubilitas magnesium ammonium fosfat sehingga meningkatkan terbentuknya presipitasi kristal *struvite*.

### 3. *Cystine* (1%)

*Cystine* dengan rumus kimia  $((\text{SCH}_2\text{CHNH}_2\text{COOH})_2)$  yang terbentuk akibat peningkatan kadar *cystine* dalam urin dengan kondisi asam hingga netral dan bersifat tidak larut air.

### 4. *Urate* (5%)

*Uric acid/urate* merupakan senyawa organik yang berasal dari karbon, nitrogen, oksigen, dan hidrogen dengan rumus kimiawi  $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$  yang berasal dari katabolisme purin. *Urate* berukuran kecil, halus, berwarna kuning kecoklatan, dan terbentuk akibat peningkatan ekskresi asam urat di urin.

### 2.2.3 Patomekanisme

Kejadian urolithiasis yang paling sering terjadi diakibatkan oleh kalsium oksalat. Terbentuknya kalsium oksalat diakibatkan adanya reaksi ikatan antara kalsium dengan asam oksalat. Kondisi urin yang jenuh dimana terjadi hiperkalsiuria dan hiperoksaluria mempercepat proses terbentuknya kristal (Saputra, 2009).

Kalsium oksalat yang terakumulasi menyebabkan terjadinya obstruksi renal, ureter, vesika urinaria, dan uretra. Batu ginjal dalam jumlah banyak dapat menyumbat glomerulus dan dapat terjadi glomerulonefritis, serta dapat merusak sel epitel disekitarnya. Kristal kalsium oksalat berkumpul pada bagian korteks jika diamati secara mikroskopis (Touhami *et al.*, 2007).

### 2.2.4 Diagnosa

Penentuan hasil diagnosis dalam kasus urolithiasis dapat melalui beberapa tahapan yaitu mengumpulkan informasi berdasarkan sejarah, gejala klinis yang ditimbulkan, melalui pemeriksaan fisik dengan cara palpasi pada daerah abdomnial. Gejala klinis urolithiasis yang ditimbulkan meliputi hematuria, pollakiuria, stranguria, dan dysuria. Apabila dilakukan palpasi disekitar daerah abdomen akan timbul rasa kesakitan (Langston *et al.*, 2008). Untuk memperkuat diagnosis perlu dilakukan uji laboratorium, pemeriksaan menggunakan radiografi dan pemeriksaan histologi yang dilakukan saat *postmortem* untuk mengembangkan ilmu pengetahuan.

### a) Pemeriksaan Laboratorium

Uji laboratorium yang digunakan untuk mendiagnosa urolithiasis diantaranya adalah pH urin, berat jenis urin, kadar BUN, kadar kreatinin, volume, kadar albumin. pH urin akan menentukan jenis kristal yang akan dihasilkan seperti pH asam cenderung menghasilkan kristal kalsium oksalat (Mariyani, 2009). Peningkatan berat jenis urin mengindikasikan adanya peningkatan kadar mineral dalam urin (Kennedy, 2008). Kenaikan kadar *Blood Ureum Nitrogen* (BUN) mengindikasikan adanya kerusakan pada ginjal dimana ginjal tidak dapat mendenaturasi protein yang berlebihan dalam tubuh (Fuadi, 2009).

### b) Radiografi

Pemeriksaan radiografi pada anjing dan kucing bertujuan untuk mendeteksi adanya kristal dengan teknik pencitraan yaitu peningkatan opasitas pada gambar. Beberapa teknik radiografi yang sering digunakan adalah *Intravenous Pyelography* (IVP) untuk melihat anatomi dan fisiologi ginjal, *Computed Tomography* (CT) untuk mendapatkan gambaran tiga dimensi, dan *Ultrasonography* (USG) yang biasanya digunakan dengan tujuan mengurangi tingkat radiasi seperti penggunaan pada hewan yang bunting (Ross, 2005).

### 2.2.5 Pencegahan

Langkah pencegahan terjadinya urolithiasis dapat dilakukan dengan cara meningkatkan konsumsi air, meningkatkan frekuensi olahraga, memperbanyak konsumsi sayuran, mengurangi konsumsi vitamin C dan kalsium dalam dosis tinggi (Lina, 2008).



## 2.2.6 Pengobatan

### a) Teknik Operatif

Pengobatan dengan menggunakan teknik operatif dilakukan jika kristal berukuran besar (5-10 mm). Tindakan yang paling sering dilakukan adalah ureteroskopi yaitu mengeluarkan batu pada bagian distal dan tengah ureter (Suharjo dan Cahyono, 2010). Kristal yang berada didalam ginjal dikeluarkan dengan metode nefrolitotomi yaitu prosedur pengangkatan kristal dengan cara melakukan insisi pada ginjal (Brunner *and* Suddarth, 2001).

### b) Teknik Non-Operatif

Teknik non-operatif yang sering digunakan adalah metode peluruhan kristal. Peluruhan batu ginjal dapat dilakukan dengan cara mengkonsumsi obat kimiawi maupun herbal. Beberapa jenis herbal yang dapat digunakan sebagai antiurolithiasis seperti kumis kucing, tempuyung, meniran, dan sambiloto (Saputra, 2009). Kortikosteroid, *Ca entry blockers*, dan  *$\alpha$ -blockers* juga dapat digunakan untuk mempermudah pengeluaran batu ginjal (Suharjo dan Cahyono, 2010).

## 2.3 Semanggi Air (*Marsilea crenata*)

### 2.3.1 Definisi dan Klasifikasi

Semanggi air (*Marsilea crenata*) merupakan tumbuhan air yang sering ditemukan di sawah, kolam, danau, dan sungai. Tumbuhan tersebut mempunyai beberapa nama, yaitu *Water Clover Fen* (Inggris), *Phak Waen* (Thailand), *Pak Ven* (Laos), *Chutul Phnom* (Kamboja), *Upat-Upat* (Filipina), *Tapak Itek*

(Malaysia) dan *Jukut Calincingan* (Sunda) (Afriastini, 2003). Berikut ini adalah klasifikasi dan identifikasi daun semanggi air (Steenis, 2008):

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Pteridophyta
Kelas	: Pteridopsida
Ordo	: Marsileales
Famili	: Marsileaceae
Genus	: Marsilea
Spesies	: <i>Marsilea crenata</i>

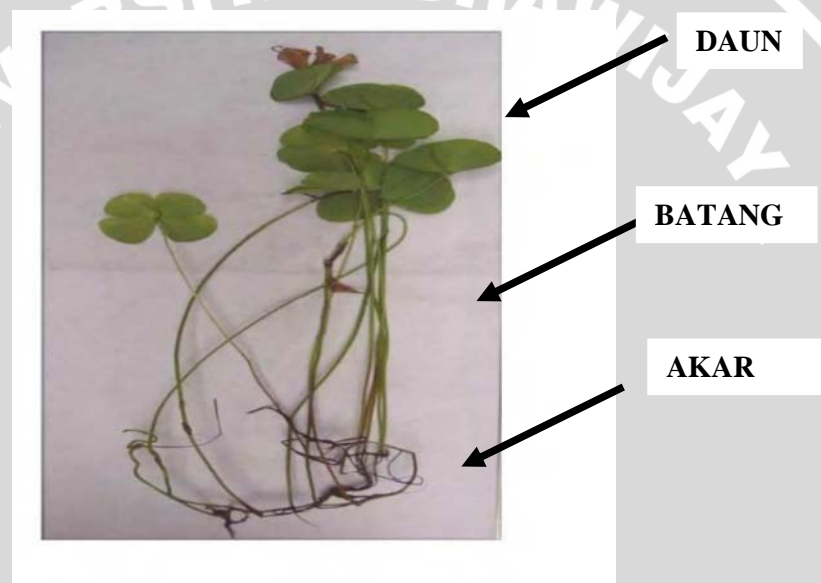
### 2.3.2 Morfologi

Semanggi air (*Marsilea crenata*) bertangkai sepanjang 20 cm dengan bagian yang muncul ke permukaan air setinggi 3-4 cm. Daun semanggi air terdiri atas empat helai daun dengan ukuran  $\pm 2,5$  cm dan lebar  $\pm 2,3$  cm, berwarna hijau gelap dengan tekstur daun yang lembut dan tipis (Arifin, 2009). Memiliki *Sporocarp* berfungsi untuk reproduksi yang berbentuk panjang dan bulat dibagian akhir. Struktur tersebut berukuran 3-4 mm sebanyak 1-6 buah. Tangkai pada *sporocarps* tidak bercabang, melingkar dibagian ujung, dan ditutupi oleh rambut *caducous* yang berhimpitan dan tegak lurus dengan tangkai (Afriastini, 2003). Gambar morfologi semanggi air tercantum pada gambar 1.

### 2.3.3 Kandungan

Arifin (2009) menyatakan bahwa semanggi air (*Marsilea crenata*) segar mengandung kalium 142,8 mg/100gram, kalsium 69,05 mg/100 gram, kalium

937,56 mg/100gram, natrium 69,6 mg/100gram, besi 108,3 mg/100gram dan tembaga 5,19 mg/100gram. Berdasarkan data tersebut diketahui bahwa kandungan mineral yang paling tinggi adalah kalium. Hasil penelitian dengan menggunakan analisis proksimat, diketahui kandungan gizi pada Semanggi Air lainnya adalah lemak 2,62%, protein 39,63%, dan serat kasar 20,77% (Sulistiono, 2009).



**Gambar 2.1.** Morfologi Semanggi Air (*Marsilea crenata*)

**a) Kalium Sebagai Diuretik**

Kalium berbentuk ion dalam sel yang berfungsi menjaga tekanan turgor dalam tubuh (Chapin, 2008). Kalium berfungsi menjaga keseimbangan elektrolit dalam ginjal. Kalium dapat mencegah terbentuknya kalsium oksalat dengan cara menghambat terjadinya kondisi keasaman yang berlebihan dalam urin sehingga terjadi peningkatan pH urin dan menghambat proses pembentukan kalsium oksalat (Ross, 2005). Kalium mengikat oksalat sehingga kristal larut dan keluar



bersama dengan urin. Kadar kalium yang tinggi dalam darah menyebabkan penurunan aldosteron, sehingga ekskresi air di ginjal meningkat (Guyton and Hall, 2007).

#### **b) Flavonoid Sebagai Antiinflamasi**

Semanggi air (*Marsilea crenata*) mengandung beberapa senyawa fitokimia diantaranya adalah flavonoid, saponin, polifenol, dan alkaloid yang berfungsi sebagai antioksidan dan antiinflamasi (Kristiono, 2009). Flavonoid berfungsi sebagai antiinflamasi dimana flavonoid tersebut berperan dalam menekan produksi prostaglandin (COX-2) dan prostaglandin (COX-1) dengan cara menghambat enzim siklooksigenase dan lipooksigenase. *Reactive Oxygen Species* (ROS) mengalami penurunan dengan cara menghambat aktivitas ekspresi gen *Nucleas Factor-kB* (NF-kB) (Nurjannah dan Abdullah, 2012). Penurunan tersebut menyebabkan pembatasan jumlah sel inflamasi yang bermigrasi ke jaringan perluasan akibat akumulasi batu.

#### **2.3.4 Manfaat**

Di beberapa negara, semanggi air (*Marsilea crenata*) banyak dimanfaatkan oleh masyarakat. Pemanfaatan semanggi air di Asia Tenggara khususnya Indonesia, Filipina, dan Thailand digunakan sebagai sayuran untuk makanan. Daun semanggi air digunakan masyarakat India untuk melawan kusta, demam, dan keracunan pada darah (Arifin, 2009). Semanggi air juga digunakan sebagai tanaman hias pada akuarium di New Zealand (Champion and Clayton, 2001).

#### 2.4 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Sebagai Hewan Model Urolithiasis

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) memiliki berat berkisar antara 150 g hingga 600 g. Bagian ekornya lebih pendek dari kepala dan badan dengan panjang sekitar 16-21 cm. Ukuran telinganya relatif kecil yaitu sekitar 20-23 mm dengan separuh bagiannya tertutup oleh rambut. Pada umumnya *Rattus norvegicus* berwarna abu-abu kecoklatan pada bagian punggung dan abu-abu pada bagian abdominalnya. Tikus putih yang biasanya digunakan dalam penelitian adalah *Rattus norvegicus* galur Wistar dimana bersifat albino yaitu berambut putih dan bermata merah (Swastika, 2003)

Tikus putih memiliki 12 kelenjar susu yang terdiri atas sepasang kelenjar susu pada bagian abdominal, dua pasang kelenjar susu pada bagian pectoral, dan tiga pasang kelenjar susu pada bagian inguinal. Moncong *Rattus norvegicus* cenderung lebih panjang dibanding jenis tikus lainnya. Memiliki tengkorak yang agak besar dan kuat

Penggunaan tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan model karena fungsi, bentuk organ, proses biokimia, biofisik, dan tingkat kebutuhan asam amino esensial mirip dengan manusia sehingga penelitian yang menggunakan hewan model ini dapat diaplikasikan ke manusia (Heinrich, 2006). Tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar telah digunakan dalam penelitian urolithiasis seperti pengaruh penambahan amonium klorida pada hewan model urolithiasis (Fan *et al.* 1999).

Berikut ini adalah taksonomi dari *Rattus norvegicus* menurut Myers and Amitage (2004):

- Kingdom : Animalia
- Filum : Chordata
- Sub Filum : Vertebrata
- Kelas : Mamalia
- Sub Kelas : Theria
- Ordo : Rodentia
- Sub Ordo : Myomorpha
- Famili : Muridae
- Sub Famili : Murinae
- Genus : Rattus
- Spesies : *Rattus norvegicus* galur Wistar

**Tabel 2.1.** Data Biologis *Rattus norvegicus* menurut Smith and Mangkoewidjojo, 1988.

Parameter	Keterangan
Lama hidup	2-3 tahun
Lama bunting	20-22 hari
Umur disapih	21 hari
Umur dewasa	40-60 hari
Umur dikawinkan	10 minggu
Siklus estrus	4-5 hari
Lama estrus	9-20 jam
Berat lahir	5-6 gram
Jumlah anak rata-rata	9-20 ekor





## 2.5 Bahan Induksi Urolithiasis

### 2.5.1 Etilen Glikol

Etilen glikol merupakan senyawa kimia turunan yang biasanya digunakan sebagai cairan antipembekuan, penghilang es, pelapis permukaan, pemindah panas, pendingin industri, hidrolik, surfaktan, dan pengemulsi (Saputra, 2009). Etilen glikol digunakan sebagai bahan penginduksi pada hewan model urolithiasis dapat diberikan secara *ad libitum* (Hozzeinsadeh *et al.*, 2010).

Etilen glikol dapat merusak mukosa saluran cerna sehingga menimbulkan lesio hemoragi, bersifat depresan bagi sistem susunan syaraf pusat, dan menimbulkan oedema pada otak. Etilen glikol dimetabolisme menjadi glikol aldehid oleh alkohol dehidrogenase yang diubah menjadi glikolat oleh aldehid dehidrogenase. Glikolat tersebut diubah menjadi gliksilat dengan hasil terakhirnya adalah oksalat, apabila berikatan dengan kalsium akan menjadi kristal kalsium oksalat (Cox *and* Phillips, 2004).

### 2.5.2 Amonium Klorida

Amonium klorida dengan rumus kimia  $\text{NH}_4\text{Cl}$  merupakan garam yang berbentuk kristal putih, tidak berbau, mudah larut dalam air, bersifat sedikit asam karena berasal dari asam kuat (HCl) dan basa lemah. Penggunaan etilen glikol 0,75% yang dikombinasikan dengan amonium klorida dapat mempercepat terjadinya urolithiasis dalam bentuk kalsium oksalat karena amonium klorida tersebut meningkatkan konsentrasi kalsium dan oksalat pada urin (Fan *et al.*, 1999). Pemberian kombinasi amonium klorida 2% dan etilen glikol 0,75% selama 10 hari dapat membentuk kalsium oksalat (Khan, *et al.*, 1999).

## 2.6 Histopatologi

Histopatologi merupakan ilmu dari cabang biologi yang mempelajari tentang kondisi dan fungsi jaringan dalam penentuan diagnosis suatu penyakit dengan pengamatan secara mikroskopis.

Preparat histologi perlu dilakukan pewarnaan dengan tujuan dapat membedakan komponen penyusun suatu jaringan dan pewarnaan yang paling sering digunakan adalah pewarnaan hematoksilin eosin. Larutan pewarna hematoksilin tersusun atas serbuk hematoksilin yang dicampur dengan aluminium sulfat, sodium iodate, dan dilarutkan dengan akuades, sedangkan larutan pewarna eosin tersusun atas serbuk eosin yang dicampur dengan erythrosin, kalsium klorida, dan dilarutkan dalam akuades (Muntiha, 2001).

Pada proses pembuatan preparat histologi, sampel organ difiksasi dengan menggunakan larutan buffer formalin 10%. Sampel organ di dehidrasi dalam ethanol 70%, ethanol 80%, ethanol 90%, ethanol absolut, xylol 1, xylol 2, parafin cair 1, dan parafin cair 2 yang direndam selama 2 jam untuk masing-masing larutan. Sampel organ tersebut divakumkan dahulu untuk menghilangkan udara dalam organ yang kemudian dilakukan proses pencetakan dalam blok parafin. Organ yang berada dalam blok parafin yang sudah membeku dipotong dengan menggunakan mesin mikrotom dengan ketebalan berkisar 3-4  $\mu\text{m}$  (Anggriani, 2008), (Muntiha, 2001).

Berikut ini adalah cara pembuatan preparat histologi dan pewarnaan dengan menggunakan hematoksilin dan eosin menurut Adjene *and* Nwose (2010)

:

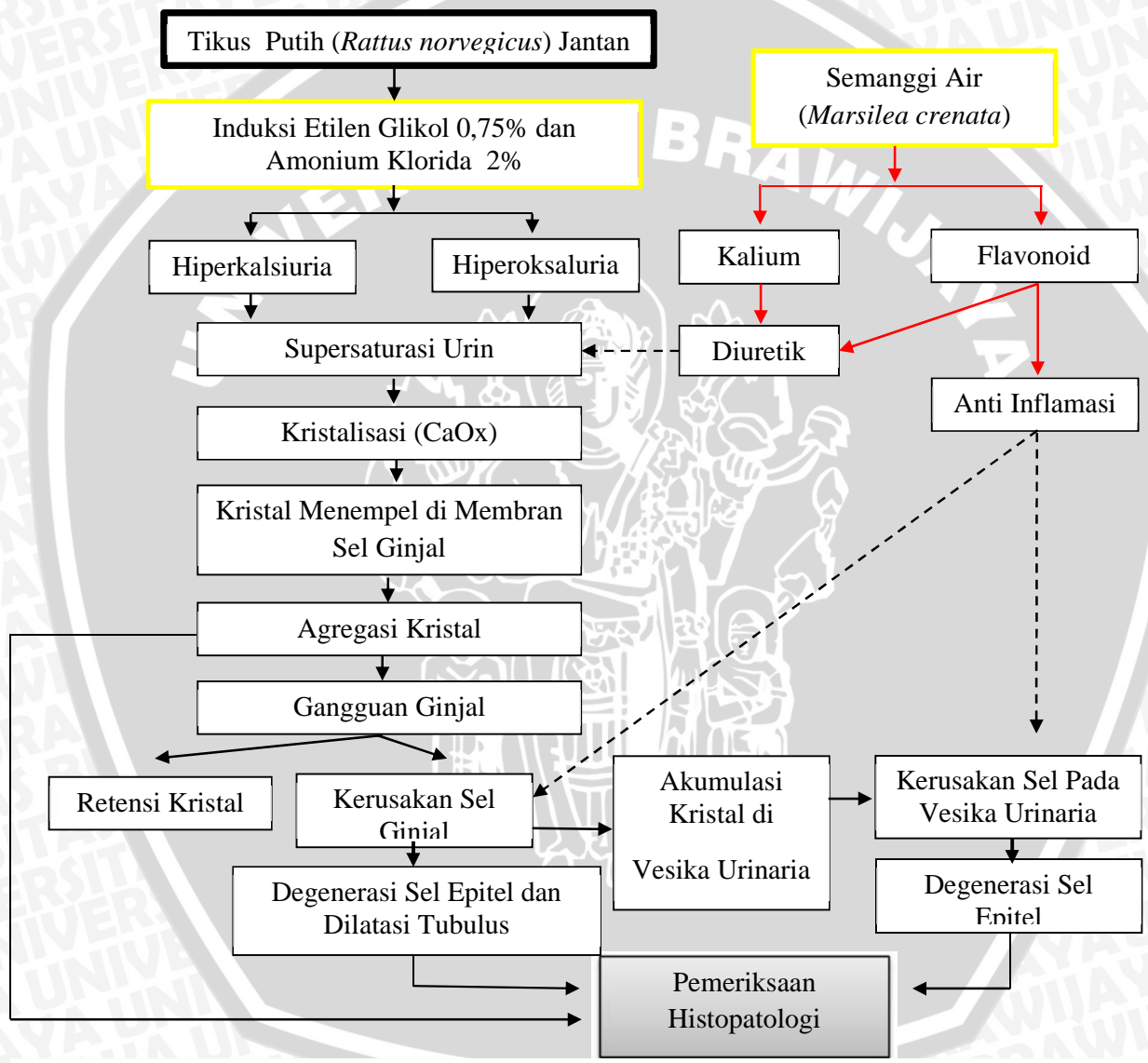
1. Tikus di euthanasi pada hari kesebelas dengan cara dislokasi leher, dibedah, diambil organ ginjal dan vesika urinaria.
2. Sampel organ dicuci dengan menggunakan NaCl fisiologis 0,9 % untuk menghilangkan darah dan kotoran.
3. Sampel organ direndam kedalam larutan *buffer* formalin 40%.
4. Sampel organ di dehidrasi dengan menggunakan larutan etanol secara bertingkat dari konsentrasi 80% sampai dengan absolut. Lama jaringan dalam larutan etanol berkisar antara 10 menit hingga 30 menit.
5. Sample organ di infiltrasi menggunakan perbandingan larutan etanol absolute dan propylene oxide secara bertingkat menggunakan larutan propylene murni. Infiltrasi dilakukan dalam kondisi teragitasi dan pada suhu ruang selama 30 menit untuk setiap tahapannya.
6. Jaringan dipindahkan dari alkohol absolut III ke larutan penjernih (xylol). Penjernihan dilakukan dalam xylol I (1 jam), xylol II (1 jam), dan xylol III (30 menit pada suhu kamar dan 30 menit pada inkubator) untuk proses penjernihan (*clearing*).
7. Organ diinfiltrasi kedalam parafin cair I, parafin cair II, dan parafin cair III (masing-masing 1 jam di dalam oven).
8. Organ yang sudah diinfiltrasi ditanam (*embedding*) kedalam kotak-kotak dengan menggunakan parafin cair dalam dilakukan diatas *hot plate* bersuhu 67°C.
9. Blok parafin dibekukan.



10. Blok parafin dipasang pada mikrotom dan diatur agar posisinya sejajar dengan posisi pisau. Blok parafin dipotong dengan ketebalan 7  $\mu\text{m}$  dengan posisi melintang,
11. Potongan jaringan ditempatkan pada air hangat dengan suhu 37<sup>0</sup> C untuk menghilangkan kerutan lalu ditempatkan pada gelas objek.
12. Preparat yang sudah jadi di deparfinasi dengan menggunakan xylol.
13. Dilanjutkan dengan proses rehidrasi dengan menggunakan alkohol absolut I, II dan III masing-masing 5 menit, alkohol 95%, 90%, 80% dan 70% secara berurutan masing-masing selama 5 menit.
14. Preparat dicuci dengan air mengalir selama 15 menit dan dilanjutkan dengan air aquades selama 5 menit.
15. Preparat diwarnai dengan pewarna Hematoksilin selama 10 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 30 menit dan air aquades selama 5 menit.
16. Preparat diwarnai dengan pewarna Eosin selama 5 menit dan dicuci dengan air mengalir selama 5 menit.
17. Setelah preparat diwarnai, dilakukan dehidrasi dengan alkohol 70%, 80%, 90% dan 95% masing-masing selama beberapa detik, dan dilanjutkan dengan alkohol 100% I, II dan III masing-masing 2 menit.
18. Setelah itu dilakukan proses *Clearing* dengan xilol I, II dan III selama 3 menit dan ditutup dengan gelas penutup.

### BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL

#### 3.1. Kerangka Konseptual



**Keterangan :**

- Variabel Kendali
- Variabel Bebas
- Variabel Tergantung
- Efek Induksi Etilen Glikol dan Amonium Klorida
- Efek Menghambat
- Kandungan Fitokimia

**Gambar 3.1.** Kerangka Konsep Penelitian

Pemberian etilen glikol 0,75% (v/v) dan amonium klorida (w/v) akan menginduksi terjadinya kondisi hiperkalsiuria dan hiperoksaluria. Kondisi hiperkalsiuria dimana kadar kalsium dalam urin meningkat dan hiperoksaluria dimana kadar oksalat dalam urin meningkat pula. Kondisi hiperkalsiuria dan hiperoksaluria akan meningkatkan risiko terbentuknya kalsium oksalat melalui proses supersaturasi dimana urin mengalami kejenuhan. Tingkat kejenuhan yang sangat tinggi tersebut mempercepat terjadinya kristalisasi. Kristal tersebut menempel di membran sel ginjal dan lama kelamaan terjadi agregasi kristal. Proses agregasi kristal menyebabkan terjadinya gangguan ginjal seperti retensi kristal dan kerusakan sel pada ginjal meliputi dilatasi tubulus dan degenerasi sel epitel. Kristal tersebut juga akan berakumulasi di vesika urinaria yang akan menyebabkan kerusakan sel pada vesika urinaria berupa degenerasi sel epitel. Degenerasi sel tersebut dikarenakan terjadinya obstruksi jaringan oleh kristal yang akan memicu terjadinya inflamasi akibat hidronefrosis dan kerusakan endotel.

Semanggi air (*Marsilea crenata*) mengandung kalium dan antioksidan. Kalium berfungsi sebagai diuretik, sedangkan flavonoid berfungsi sebagai antiinflamasi dan diuretik. Fungsi diuretik yaitu meluruhkan kristal dengan menghambat proses saturasi urin dan fungsi antiinflamasi yaitu mengurangi inflamasi yang terjadi pada sel.

### 3.2 Hipotesis Penelitian

Perasan Semanggi Air (*Marsilea crenata*) dapat mencegah urolithiasis dilihat dari gambaran histopatologi ginjal dan vesika urinaria.



## BAB 4 METODE PENELITIAN

### 4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan April hingga Agustus 2013. Tahap pemberian perlakuan hewan model dilaksanakan di Klinik Hewan PKH-UB, tahap pembuatan *slide* histopatologi dilaksanakan di Laboratorium Histologi FK-UB dan tahap pengamatan *slide* histopatologi dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi FK-UB.

### 4.2 Alat dan Bahan

#### a. Perawatan Hewan Model

Kandang yang terbuat dari plastik dengan ukuran 30 x 50 x 12 cm yang ditutup dengan kawat ram sebanyak enam buah, alas sekam, tempat pakan, tempat minum, air mineral dan pakan Phokpand BR2® dengan komposisi yang tercantum pada Lampiran 1.

#### b. Pembuatan Perasan Semanggi Air (*Marsilea crenata*)

Timbangan digital, *juicer*, gelas beker 100 ml, tabung reaksi 8 ml, rak kayu tabung reaksi, sumbat karet tabung reaksi, spuit 10 ml, *sterofoam*, *ice pack*, akuabides, dan Semanggi Air.

#### c. Pembuatan Bahan Induksi

Tabung erlenmeyer, spuit 10 ml, pengaduk kaca, akuabides, etilen glikol 100%, dan amonium klorida 100%.

**d. Alat Pemberian Perlakuan**

Pemberian perlakuan seperti pemberian perasan Semanggi Air dan bahan induksi urolithiasis menggunakan sonde lambung untuk tikus sebesar 18G.

**e. Pembedahan Tikus dan Pengambilan Organ**

*Dissecting set*, pinset, pot obat, PBS, dan formalin.

**f. Pembuatan Slide Histopatologi**

Gelas objek, etanol, xylol, parafin cair, gliserin, alkohol 70%, 95%, 90%, 80% dan 100%, pewarna hematoksilin, dan pewarna eosin,

**g. Pengamatan Histopatologi**

Mikroskop Olympus® tipe BX-51 dan kamera digital Olympus® tipe DP71.

**4.3 Tahapan Penelitian****a. Rancangan Penelitian**

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan *posttest-only control design*.

Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan model dibagi menjadi kelompok perlakuan 1/kontrol negatif (P1), perlakuan 2/kontrol positif (P2), kelompok perlakuan 3 (P3), kelompok perlakuan 4 (P4), kelompok perlakuan 5 (P5), dan kelompok perlakuan 6 (P6). Kelompok perlakuan tercantum dalam Tabel 4.1. Penelitian ini telah mendapatkan sertifikat laik etik No. 421/EC/KEKP/07/2013 dari Komisi Etik FK Universitas Brawijaya yang tercantum pada Lampiran 3.

**Tabel 4.1.** Kelompok Perlakuan

Kelompok	Perlakuan
Kelompok Perlakuan 1/Kontrol Negatif (P1)	Pakan dan air minum.
Kelompok Perlakuan 2/Kontrol Positif (P2)	Pakan, air minum, dan campuran EG 0,75% + AK 2%.sebanyak 12 ml/200 g BB/hari selama 10 hari.
Kelompok Perlakuan 3 (P3)	Pakan, air minum, campuran EG 0,75% + AK 2%.sebanyak 12 ml/200 g BB/hari, dan perasan semanggi air 5% sebanyak 1 ml/100 g BB/hari selama 10 hari.
Kelompok 4 (P4)	Pakan, air minum, campuran EG 0,75% + AK 2%.sebanyak 12 ml/200 g BB/hari, dan perasan semanggi air 10% sebanyak 1 ml/100 g BB/hari selama 10 hari.
Kelompok 5 (P5)	Pakan, air minum, campuran EG 0,75%+ AK 2%.sebanyak 12 ml/200 g BB/hari, dan perasan semanggi air 20% sebanyak 1 ml/100 g BB/hari selama 10 hari.
Kelompok 6 (P6)	Pakan, air minum, campuran EG 0,75%+ AK 2%.sebanyak 12 ml/200 g BB/hari, dan perasan semanggi air 40% sebanyak 1 ml/100 g BB/hari selama 10 hari.

**Keterangan :**

EG Etilen Glikol  
 AK Amonium Klorida

**b. Penetapan Sampel Penelitian**

Kriteria hewan model yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar, berkelamin jantan, umur  $\pm$  2 minggu, berat badan  $\pm$  175–200 g (Lampiran 2). Hewan model didapatkan dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) UGM, Yogyakarta



Banyaknya pengulangan yang diperlukan dalam penelitian dihitung dengan menggunakan rumus  $p(n-1) \geq 15$  (Kusriningrum, 2008).

$$p(n-1) \geq 15$$

$$6(n-1) \geq 15$$

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 4$$

**Keterangan :**

p = jumlah perlakuan

n = jumlah minimal ulangan yang diperlukan

Berdasarkan hasil perhitungan tersebut, untuk enam kelompok perlakuan yaitu perlakuan 1/kontrol negatif (P1), perlakuan 2/kontrol positif (P2), perlakuan 3 (P3), perlakuan 4 (P4), perlakuan 5 (P5), dan perlakuan 6 (P6) diperlukan jumlah ulangan minimal empat kali dalam setiap kelompok. Penelitian ini menggunakan enam kali ulangan dalam setiap kelompok sehingga jumlah seluruh tikus yang digunakan sebanyak 24 ekor.

Hewan model belum pernah digunakan dalam penelitian sebelumnya dan dalam kondisi sehat yang dapat diamati secara fisik seperti tidak cacat, mata bersinar, rambut mengkilap, aktivitas lincah, dan nafsu makan baik.

**c. Karakteristik Tanaman dan Penetapan Dosis Perasan Semanggi Air**  
(*Marsilea crenata*)

Semanggi Air yang digunakan dalam penelitian ini telah mendapatkan sertifikat determinasi tanaman yang terlampir dalam Lampiran 4. Tanaman yang digunakan hanya berasal dari UPT. Materia Medica–Kota Batu untuk meminimalkan risiko jumlah kandungan fitokimia yang berbeda apabila Semanggi Air diambil dari tempat lain. Ciri khas dari tanaman ini adalah berdaun

empat dan biasa dijumpai pada area persawahan. Bagian tanaman yang digunakan adalah daun dan tangkai dalam kondisi yang masih segar.

Konsentrasi perasan Semanggi Air yang digunakan adalah konsentrasi bertingkat. Konsentrasi tersebut merujuk pada penelitian yang dilakukan oleh Jagannath, *et al.* (2012) yaitu 5%, 10%, 20%, dan 40%. Perasan tersebut diberikan sebanyak 2 ml per ekor per hari dengan menggunakan alat sonde.

#### **d. Penetapan Dosis Bahan Induksi Urolithiasis**

Penggunaan bahan induksi dalam penelitian ini merujuk pada penelitian Anggraeni (2013) yaitu etilen glikol 0,75% (v/v) dan amonium klorida 2% (w/v) yang diberikan dengan menggunakan alat sonde lambung sebanyak 2 ml., perhitungan dosis tersebut tercantum dalam Lampiran 5. Etilen glikol didapatkan dalam konsentrasi 100% (v/v) dan amonium klorida didapatkan dalam konsentrasi 100% (w/v) yang dilarutkan dalam akubides hingga mencapai konsentrasi tersebut.

#### **e. Variabel Penelitian**

Variabel dalam penelitian ini adalah :

- variabel bebas : Perasan Semanggi Air, campuran etilen glikol 0,75% dan amonium klorida 2%,
- variabel tergantung : histopatologi ginjal dan vesika urinaria,
- variabel kendali : a) variabel kendali tikus putih meliputi berat badan, umur, galur, dan jenis kelamin.  
b) variabel kendali semanggi air meliputi kondisi yang masih segar, warna daun, dan umur tanaman.

#### f. Penetapan Nilai Skoring dan Analisa Data

Data yang diambil dari penelitian ini berupa hasil skoring gambaran histopatologi ginjal bagian kanan, ginjal bagian kiri, dan vesika urinaria. Metode skoring kerusakan jaringan ginjal dan vesika urinaria merujuk pada penelitian Aryanti, R. (2011) yang tercantum pada Lampiran 6. Data skoring dalam penelitian ini dianalisis dengan statistik non-parametrik menggunakan uji *Kruskal–Wallis*, jika diperoleh hasil yang signifikan dilanjutkan dengan uji *Mann–Whitney* dengan taraf kepercayaan 99% ( $\alpha=0,01$ ) untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan. Hasil skoring ginjal bagian kanan dan ginjal bagian kiri diuji dengan menggunakan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui adanya perbedaan. Data adanya kristal dianalisis secara deskriptif (Khan, *et al*, 2011).

#### 4.4 Prosedur Kerja

##### a. Persiapan Hewan Model

Hewan model diadaptasikan terhadap lingkungan selama tujuh hari (Susilawati, dkk., 2003) sebelum digunakan dalam penelitian. Hewan model diberi minum secara *ad libitum* dan pakan sebanyak 10% berat badan yaitu sekitar 20 g setiap pagi dan sore hari (Lina, dkk., 2003).

Hewan model diletakkan pada kandang kelompok yang masing-masing berisi empat ekor tikus. Lantai kandang beralaskan sekam sehingga mudah dibersihkan. Lokasi kandang tikus berada pada tempat dengan suhu ruang, bebas dari kebisingan, dan bebas dari polutan.



**b. Pembuatan Perasan Semanggi Air (*Marsilea crenata*)**

Prosedur pembuatan perasan Semanggi Air tercantum dalam Lampiran 7.1.

**c. Pembuatan Bahan Induksi Urolithiasis**

Prosedur pembuatan bahan induksi urolithiasis tercantum dalam Lampiran 7.2.

**d. Perlakuan Penelitian**

Hewan model diberi perlakuan selama sepuluh hari sesuai dengan kelompoknya masing-masing yaitu P1, P2, P3, P4, P5, dan P6. Pemberian bahan induksi urolithiasis dan perasan Semanggi Air menggunakan sonde lambung 18G.

**e. Pembedahan dan Pengambilan Organ**

Prosedur pembuatan bahan induksi urolithiasis tercantum dalam Lampiran 7.3.

**f. Pembuatan *Slide* Histopatologi**

Prosedur pembuatan *slide* histopatologi tercantum dalam Lampiran 7.4.

**g. Pengamatan Histopatologi**

Gambaran histopatologi diamati adanya kristal dan kerusakan jaringan, diberi skor untuk kerusakan jaringan, dan difoto sebagai dokumentasi. Pengamatan histopatologi menggunakan mikroskop cahaya Olympus® tipe BX-51 dan kamera digital merk Olympus® tipe DP71. Pengamatan dilakukan pada 5 lapang pandang dengan perbesaran 400 x. Pemberian skor pada kerusakan jaringan ginjal dan vesika urinaria merujuk pada penelitian Ariyanti (2010) yaitu, skor 0 (normal), skor 1 (degenerasi hidropis dan edema), skor 2 (degenerasi lemak dan kongesti), skor 3 (nekrosa, peradangan, dan hemorrhage).

## BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan pengamatan kerusakan jaringan pada ginjal bagian kanan, ginjal bagian kiri dan vesika urinaria dengan menggunakan metode skoring menurut Ariyanti (2011). Data dianalisis dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dengan taraf kepercayaan 99% ( $p = 0,01$ ). Data skoring kerusakan ginjal kanan dan kiri tersebut dilakukan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui adanya perbedaan kerusakan. Data skoring kerusakan jaringan pada ginjal dan vesika urinaria tercantum dalam Lampiran 9. Pengamatan adanya endapan kristal pada ginjal dan vesika urinaria dianalisis secara deskriptif.

### **5.1 Pengaruh Pemberian Perasan Semanggi Air (*Marsilea crenata*) Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal.**

Hasil perhitungan skor kerusakan ginjal bagian kanan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa nilai sebesar 0,003 ( $p < 0,01$ ) yang berarti terdapat perbedaan yang sangat nyata. Hasil perhitungan skor kerusakan ginjal bagian kanan dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* tercantum dalam Tabel 5.1, dapat dilihat bahwa skor kerusakan ginjal tertinggi pada semua kelompok perlakuan terdapat pada kelompok P2 (kontrol positif) yaitu sebesar 21,12. Skor kerusakan ginjal terendah pada semua kelompok perlakuan terdapat pada kelompok P1 (kontrol negatif) yaitu sebesar 3,50. Diantara empat kelompok perlakuan, kelompok P6 yang diberi perasan Semanggi Air 40% memiliki skor kerusakan terendah yaitu sebesar 6,75, kelompok P4 yang diberi perasan

Semanggi Air 5% dengan skor kerusakan sebesar 11,75, kelompok P5 yang diberi perasan Semanggi Air 10% dengan skor kerusakan sebesar 15,25, dan kelompok P3 yang diberi perasan Semanggi Air 20% dengan skor kerusakan sebesar 16,62.

**Tabel 5.1.** Data Hasil Uji *Kruskal-Wallis* Pada Tubulus Ginjal Bagian Kanan (X).

KELOMPOK PERLAKUAN	SKOR KERUSAKAN
P1	3,50
P2	21,12
P3	16,62
P4	11,75
P5	15,25
P6	6,75

Hasil pengujian *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa nilai kerusakan ginjal bagian kiri sebesar 0,003 ( $p < 0,01$ ) yang berarti terdapat perbedaan yang sangat nyata. Hasil perhitungan skor kerusakan pada ginjal bagian kiri tercantum dalam Tabel 5.2. Berdasarkan data tersebut, dapat dilihat bahwa skor kerusakan ginjal tertinggi pada semua kelompok perlakuan terdapat pada kelompok P2 (kontrol positif) yaitu sebesar 21,12. Skor kerusakan ginjal terendah pada semua kelompok perlakuan terdapat pada kelompok P1 (kontrol negatif) yaitu sebesar 3,50. Pada kelompok P3 yang diberi perasan Semanggi Air 5% memiliki skor kerusakan sebesar 15,75, pada kelompok P4 yang diberi perasan Semanggi Air 10% memiliki skor kerusakan sebesar 13,88, sedangkan pada kelompok P5 yang diberi perasan Semanggi Air 20% dan kelompok P6 yang diberi perasan Semanggi Air 40% memiliki skor kerusakan yang sama yaitu sebesar 9,88.



**Tabel 5.2.** Data Hasil Uji *Kruskal-Wallis* Pada Ginjal Bagian Kiri (Y).

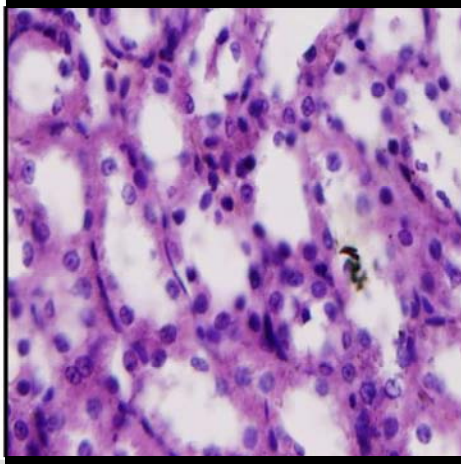
KELOMPOK PERLAKUAN	SKOR KERUSAKAN
P1	3,50
P2	21,12
P3	15,75
P4	13,88
P5	9,88
P6	9,88

**Tabel 5.3.** Hasil Pengamatan Endapan Kristal Pada Tubulus Ginjal (Perbesaran 400x).

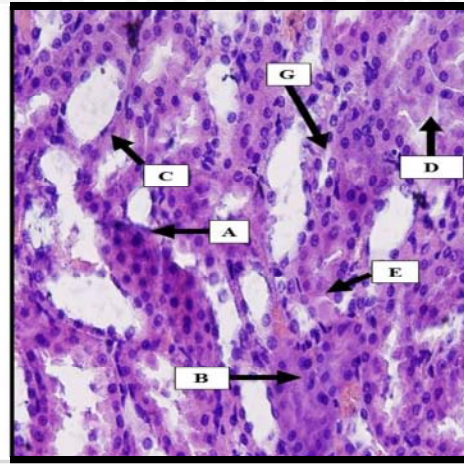
KELOMPOK PERLAKUAN	ENDAPAN KRISTAL							
	GINJAL KANAN				GINJAL KIRI			
	U1	U2	U3	U4	U1	U2	U3	U4
P1	-	-	-	-	-	-	-	-
P2	+	++	++	+	++	++	++	+
P3	+	-	+	+	+	-	-	+
P4	-	-	+	-	+	-	-	-
P5	+	-	-	-	-	+	-	-
P6	-	-	-	-	-	-	-	-

**Keterangan :**  
 (-) : tidak ditemukan adanya endapan kristal kalsium oksalat  
 (+) :  $\leq 10$  kristal kalsium oksalat  
 (++) :  $\leq 30$  kristal kalsium oksalat  
 (+++) :  $\leq 50$  kristal kalsium oksalat  
 (++++) :  $\leq 75$  kristal kalsium oksalat  
 (+++++) :  $> 75$  kristal kalsium oksalat (Khan, *et al.*, 2011).  
 U1 : ulangan 1                      U3 : ulangan 3  
 U2 : ulangan 2                      U4 : ulangan 4

Hasil pengamatan adanya endapan kristal pada ginjal yang tercantum dalam Tabel 5.3 dengan pengamatan dibawah mikroskop perbesaran 400x menunjukkan bahwa pada kelompok P1 tidak ditemukan adanya kristal kalsium oksalat baik pada kedua bagian ginjal. Pada kelompok P2 ditemukan adanya endapan kristal pada seluruh ginjal. Pada kelompok P3 ditemukan adanya kristal pada 6 ginjal. Kelompok P4 dan P5 terlihat adanya penurunan jumlah endapan kristal, sedangkan kelompok P6 tidak ditemukan adanya endapan kristal.



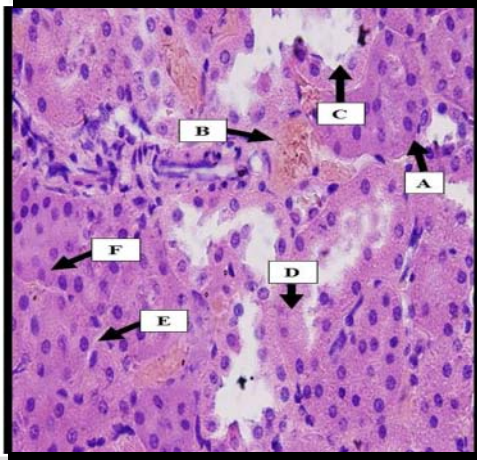
**Gambar 5.1.** Histologi Tubulus Ginjal Kelompok P1 Pewarnaan HE Perbesaran 400x.



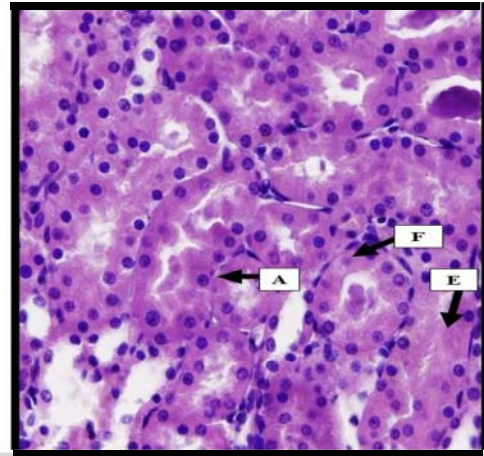
**Gambar 5.2.** Histopatologi Tubulus Ginjal Kelompok P2 Pewarnaan HE Perbesaran 400x (A:Peradangan, B:Hemorrhagie, C:Kristal, D:Degenerasi Lemak, E:Nekrosis, G:Edema).

Gambar 5.1 menunjukkan keadaan normal tubulus pada kelompok P1 (kontrol negatif) dimana kondisi lumen lebar dan sel epitelial yang masih utuh. Gambar 5.2 merupakan gambar histopatologi tubulus ginjal kelompok P2 (kontrol positif) yang diberi induksi campuran etilen glikol 0,75% dan amonium klorida 2%. Kerusakan yang terjadi meliputi peradangan, hemorrhagie, degenerasi lemak, nekrosis, dan edema. Kondisi peradangan pada Gambar 5.2 terlihat berwarna ungu tebal dan lebih gelap, hal tersebut terjadi akibat adanya kerusakan sel yang disebabkan zat toksik dari oksidasi etilen glikol. Kondisi hemorrhagie disebabkan adanya trauma pada sel epitel akibat kristal. Degenerasi lemak dalam Gambar 5.2 tampak kondisi batas antar sel epitel yang mulai memudar akibat daya toksisitas dari etilen glikol yang kuat sehingga menyebabkan sel tidak mampu mengoksidasi lemak. Nekrosis yang terjadi dalam Gambar 5.2 berjenis kariolisis dimana inti sel hilang dan pudarnya batas antar sel, selain itu juga dijumpai adanya edema yang ditunjukkan adanya penyempitan lumen tubulus.





**Gambar 5.3.** Histopatologi Tubulus Ginjal Kelompok P3 Pewarnaan HE Perbesaran 400x (A:Peradangan, B:Hemorragie, C:Kristal, D:Degenerasi Lemak, E:Nekrosis, F: Degenerasi Hidropis).

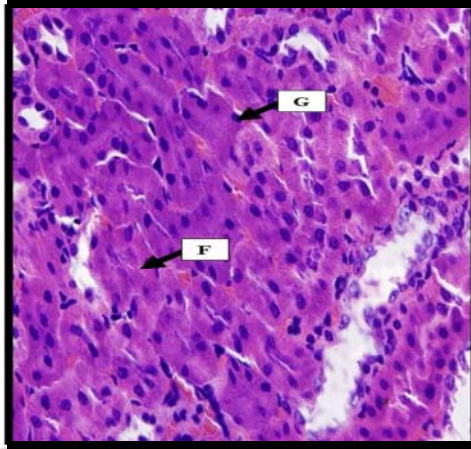


**Gambar 5.4.** Histopatologi Tubulus Ginjal Kelompok P4 Pewarnaan HE Perbesaran 400x (A:Peradangan, E:Nekrosis, F: Degenerasi Hidropis).

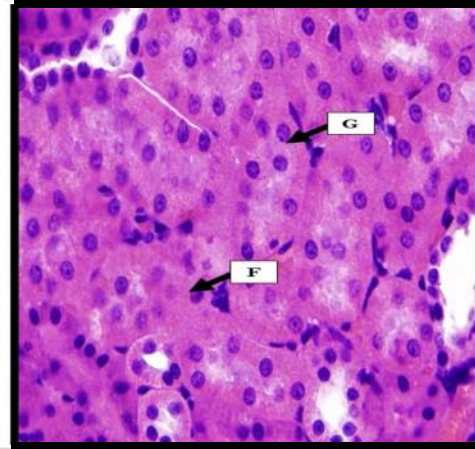
Gambar 5.3 merupakan gambar histopatologi kelompok P3 yang diberi perasan Semanggi Air 5%. Dalam gambar tersebut masih ditemukan peradangan, hemorrhagie yang disebabkan trauma pada sel epitel akibat adanya kristal, degenerasi lemak, nekrosis yang berjenis kariolisis, dan degenerasi hidropis. Induksi etilen glikol dalam jangka waktu panjang mengakibatkan deposit kristal polymorphic yang berbentuk *irreguler* pada tubulus ginjal, sehingga terjadi inflamasi, adhesi, dan retensi pada tubulus ginjal ginjal (Soundararajan, *et al.*, 2006). Nekrosis terjadi akibat adanya degenerasi sel yang berkelanjutan (Cheville, 1999).

Gambar 5.4 merupakan gambar histopatologi kelompok P4 yang diberi perasan Semanggi Air 10%. Kondisi tubulus yang mulai membaik, dimana hemorrhagie akibat adanya kristal tidak ditemukan lagi. Peradangan, nekrosis, dan degenerasi hidropis masih ditemukan dalam kondisi tersebut.





**Gambar 5.5.** Histopatologi Tubulus Ginjal Kelompok P5 Pewarnaan HE Perbesaran 400x (E:Nekrosis, F: Degenerasi Hidropis).



**Gambar 5.6.** Histopatologi Tubulus Ginjal Kelompok P6 Pewarnaan HE Perbesaran 400x (E:Nekrosis, F: Degenerasi Hidropis).

Pada Gambar 5.5 (kelompok P5 yang diberi perasan Semanggi Air 20%) dan Gambar 5.6 (kelompok P6 yang diberi perasan Semanggi Air 40%) menunjukkan adanya perbaikan kondisi tubulus ginjal. Hal tersebut ditunjukkan dengan tidak adanya peradangan, hemorrhagie akibat adanya kristal, degenerasi lemak, dan nekrosis. Dalam kedua gambar tersebut hanya tampak degenerasi hidropis dan edema. Degenerasi hidropis merupakan pembengkakan pada sitoplasma yang disebabkan adanya akumulasi cairan yang berlebih akibat gagal mempertahankan homeostasis dan regulasi cairan dalam sel (Underwood, 1992). Degenerasi hidropis ditunjukkan dengan kondisi inti sel yang berwarna lebih cerah dan memudar. Edema ditunjukkan dengan kondisi lumen tubulus ginjal yang menyempit akibat ukuran sel epitel tubulus yang membesar sehingga antar tubulus akan merenggang. Kondisi edema tersebut terjadi akibat adanya permeabilitas dalam sel meningkat sehingga memungkinkan kalium berdifusi ke dalam sel dan diikuti dengan proses osmosis air ke dalam sel.

Perasan Semanggi Air dengan konsentrasi 40% yang diberikan pada tikus dalam kelompok P6 efektif mencegah terjadinya urolithiasis. Berdasarkan data hasil uji *Kruskall-Wallis* ginjal bagian kanan dalam Tabel 5.1 dan ginjal bagian kiri dalam Tabel 5.2 menunjukkan bahwa, kelompok P6 yang diberi perasan Semanggi air dengan konsentrasi 40% memiliki skor kerusakan sel terendah diantara kelompok P3 yang diberi perasan Semanggi Air 5%, kelompok P4 yang diberi perasan Semanggi Air 10%, dan kelompok P5 yang diberi perasan Semanggi Air 20%. Dalam Tabel 5.3 diketahui bahwa, pada kelompok P6 tidak ditemukan adanya endapan kristal. Selain itu, dalam Gambar 5.6. menunjukkan adanya perbaikan sel.

Penelitian ini menggunakan campuran etilen glikol 0,75% dan amonium klorida 2% sebagai bahan induksi terjadinya urolithiasis. Etilen glikol dapat meningkatkan aktifitas enzim sintesis oksalat seperti *Glycolic Acid Oxidase* (GAO) yang diproduksi di hati dan *Lactate Dehydrogenase* (LDH) yang diproduksi di hati dan ginjal. Oksalat dalam kadar yang tinggi diketahui menyebabkan terjadinya apoptosis dan nekrosis sel epitel ginjal karena efek toksin yang dikeluarkan mampu mengkorosifkan sel (Tsujiyata, *et al.*, 2006) (Joshi, S., 2012). Kondisi hiperoksaluria tersebut, menyebabkan pengendapan kristal sehingga mengaktivasi angiotensin II untuk menstimulus terbentuknya NADPH oksidase yang akan menghasilkan *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) sehingga muncul stres oksidatif yang berpeluang melepas faktor pro apoptosis dan terjadi disfungsi pada mitokondria. Pelepasan faktor pro apoptosis yang berasal dari depolarisasi mitokondria menyebabkan apoptosis sehingga terjadi kerusakan sel



(Deepika, *et al.*, 2013). Amonium klorida dapat menurunkan ekskresi sitrat dan meningkatkan oksidasi pada urin (Fan, *et al.*, 1999). Deposit kristal tampak berbentuk seperti kelopak bunga mawar (*rosette*), dapat merefleksikan cahaya sehingga terpolarisasi dibawah mikroskop dan tampak berwarna hitam-putih (*birefringent*), tersusun atas kristal dalam jumlah yang banyak dengan berbagai ukuran dan orientasi (*polycrystalline*) (Atmani, *et al.*, 2004).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Nurjannah, dkk. (2012), Semanggi Air mengandung flavonoid yang merupakan senyawa antioksidan. Kandungan flavonoid tersebut tidak berubah apabila dilakukan proses pemanasan seperti pengukusan (Kristiono, 2009). Flavonoid bekerja menghambat urolithiasis dengan cara menghentikan produksi *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) sehingga tidak terjadi stres oksidatif yang akan menyebabkan terjadinya kerusakan sel seperti obstruksi pada saluran perkemihan.

Kandungan lain dalam Semanggi Air adalah kalium yang berfungsi sebagai diuretik. Kadar kalium yang sangat tinggi akan menurunkan kadar kalsiuria, sehingga pembentukan kristal kalsium oksalat dapat dihambat (Agarwal, 2011). Semakin tinggi konsentrasi perasan Semanggi Air yang diberikan maka volume urin juga akan meningkat (Murwani dan Lelyta, 2013).

Dalam penelitian ini uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui adanya perbedaan antara ginjal bagian kanan dan ginjal bagian kiri. Data hasil uji *Mann-Whitney* tercantum dalam Tabel 5.4. Data tersebut menunjukkan bahwa pada kelompok P1 (kontrol negatif), kelompok P2 (kontrol positif), kelompok P4 yang diberi perasan Semanggi Air 10%, dan kelompok P6 yang diberi perasan



Semanggi Air 40% menunjukkan nilai sebesar 1,00 ( $p > 0,01$ ) yang berarti tidak terdapat perbedaan skor kerusakan pada ginjal kanan dan kiri. Pada kelompok P3 yang diberi perasan Semanggi Air 5% dengan nilai sebesar 0,343 ( $p > 0,01$ ) yang berarti tidak terdapat perbedaan skor kerusakan pada ginjal kanan dan kiri. Pada kelompok P5 yang diberi perasan Semanggi Air 20% dengan nilai sebesar 0,040 ( $p > 0,01$ ) berarti tidak terdapat perbedaan skor kerusakan pada ginjal kanan dan kiri.

**Tabel 5.4.** Hasil Uji *Mann-Whitney* Pada Ginjal Bagian Kanan dan Kiri.

KELOMPOK PERLAKUAN	Nilai Signifikansi	Notasi
P1	1,000	-
P2	1,000	-
P3	0,343	-
P4	1,000	-
P5	0,040	-
P6	1,000	-

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Onyeanusu, *et al.* (2009) menggunakan tikus (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar diketahui adanya perbedaan antara berat ginjal kanan dan ginjal kiri. Ginjal kanan lebih berat dibandingkan ginjal kiri, selain itu letak ginjal kiri lebih atas dibandingkan ginjal kanan. Apabila salah satu bagian ginjal mengalami kerusakan maka ginjal bagian lain akan melakukan kompensasi dengan cara mempertahankan laju filtrasi glomerulus sehingga keseimbangan antara cairan dan elektrolit tetap terjaga.

## 5.2 Pengaruh Pemberian Perasan Semanggi Air (*Marsilea crenata*) Terhadap Gambaran Histopatologi Vesika Urinaria.

Berdasarkan hasil pengujian *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa nilai signifikan sebesar 0,003 ( $p < 0,01$ ) yang berarti terdapat perbedaan yang sangat nyata. Hasil skoring menurut Ariyanti (2011) tentang kerusakan pada vesika urinaria yang tercantum dalam Tabel 5.5, dapat dilihat bahwa skor kerusakan ginjal tertinggi pada semua kelompok perlakuan terdapat pada kelompok P2 (kontrol positif) yang diberi induksi urolithiasis berupa campuran etilen glikol 0,75% dan amonium klorida 2% sebesar 22,25. Skor kerusakan ginjal terendah pada semua kelompok perlakuan terdapat pada kelompok P1 (kontrol negatif) yang hanya diberi pakan dan minum saja sebesar 4,00. Diantara empat kelompok perlakuan yang diberi induksi urolithiasis berupa campuran etilen glikol 0,75% dan amonium klorida 2% serta perasan Semanggi Air, kelompok P6 (perasan Semanggi Air 40%) memiliki skor terendah yaitu sebesar 8,50, kelompok P3 (perasan Semanggi Air 5%) dan kelompok P4 (perasan Semanggi Air 10%) dengan skor kerusakan sebesar 14,75, sedangkan kelompok P5 (perasan Semanggi Air 20%) dengan skor kerusakan sebesar 10,75.

**Tabel 5.5.** Data Hasil Uji *Kruskal-Wallis* Pada Vesika Urinaria.

KELOMPOK PERLAKUAN	SKOR KERUSAKAN
P1	4,00
P2	22,25
P3	14,75
P4	14,75
P5	10,75
P6	8,50

Data yang tercantum pada Tabel 5.6, diketahui bahwa pada semua perlakuan P1, P5, dan P6 tidak ditemukan adanya endapan kristal. Kelompok P3 menunjukkan adanya endapan kristal. Pada kelompok P2 ditemukan adanya endapan kristal pada semua ulangan. Pada kelompok P3 dan P4 terjadi pengurangan endapan kristal.

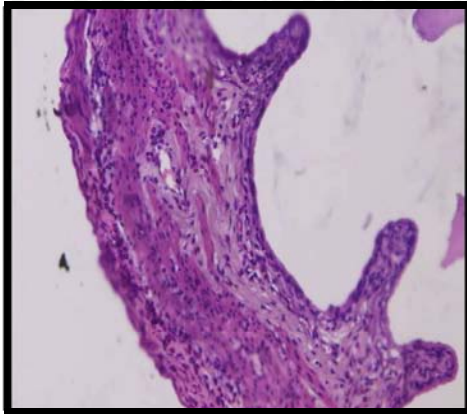
**Tabel 5.6.** Hasil Pengamatan Endapan Kristal Pada Vesika Urinaria (Perbesaran 400x).

KELOMPOK PERLAKUAN	ENDAPAN KRISTAL			
	U1	U2	U3	U4
P1	-	-	-	-
P2	+	+	+	+
P3	+	+	-	+
P4	+	-	-	-
P5	-	-	-	-
P6	-	-	-	-

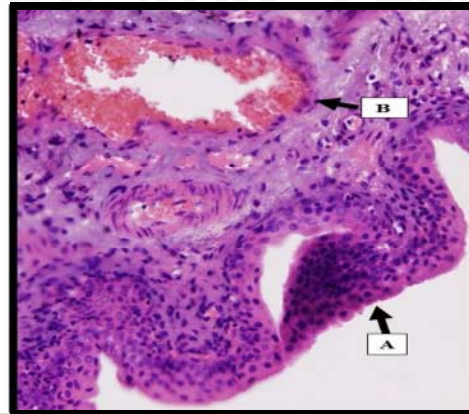
**Keterangan :**  
 U1 ulangan 1  
 U2 ulangan 2  
 U3 ulangan 3  
 U4 ulangan 4  
 (-) tidak ditemukan adanya endapan kristal kalsium oksalat  
 (+) ≤ 10 kristal kalsium oksalat  
 (++) ≤ 30 kristal kalsium oksalat  
 (+++) ≤ 50 kristal kalsium oksalat  
 (++++) ≤ 75 kristal kalsium oksalat  
 (+++++) > 75 kristal kalsium oksalat (Khan, *et al.*, 2011).

Semanggi Air yang mengandung kalium dan flavonoid yang berfungsi sebagai diuretik. Kandungan tersebut menghambat proses supersaturasi urin dimana urin dalam kondisi jenuh dan menghambat ikatan antara kalsium dengan asam oksalat sehingga kristal kalsium oksalat tidak terbentuk. Kalium dan flavonoid berikatan dengan senyawa oksalat membentuk senyawa garam yang bersifat mudah larut dalam air dan akan keluar bersama urin. Selain kandungan kalium dan flavonoid, Semanggi Air juga mengandung saponin dan fenol.

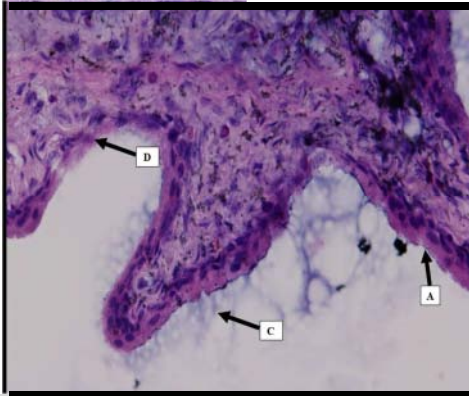




**Gambar 5.7.** Histologi Vesika Urinaria Kelompok P1 Pewarnaan HE Perbesaran 400x.

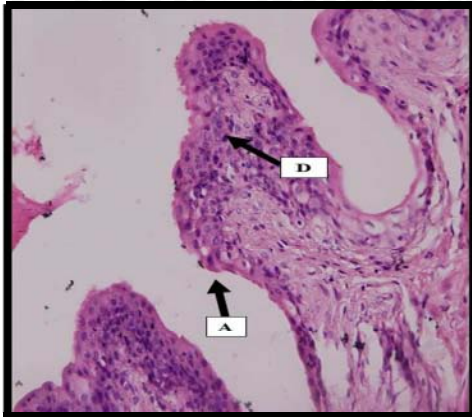


**Gambar 5.8.** Histopatologi Vesika Urinaria Kelompok P2 Pewarnaan HE Perbesaran 400x (A:Peradangan, B: Hemorrhagie).



**Gambar 5.9.** Histopatologi Vesika Urinaria Kelompok P3 Pewarnaan HE Perbesaran 400x (A:Peradangan, C:Kristal, D:Degenerasi Hidropis).

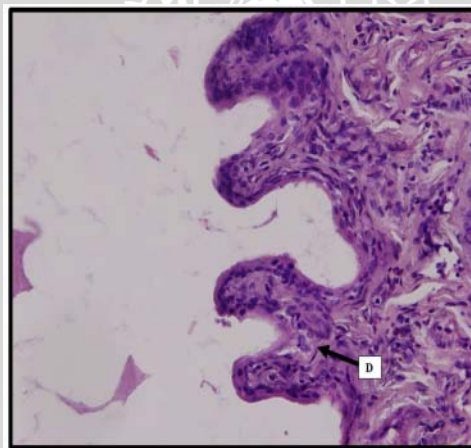
Gambar 5.7 merupakan gambar vesika urinaria kelompok P1 (kontrol negatif) dalam kondisi normal yang ditunjukkan dengan kondisi sel epitel transisional dalam keadaan utuh. Gambar 5.8 menunjukkan terjadi peradangan pada sel epitel yang tampak berwarna ungu dan lebih gelap, serta terjadi hemorrhagie akibat trauma kristal pada kelompok P2 yang diberi induksi etilen glikol 0,75% dan amonium klorida 2%. Gambar 5.9 menunjukkan adanya endapan kristal yang berwarna kehitaman di bagian lumen, terjadi peradangan, dan degenerasi hidropis pada kelompok P3 yang diberi perasan Semanggi Air 5%.



**Gambar 5.10.** Histopatologi Vesika Urinaria Kelompok P4 Pewarnaan HE Perbesaran 400x (A:Peradangan, D: Degenerasi Hidropis).



**Gambar 5.11.** Histopatologi Vesika Urinaria Kelompok P5 Pewarnaan HE Perbesaran 400x (D: Degenerasi Hidropis).

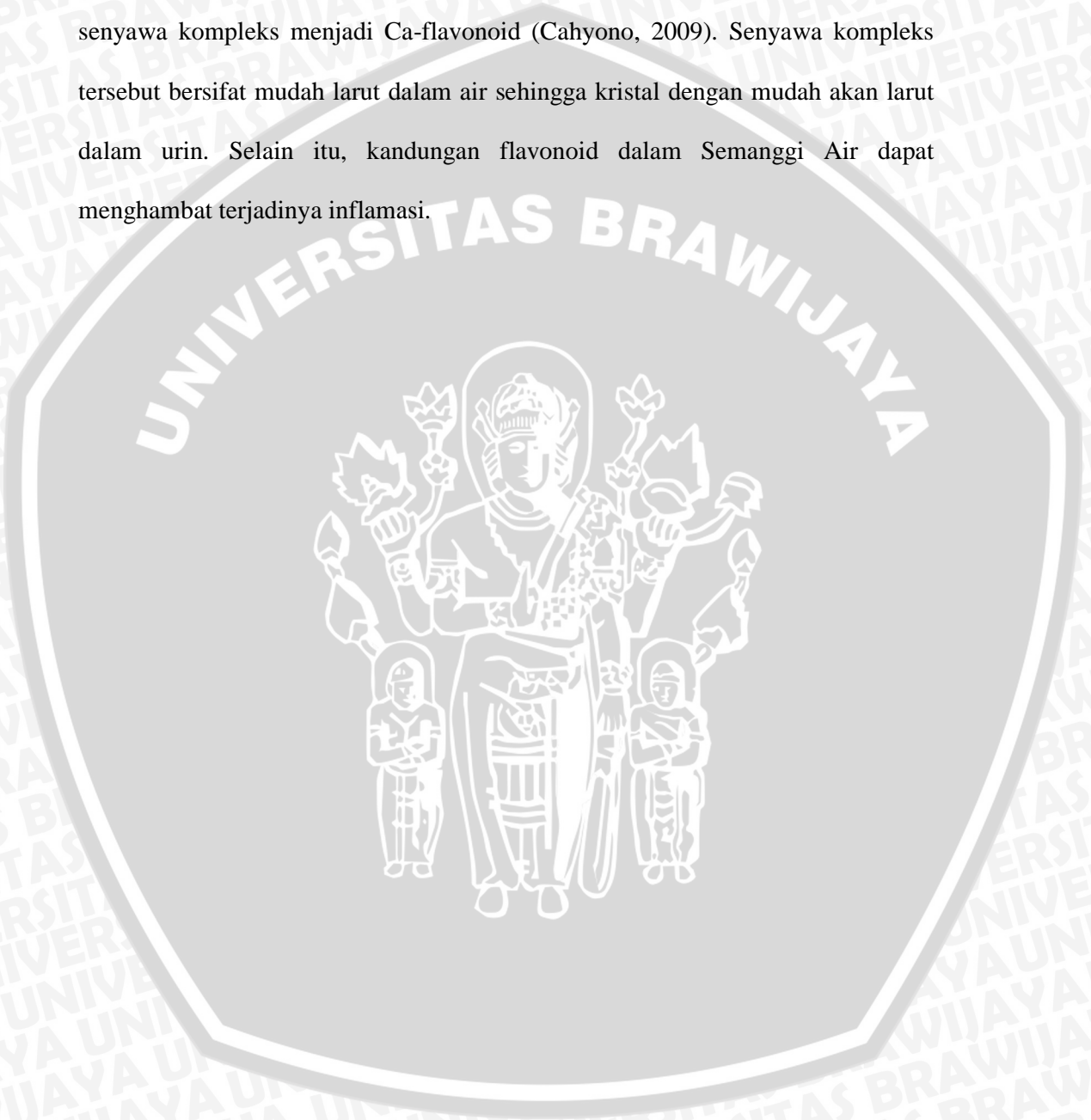


**Gambar 5.12.** Histopatologi Vesika Urinaria Kelompok P5 Pewarnaan HE Perbesaran 400x (D: Degenerasi Hidropis).

Pada gambar 5.10 yang merupakan gambar histopatologi vesika urinaria kelompok P4 yang diberi perasan Semanggi Air 10%, menunjukkan masih terjadi peradangan disertai adanya degenerasi hidropis. Kondisi vesika urinaria kelompok P5 yang diberi perasan Semanggi Air 20% pada gambar 5.11 dan kelompok P6 yang diberi perasan Semanggi Air 40% pada gambar 5.12 menunjukkan adanya perbaikan kondisi sel epitel.



Semanggi Air juga mengandung flavonoid yang berperan sebagai pemecah kristal kalsium oksalat. Flavonoid akan berikatan dengan kalsium membentuk senyawa kompleks menjadi Ca-flavonoid (Cahyono, 2009). Senyawa kompleks tersebut bersifat mudah larut dalam air sehingga kristal dengan mudah akan larut dalam urin. Selain itu, kandungan flavonoid dalam Semanggi Air dapat menghambat terjadinya inflamasi.





## BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil skoring gambaran histopatologi ginjal dan vesika urinaria, disimpulkan bahwa perasan Semangi Air (*Marsilea crenata*) pada konsentrasi 40% efektif mencegah terjadinya urolithiasis pada hewan model yang diinduksi campuran etilen glikol 0,75% dan amonium klorida 2% karena dapat menghambat terbentuknya kristal dan mengurangi kerusakan sel.

### 6.2 Saran

Perlu dilakukan penimbangan berat ginjal karena diduga adanya endapan kristal kalsium oksalat pada ginjal dapat menambah berat ginjal dan penggunaan pewarnaan khusus kristal kalsium oksalat untuk memudahkan proses pengamatan histopatologi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adjene, J.O. and E.U. Nwose. 2010. *Histological Effects of Chronic Administration of Phyllanthus amarus On The Kidney of Adult Wistar Rat*. North Am J Med Sci. 2(4):193-5
- Afriastini, J.J. 2003. *Marsilea crenata C. Presl., Cryptograms: Ferns and fern allies*. LIPI. Bogor.
- Agarwal, M.M, S.K. Singh and A.K. Mandal. 2011. *Preventive Fluid and Dietary Therapy For Urolithiasis : An Appraisal of Stregth, Controversies and Lecunae of Current Literature*. Indian Journal of Urology 27 (3) : 310-319.
- Anggraeni, S. 2013. *Uji Aktivitas Penghambatan Pembentukan Batu Ginjal (Anti Nefrolitiasis) Ektrak Etanol Dari Herbal Pegagan (Centella Asiantica (L) (Urban) Pada Tikus Putih Jantan [Skripsi]*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Anggriani, Y.D.. 2008. *Pengaruh Pemberian Teh Kombucha Dosis Bertingkat Per Oral Terhadap Gambaran Histologi Ginjal Mencit BAL B/C [Skripsi]*. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Arifin, M. 2009. *Analisis Mikroskopi dan Kandungan Mineral Semanggi Air Marsilea crenata Prel. (Marsileaceae) [Skripsi]*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Aryanti, R. 2010. *Aktivitas Alkalin Fosfatase Serum dan Gambaran Histopatologi Gibjal Tikus Yang Diberi Kelapa Kopyor Pasca Induksi Parasetamol [Skripsi]*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Instintut Pertanian Bogor. Bogor.
- Atmani, F., Y. Slimani, M. Mimouni, M. Aziz, B. Hacht, and A. Ziyat .2004. *Effect of Aquos Extract From Herniaria hirsuta L. On Experimentally Nephrolithiasic Rats*. Journal Ethnopharmacol 95 : 87.
- Brunner and Suddarth. 2001. *Keperawatan Medikal Bedah . Edisi 8 Volume 2*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Buffington, CAT. 2001. *Dry Foods and Risk of Disease In Cats*. Can Vet J. 49 (6) : 561-563.
- Butterweck, V. and S.R. Khan. 2009. *Herbal Medicines in The Management of Urolithiasis : Alternatif or Complementary*. Planta Med 75 : 1095-1103.

- Cahyono, J.B.S.B. 2009. Batu Ginjal. Kanisius : Yogyakarta. Halaman : 27-30.
- Champion, P.D. and J.S. Clayton. 2001. *Border Control for Potential Aquatic Weeds*. Departemen Conversation. New Zealand. Annual Review Journal of Ecology and Systematic 11 : 233-260.
- Chapin, S. 2008. *The Mineral Nutrition on Wild Plan*. Annual Review Journal of Ecology and Systematic 11 : 233-260.
- Chen, Z., J. Fang, G. Li, L. Zhang, L. Xu, G. Pen, J. Ma, and H. Qi. 2012. *Compensatory Change In The Retained Kidney After Nephrectomy In A Living Realated Donor*. Transplation Proceedings 44 : 2901-2905.
- Cheville, N.F. 1999. *Introduction cTo Veterinary Pathology 2nd Edition*. Iowa State University Press. USA. Halaman : 16.
- Chew, D.J., R.A. Hostutler, and S.P. DiBarlota. 2004. *Recent Concepts in Feline Lower Urinary Tract Disease*. Vet Clinic Small Animal 35 : 147-170.
- Cox, R.D., and W.J. Phillips. 2004. *Ethylene Glycol Toxicity*. Military Medicine 169 (8). Greifswald. Halaman : 660-663
- Deepika, A., M. Sharma, and K.S. Surindr. 2013. *The Role of Natural Antioxidants As Potential Therapeutic Agent In Nephrolithiasis*. Asian Journal of Pharmaceutical And Clinical Research 6 (3) : 48-53.
- Dellman, H.D. and E.M. Brown. 1992. *Buku Teks Histologi Veteriner*. Volume 2. Edisi Ketiga. Penerbit Universitas Indonesia. Depok. Halaman : 441- 445.
- Fan, J., M.A. Glass, and P.S. Chandhoke. 1999. *Impact of Ammonium Chloride Administration On A Rat Ethylene Glycol Urolithiasis Model*. Scanning Microscopy 13 (2-3) : 299-306.
- Fouada, A., S. Yamina,, M.B. Nait, B. Mohammed, and R. Abdlekrim. 2006. *In Vitro and In Vivo Antilithiasic Effect of Saponin Rich Fraction Isolated From Herniari hirsuta*. J Bras Nefrol 28(4) : 199-203.
- Fuadi, A. 2009. *Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Alpukat (Persea americana Mill) Terhadap Gambaran Ureum dan Kreatinin Pada Tikus Putih Jantan Yang Diinduksi Etilen Glikol* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Guyton and Hall. 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 11. EGC. Jakarta.
- Hamdani, T., 2012. *Uji Sensitivitas Perasan Daun Ceremai (Phyllanthus acidus L) Terhadap Pertumbuhan Escherichia coli* [Skripsi]. Akademi Analisis Kesehatan Banda Aceh. Banda Aceh.



- Heinrich, J.. 2006. *Cooperation, Punishment, and the Evolution of Human Institutions*. *Science* 312 : 60-61
- Hosseinzadeh, H., A.R. Khooei, Z. Khashayarmanesh, and V.M. Shariaty. 2010. *Antiuro lithiatic Activity of Pinus eldarica Medw. Fruits Aqueous Extract In Rats*. *Urology Journal* 7 : 232-237.
- Houston, D.M., and A.E.P. Moore. 2009. *Canine and Feline Urolithiasis : Examination of Over 50.000 Urolith Submissions To The Canadian Veterinary Urolith Centre From 1998 to 2008*. *Canadian Veterinary Journal* 50 : 1263-1268.
- Houston, D.M., N.E. Rinkardt, and J. Hilton. Evaluation of The Efficacy of A Commercial Diet In The Dissolution of Feline Struvite Bladder Uroliths. *Vet Ther* 5(3):187-201.
- Jagannath, N., S.S. Chikkannasetty, D. Govindadas, and G. Devasankaraiah. 2012. *Study of Antiuro lithiatic activity of Asparagus racemosus on Albino Rat*. *Indian J Pharmacol*. 44(5) : 576-579.
- Jean, R. 2010. *Pengaruh Pemberian Teh Hitam (Camelia sinensis) Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit BALB/C [Skripsi]*. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Joshi, S., B.T. Saylor, W. Wang, A.B. Peck, and S.R. Khan. 2012. *Apocynin Treatment Reverse Hiperoxaluria Induced Changes In NADPH Oxidase System Expression In Rat Kidney : A Transcriptional Study*. *Flos One* : e 47738.
- Kennedy, M.J. 2008. *Influence of Varying Levels of Ammonium Chloride On Urine pH adn Specific Gravity, Overall Feed Conversion and Water Consumption In Mature Wether Goats [Thesis]*. Texas A&M University. Texas. USA.
- Khan, A., S. Bashir, S.R. Khan, and A.H. Gilani. 1999. *Antiuro lithic Activity of Origanum vulgareis Mediated Through Multiple Pathways*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. Karachi. 1-16.
- Kristiono, S.S.. 2009. *Analisis Mikroskopis dan Fitokimia Semanggi Air Marsilea crenata Presl (Marsileaceae) [Skripsi]*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Kusriningrum. 2008. *Perancangan Percobaan*. Airlangga University Press. Surabaya.

- Langston, C., K. Gisselman, D. Palma, and J. McCue. 2008. *Diagnosis of Urolithiasis*. Animal Medical Centre. New York. 447-445.
- Lina, N. 2008. *Faktor-Faktor Risiko Kejadian Batu Saluran Kemih Pada Laki-Laki* [Tesis]. Magister Epidemiologi Program Pasca Sarjana. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Mandel, N.S.. 1996. *Analysis of Stone*. In : *Kidney Stones : Medical and Surgical Management*. Raven Press. 323-335.
- Mariyani. 2009. *Kasus Urolithiasis Pada Anjing dan Kucing* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Muntiha, M. 2001. *Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi Dari Jaringan Hewan Dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E)*. Balai Penelitian Veteriner. Bogor
- Murwani, S. dan L. Damayanti. 2013. *Efek Preventif Perasan Semanggi Air (Marsilea crenata) Terhadap Kualitas Urin Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) Model Urolithiasis*. Program Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Myers, P. and D. Armitage. 2004. *Rattus norvegicus*. [http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Rattus\\_norvegicus](http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Rattus_norvegicus). Diakses tanggal 5 Maret 2013.
- Nurjannah, A. dan A. Abdullah. 2012. *Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Semanggi Air Marsilea crenata*. Jurnal Inovasi dan Kewirausahaan 3 : 152-158.
- Onyeausi, B.I., A.A. Adeniyi, and C.S.Ibe. 2009. *A Study of The kidney of The Wistar Rat in Northern Guinea Savannah Zone : The Morphometric Aspect*. Pakistan Journal of Nutrition 8(7) : 1040-1042
- Osborne, C.A., J.P. Lulich, D.J. Polzin, S.L. Sanderson, L.A. Kohler, L.K. Ulrich, K.A. Bird, L.L. Swwarson, and L.A. Pederson. 1999. *Analysis of 77.000 Canine Urolithiasis*. Veterinary Clinics of North America 29 : 17-18.
- Ross, L.A. 2005. *Calcium Oxalate Urolithiasis in Dogs and Cats*. Standards of Care: Emergency and Critical Care Medicine from The Publisher of Compendium, Volume 7.7. Massachusetts. 1-6.
- Saputra, A.A.H. 2009. *Uji Aktivitas Antilithiasis Ekstrak Etanol Daun Alpukat (Persea americana Mill) Pada Tikus Putih Jantan* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.



- Smith, J.B. dan S. Mangkoewidjojo. 1998. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan percobaan di Daerah Tropis*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Soundararajan, P., R. Mahesh, T. Ramesh, and V.H. Begum. 2006. *Effect of Aerva lanata In Calcium Oxalate Urolithiasis In Rats*. Indian Journal of Experimental Biology 44 : 981-986.
- Steenis, C.G.G.J. 2008. *Flora*. Pradnya Paramita. Jakarta.
- Stevenson, A.E. 2002. *The Incidence of Urolithiasis In Cats and Dogs and The Inflence of Diet In Formation and Prevention of Recurrence* [Thesis]. Institue of Urology and Nephrology. University College London. UK.
- Suckow, M.A., S.H Weisbroth, and C.L. Franklin. 2006. *The Laboratory Rat*. Elseiver Academic Pres.USA.
- Suharjo, J.B. dan B. Cahyono. 2010. *Manajemen Batu Ginjal*. Medicinus, Volume 23, No 1. Tangerang. Halaman 29-34.
- Sulistiono, W. 2009. *Analisis Mikroskopis dan Vitamin Semanggi Air Marsilea crenata Presl, (Marsileaceae)* [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Susilawati, H.L., S. Listyawati, dan Sutarno. 2003. *Analisis Kimia-Fisik Urin Tikus Putih (Rattus norvegicus) setelah Pemberian Ekstrak Daun Seledri (Apium graveolens Linn.)*. Biosmart Volume 5 (1) : 43-46.
- Swastika, P.. 2003. *Pengendalian Hama Tikus Terpadu*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Touhami, M., A. Laroubi, K. Elhabazi, F. Loubna, I. Zrara, Y. Eljahiri, A. Oussama, F. Grases, and A. Chat. 2007. *Lemon Juice Has Protective Activity In A Rat Urolithiasis Model*. BMC Urology 7 : 18.
- Tsujihata, M., K. Tsujikawa, N. Tei, K. Yoshimura, and A. Okuyama. 2006. *Urinary Macromolecules and Renal Tubular Cell Protection From Oxalate Injury : Comparison of Normal Subjects and Recurrent Stone Formers*. International Journal of Urology 13 : 197-201.
- Underwood, J.C.E. 1992. *General and Systemics Pathology*. Churchil Livingstone. New York. Halaman : 23-765.



Wientarsih, I., R. Madyastuti, B.F. Prasetyo, dan A.Aldobrata. 2012. *Anti Lithiasis Activity of Avocado (Persea americana Mill) Leaves Extract in White Male Rats*. Hayati Journal of Biosciences 19 (1) : 49-52.

Yadav, R.D., S.K. Jain, S. Alok, A. Mahor, J.P. Bharti and M. Jaiswal. 2011. *Herbal Plants Used In The Treatment of Urolithiasis: A Review*. IJPSR 2(6) : 1412-1420.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA





**LAMPIRAN**

**Lampiran 1.** Kandungan Nutrisi Pakan Phokpand BR2®.

**Tabel 1.** Kandungan Nutrisi Pakan Phokpand BR®.

<b>KANDUNGAN NUTRISI</b>	<b>MAKSIMAL (%)</b>	<b>MINIMAL (%)</b>
	<i>.....% As fed.....</i>	
Kadar Air	13,0	–
Protein	21,0	19,0
Lemak	–	5,0
Serat	5,0	–
Abu	7,0	–
Kalsium	–	0,9
Fosfor	–	0,6
M.E.	3020 Kcal/Kg	2920 Kcal/Kg

(Sumber : PT. Charoen Phokpand)





**Lampiran 2.** Perhitungan Homogenitas Berat Badan Tikus Dengan Uji *Bartlett*.

**Tabel 2.1.** Berat Badan Awal Tikus

Kelompok	U 1	U 2	U 3	U 4	Rerata
P1	170	143	145	130	147
P2	165	148	143	135	147,75
P 3	165	143	152	135	148,75
P 4	163	155	142	136	149
P 5	163	142	156	140	150,25
P 6	158	157	142	141	149,5

**Tabel 2.2.** Perhitungan Varians Setiap Kelompok

Statistik	Kelompok Perlakuan					
	P1	P2	P3	P4	P5	P6
Rerata	147	147,75	148,75	149	150,25	149,5
SD	16,71327	12,68529	12,86792	12,24745	11,08678	9,255629
Varians	279,3333	160,9167	165,5833	150	122,9167	85,66667
Σ Data	4	4	4	4	4	4
dk	3	3	3	3	3	3

**Tabel 2.3.** Tabel Penolong Untuk Uji Homogenitas Varians

Kelompok	dk	1 / dk	si <sup>2</sup>	dk x si <sup>2</sup>	log si <sup>2</sup>	(dk) x log si <sup>2</sup>
P1	3	0,333333	279,3333	838	2,446123	7,338368292
P2	3	0,333333	160,9167	482,75	2,206601	6,619803083
P 3	3	0,333333	165,5833	496,75	2,219017	6,657049863
P 4	3	0,333333	150	450	2,176091	6,528273777
P 5	3	0,333333	122,9167	368,75	2,089611	6,268832323
P 6	3	0,333333	85,66667	257	1,932812	5,798435606
Σ	18			2893,25	13,07025	39,21076294

**Perhitungan Varians Gabungan**

$$\begin{aligned}
 s^2 &= \sum (dk \cdot si^2) / \sum dk \\
 &= 2893,25 / 18 \\
 &= 160,736
 \end{aligned}$$

**Perhitungan Nilai B**

$$\begin{aligned}
 B &= (\sum dk) \log s^2 \\
 &= 18. \log 160,736 \\
 &= 39,71
 \end{aligned}$$



**Perhitungan Harga Chi-Kuadrat**

$$\begin{aligned}
 \chi^2 \text{ hitung} &= (\ln 10) \{ B - \sum dk \log s_i^2 \} \\
 &= (\ln 10) \{ 39,71 - 39,21076294 \} \\
 &= 2,303 \times 0,49923706 \\
 &= 1,149742949
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \chi^2 \text{ tabel } 0,05 (dk) &= \chi^2 \text{ tabel } 0,05 (3) \\
 &= 7,81473
 \end{aligned}$$

Untuk  $\alpha = 5 \%$ , dari daftar distribusi  $\chi^2$  dengan  $dk = 3$  didapat  $\chi^2_{0,95(3)} = 7,81473$ , sehingga  $\chi^2 = 1,149742949 < \chi^2_{0,95(3)} = 7,81473$ . Berdasarkan hasil perhitungan tersebut, dapat disimpulkan bahwa hipotesis varians homogen diterima.



Lampiran 3. Sertifikat Laik Etik Penelitian.

	<p>KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN          THE MINISTRY OF EDUCATION AND CULTURE          FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA          MEDICAL FACULTY BRAWIJAYA UNIVERSITY          KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN          THE ETHICAL COMMITTEE MEDICAL RESEARCH          Jalan Veteran Malang – 65145          Telp. (0341) 551611 Pes. 213.214; 569117, 567192 – Fax. (62) (0341) 564755</p>
<p>KETERANGAN KELAIKAN ETIK          ("ETHICAL CLEARANCE")          No. 421 / EC / KEPK / 07 / 2013</p>	
<p>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA, SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN :</p>	
JUDUL	: EFEK PREVENTIF PERASAN DAUN DAN TANGKAI SEMANGGI AIR ( <i>Marsilea crenata</i> ) TERHADAP UROLITHIASIS PADA TIKUS ( <i>Rattus norvegicus</i> ) GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI ETILEN GLIKOL DAN AMONIUM KLORIDA
PENELITI UTAMA ANGGOTA	: Dr.drh.SRI MURWANI, MP : drh.I.D.P ANOM ADNYANA JEFRI HARDYANTO LELYTA DAMAYANTI MARDIANA KUSUMAWATI SARTONO BONANZA WAHYU P
UNIT / LEMBAGA	: PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG
TEMPAT PENELITIAN	: KLINIK HEWAN PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG
<p>DINYATAKAN LAIK ETIK</p> <p style="text-align: right;">Malang, 01 AUG 2013.</p> <p style="text-align: center;">Ketua,</p> <div style="display: flex; justify-content: center; align-items: center;">  </div> <p style="text-align: center;">Prof. Dr. dr. Moch. Istiadjid ES, SpS, SpBS (K) M.Hum</p>	

Gambar 3. Sertifikat Laik Etik Penelitian.



Lampiran 4. Sertifikat Determinasi Tanaman Semanggi Air (*Marsilea crenata*).

 <b>DINAS KESEHATAN PROPINSI JAWA TIMUR</b> <b>UPT MATERIA MEDICA</b> Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313) <b>KOTA BATU</b>	
Nomor	: 074 / 036/B/ 101.8 / 2013
Sifat	: Biasa
Perihal	: <b><u>Determinasi Tanaman Semanggi air</u></b>
Memenuhi permohonan saudara :	
Nama	: MARDIANA KUSUMAWATI S.
N I M	: 0911310019
Fakultas	: PROGRAM KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA
<p>1. Perihal determinasi tanaman semanggi air</p> <p>Kingdom : Plantae (Tumbuhan)            Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)            Divisi : Pteridophyta (paku-pakuan)            Kelas : Pteridopsida            Ordo : Salviniales            Famili : <u>Marsileaceae</u>            Genus : <u>Marsilea</u>            Spesies : <u>Marsilea crenata</u> Presl            Sinonim : <u>Marsilea quadrifolia</u> Bl. ; <u>M. minuta</u> L.            Indonesia : Semanggi, semanggen, paku tapak itik. Jawa : Semanggi            Kunci Determinasi : 1a-17b-18a-1</p> <p>2. <b>Morfologi</b> : Habitus ; Semak, menjalar, panjang ± 25 cm. Batang Lunak, berupa stolon, hijau kecoklatan. Daun Majemuk, tiap tangkai terdiri dari empat helai daun, lonjong, tepi rata, pangkal runcing, panjang ± 2 cm, lebar ± 1 cm, hijau. Spora : Sporocarpia terletak dekat pangkal tangkai daun, lepas/bertdiri sendiri, kelopak dua, panjang 3-5 cm, lonjong, hijau, ungu. Akar : Serabut, putih kotor.</p> <p>3. <b>Nama Simplicia</b> : Marsileae crenatae Herba/ Herba semanggi air.</p> <p>4. <b>Kandungan Kimia</b> : daun dan batang mengandung saponin dan polifenol</p> <p>5. <b>Penggunaan</b> : Penelitian</p> <p>6. <b>Daftar Pustaka</b> :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Anonim, <a href="http://www.warintek.ristek.go.id/">http://www.warintek.ristek.go.id/</a> salam, Diakses 14 Februari 2007</li> <li>• Anonim, <a href="http://www.plantamor.com/semanggi">http://www.plantamor.com/semanggi</a> , diakses 11 Desember 2010</li> <li>• Steenis, CGGJ Van Dr. <b>FLORA</b>, 2008, Pradnya Paramita , Jakarta</li> <li>• Syamsuhidayat, Sri sugati, Hutapea, Johny Ria. 1991, <b>Inventaris Tanaman Obat Indonesia I</b>, Departemen Kesehatan Republik Indonesia : Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan.</li> </ul>	
Demikian determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.	
<p style="text-align: right;">Batu, 11 Maret 2013            Kepala UPT Materia Medica Batu</p> <p style="text-align: center;">   <b>Drs. Husin RM, Apt. MKes.</b>            NIP.19611021991031003         </p>	

Gambar 4. Sertifikat Determinasi Tanaman Semanggi Air (*Marsilea crenata*).

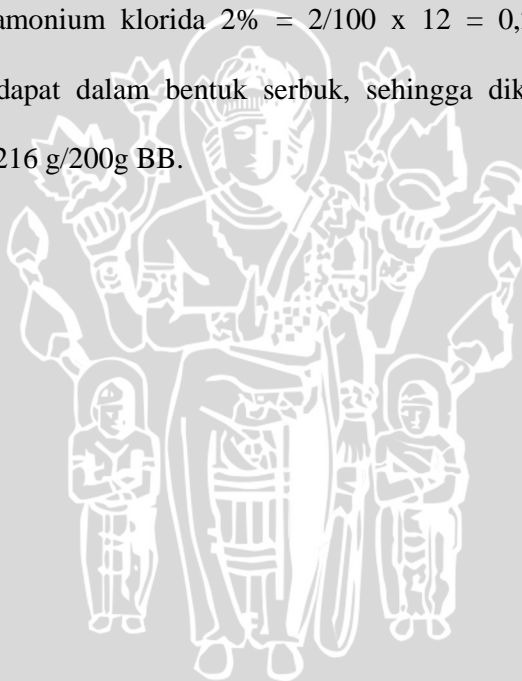
**Lampiran 5.** Perhitungan Dosis Bahan Induksi Urolithiasis.

Bahan induksi urolithiasis yang digunakan dalam penelitian ini adalah etilen glikol 0,75% dan amonium klorida 2%. Dosis bahan induksi yang dibutuhkan setiap ekor tikus per hari sebanyak 12 ml/200 g BB. Berikut ini adalah perhitungan jumlah bahan induksi yang digunakan :

Perhitungan jumlah etilen glikol 0,75% =  $0,75/100 \times 12 = 0,09$  ml/200g BB.

Perhitungan jumlah amonium klorida 2% =  $2/100 \times 12 = 0,24$  ml/200g BB.

Amonium klorida didapat dalam bentuk serbuk, sehingga dikonversi menjadi gram  $0,24 \times 0,9 \text{ g} = 0,216$  g/200g BB.

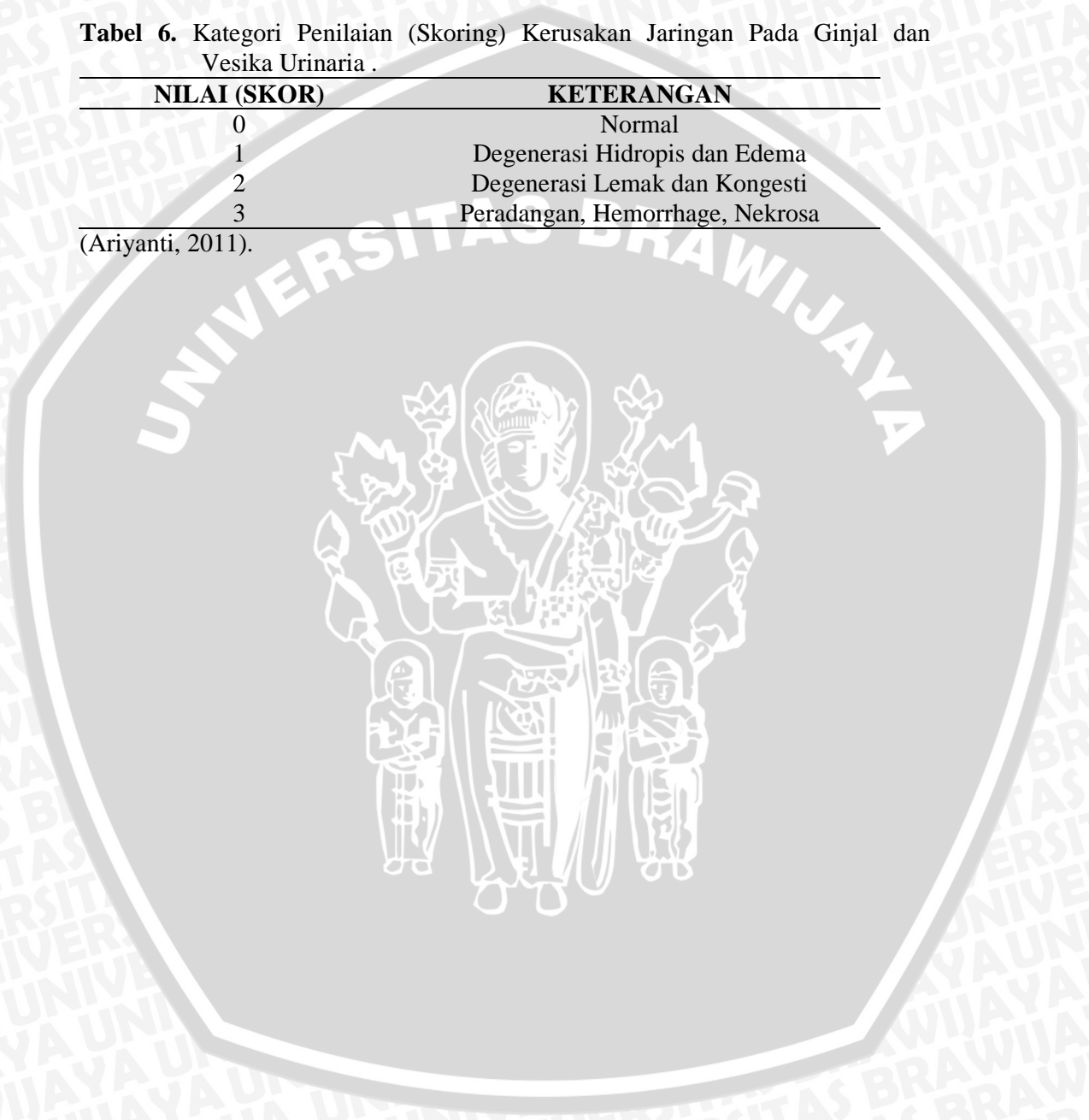


**Lampiran 6.** Kategori Skoring.

**Tabel 6.** Kategori Penilaian (Skoring) Kerusakan Jaringan Pada Ginjal dan Vesika Urinaria .

NILAI (SKOR)	KETERANGAN
0	Normal
1	Degenerasi Hidropis dan Edema
2	Degenerasi Lemak dan Kongesti
3	Peradangan, Hemorrhage, Nekrosa

(Ariyanti, 2011).

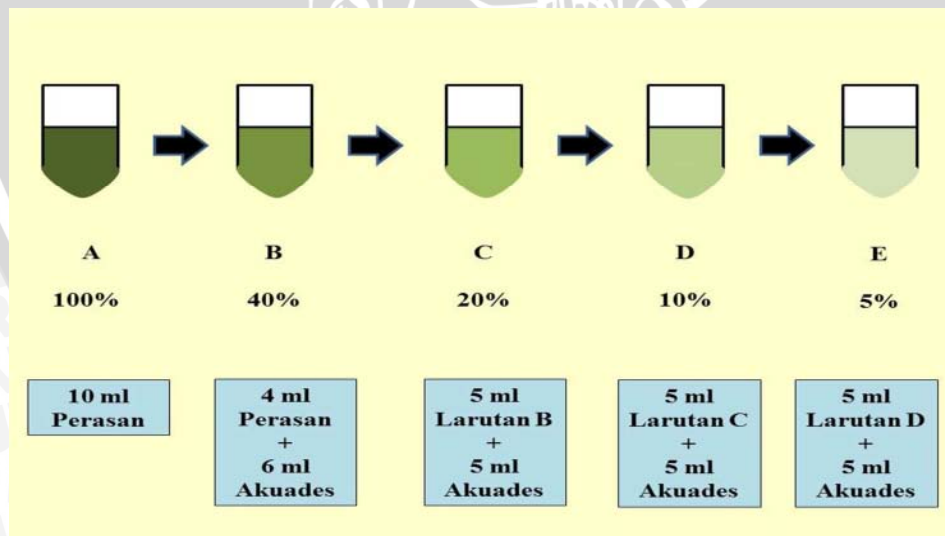




## Lampiran 7. Prosedur Kerja.

### 7.1. Pembuatan Perasan Semanggi Air (*Marsilea crenata*).

1. Daun dan tangkai Semanggi Air dipilih yang masih segar dan berwarna hijau,
2. Daun dan tangkai Semanggi Air dicuci hingga bersih,
3. Daun dan tangkai ditimbang sebanyak  $\pm 100$  g untuk mendapatkan perasan dengan konsentrasi 100% sebanyak  $\pm 10$  ml,
4. Daun dan tangkai dimasukkan kedalam alat *juicer*,
5. Perasan diencerkan untuk memperoleh konsentrasi bertingkat 5%, 10%, 20%, dan 40%. Proses pengenceran tercantum dalam Gambar 7.1.



**Gambar 7.1.** Proses Pengenceran Perasan Daun dan Tangkai Semanggi Air (*Marsilea crenata*).

### 7.2. Pembuatan Bahan Induksi Urolithiasis.

1. Perhitungan dosis yang dibutuhkan,
2. Penimbangan amonium klorida dan etilen glikol,
3. Etilen glikol dan amonium klorida dilarutkan dengan menggunakan akuabides.

### 7.3. Pembedahan dan Pengambilan Organ.

1. Hewan model dieuthanasi pada hari kesebelas,
2. Bagian abdomen dibedah dengan menggunakan gunting untuk diambil ginjal bagian kanan, ginjal bagian kiri, dan vesika urinaria,
3. Organ dicelupkan kedalam larutan *Phosphate Buffer Saline* (PBS),
4. Organ direndam kedalam tabung berpenutup yang berisi larutan formalin 10%.

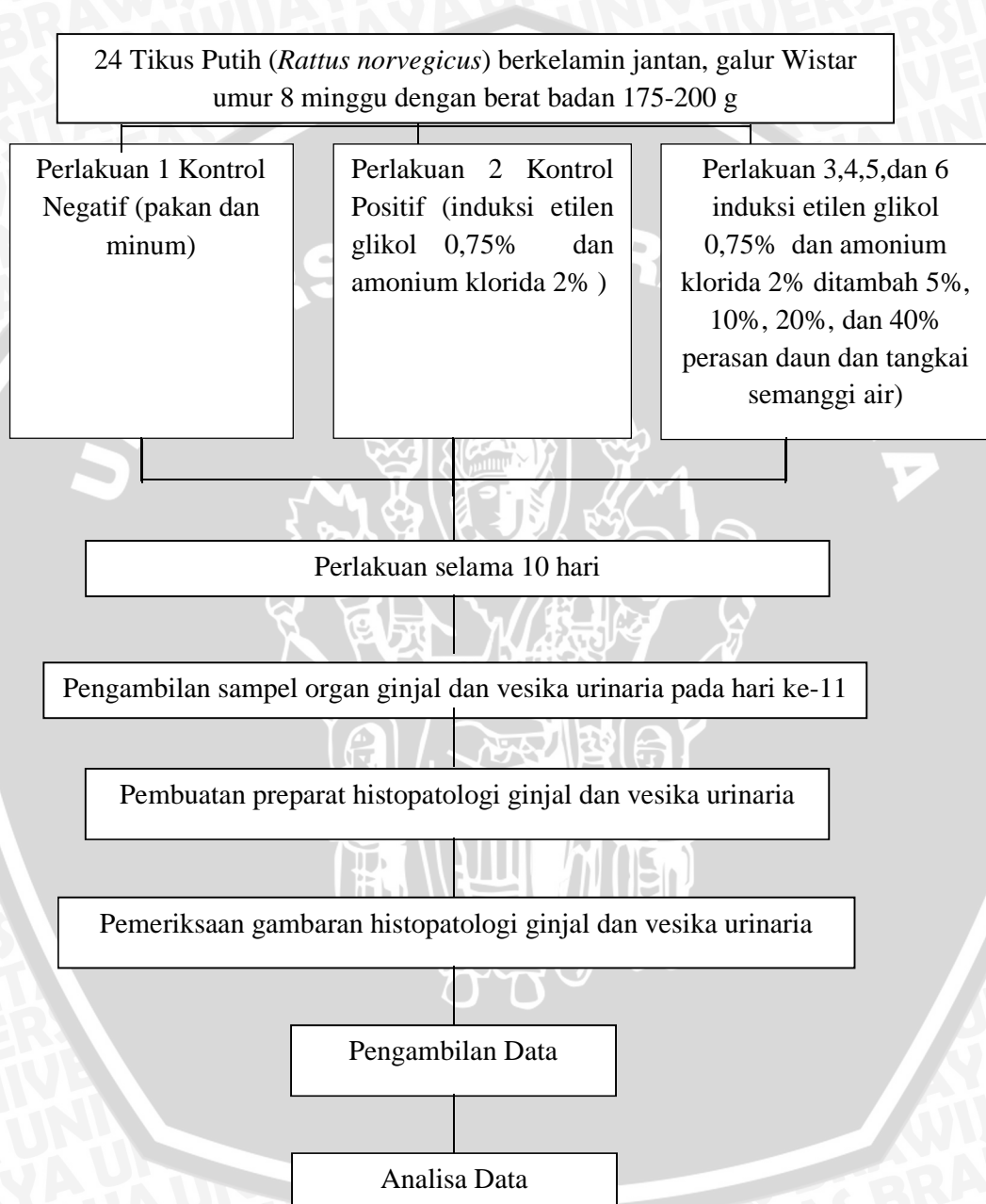
### 7.4. Pembuatan *Slide* Histopatologi (Manual Prosedur Laboratorium Histologi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, 2013).

- 1) Jaringan yang telah direndam dalam formalin  $\pm$  24 jam kemudian di potong dengan ketebalan antara 3–5 mm.
- 2) Jaringan yang telah dipotong, direndam dalam larutan formalin 10% selama  $\pm$  24 jam.
- 3) Jaringan dicuci dengan air mengalir selama  $\pm$  5 menit.
- 4) Dilakukan proses dehidrasi dengan cara direndam dalam acetone selama 1 jam sebanyak 4 kali.
- 5) Dilakukan proses *clearing* dengan cara direndam pada *xylol* selama 30 menit sebanyak 4 kali.

- 6) Jaringan direndam dalam parafin cair selama 1 jam sebanyak 3 kali pada suhu 55–80° C (*Impregnasia*).
- 7) Penanaman jaringan pada parafin block (*Embedding*).
- 8) Dibekukan selama  $\pm$  24 jam.
- 9) Disayat dengan ketebalan 4  $\mu$ m dengan arah sayatan longitudinal.
- 10) Hasil sayatan ditempelkan pada objek glass.
- 11) Proses deparafinasi dengan cara direndam kedalam larutan xylol selama 15 menit sebanyak 3 kali.
- 12) Preparat direndam kedalam alkohol 96% selama 15 menit sebanyak 2 kali.
- 13) Dicuci dengan air mengalir selama 15 menit.
- 14) Ditetesi pewarna Hematoksilin.
- 15) Dicuci dengan air mengalir selama 15 menit.
- 16) Dichelupkan kedalam alkohol asam.
- 17) Dicuci dengan air mengalir selama 15 menit.
- 18) Direndam dalam *Lytium carbonat* selama 20 detik.
- 19) Dicuci dengan air mengalir selama 15 menit.
- 20) Ditetesi pewarna Eosin dan didiamkan selama 10 menit.
- 21) Direndam kedalam alkohol 96% selama 15 menit sebanyak 3 kali.
- 22) Direndam kedalam xylol selama 15 menit sebanyak 3 kali.
- 23) Preparat ditutup dengan *cover glass* dan diberi perekat *entellan*.



**Lampiran 8.** Diagram Alir Tahapan Penelitian.



**Gambar 8.** Diagram Alir Tahapan Penelitian.

**Lampiran 9.** Perhitungan *Kruskall-Wallis* dan Uji Lanjutan *Mann-Whitney*.

**9.1.** Perhitungan *Kruskall-Wallis* Ginjal Kanan.

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
SKOR	24	1.3750	1.05552	.00	3.00
PERLAKUAN	24	3.5000	1.74456	1.00	6.00

Ranks			
	PERLAKUAN	N	Mean Rank
SKOR	P1	4	3.50
	P2	4	21.12
	P3	4	16.62
	P4	4	11.75
	P5	4	15.25
	P6	4	6.75
	Total	24	

Test Statistics <sup>b,c</sup>			
			SKOR
Chi-Square			18.339
df			5
Asymp. Sig.			.003
Monte Carlo Sig.	Sig.		.000 <sup>a</sup>
	99% Confidence Interval	Lower Bound	.000
		Upper Bound	.175

a. Based on 24 sampled tables with starting seed 2000000.

b. Kruskal Wallis Test

c. Grouping Variable: PERLAKUAN

**9.2.** Perhitungan *Kruskall-Wallis* Ginjal Kiri.

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std.	
			Deviation	Minimum Maximum
SKOR	24	1.1667	.96309	.00 3.00
PERLAKUAN	24	3.5000	1.74456	1.00 6.00

**Ranks**

	PERLAKUAN	N	Mean Rank
SKOR	P1	4	3.50
	P2	4	22.12
	P3	4	15.75
	P4	4	13.88
	P5	4	9.88
	P6	4	9.88
	Total	24	

**Test Statistics<sup>b,c</sup>**

			SKOR
Chi-Square			18.108
df			5
Asymp. Sig.			.003
Monte Carlo Sig.	Sig.		.000 <sup>a</sup>
	99% Confidence Interval	Lower Bound	.000
		Upper Bound	.175

a. Based on 24 sampled tables with starting seed 299883525.

b. Kruskal Wallis Test

c. Grouping Variable: PERLAKUAN



9.3. Perhitungan *Kruskall-Wallis* Vesika Urinaria

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
SKOR	24	1.0833	.97431	.00	3.00
PERLAKUAN	24	3.50	1.745	1	6

Ranks			
	PERLAKUAN	N	Mean Rank
SKOR	P1	4	4.00
	P2	4	22.25
	P3	4	14.75
	P4	4	14.75
	P5	4	10.75
	P6	4	8.50
	Total	24	

Test Statistics <sup>b,c</sup>			
			SKOR
Chi-Square			17.935
df			5
Asymp. Sig.			.003
Monte Carlo Sig.	Sig.		.000 <sup>a</sup>
	99% Confidence Interval	Lower Bound	.000
		Upper Bound	.175

a. Based on 24 sampled tables with starting seed 926214481.

b. Kruskal Wallis Test

c. Grouping Variable: PERLAKUAN

**9.4. Uji Mann-Whitney Ginjal Kanan dan Ginjal Kiri.**

**9.4.1. Uji Mann-Whitney Ginjal Kanan dan Ginjal Kiri Kelompok P1.**

<b>Test Statistics<sup>b</sup></b>	
	<b>SKOR</b>
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable:  
PERLAKUAN

**9.4.2. Uji Mann-Whitney Ginjal Kanan dan Ginjal Kiri Kelompok P2.**

<b>Test Statistics<sup>b</sup></b>	
	<b>SKOR</b>
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable:  
PERLAKUAN



**9.4.3. Uji Mann-Whitney Ginjal Kanan dan Ginjal Kiri Kelompok P3.**

<b>Test Statistics<sup>b</sup></b>	
	<b>SKOR</b>
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-.949
Asymp. Sig. (2-tailed)	.343
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.486 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable:  
PERLAKUAN

**9.4.4. Uji Mann-Whitney Ginjal Kanan dan Ginjal Kiri Kelompok P4.**

<b>Test Statistics<sup>b</sup></b>	
	<b>SKOR</b>
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable:  
PERLAKUAN





**9.4.5. Uji Mann-Whitney Ginjal Kanan dan Ginjal Kiri Kelompok P5.**

<b>Test Statistics<sup>b</sup></b>	
	<b>SKOR</b>
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	12.000
Z	-2.049
Asymp. Sig. (2-tailed)	.040
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.114 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable:  
PERLAKUAN

**9.4.6. Uji Mann-Whitney Ginjal Kanan dan Ginjal Kiri Kelompok P6.**

<b>Test Statistics<sup>b</sup></b>	
	<b>SKOR</b>
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable:  
PERLAKUAN



**Lampiran 10.** Hasil Skoring Kerusakan Organ Ginjal dan Vesika Urinaria Menurut Ariyanti (2011).

**Tabel 10.1.** Hasil Skoring Kerusakan Jaringan Ginjal Bagian Kanan.

KELOMPOK PERLAKUAN	HASIL SKORING			
	ULANGAN	ULANGAN	ULANGAN	ULANGAN
	1	2	3	4
P1	0	0	0	0
P2	2	3	3	3
P3	1	3	2	2
P4	1	1	2	1
P5	1	2	2	2
P6	0	1	0	1

**Tabel 10.2.** Hasil Skoring Kerusakan Jaringan Ginjal Bagian Kiri.

KELOMPOK PERLAKUAN	HASIL SKORING			
	ULANGAN	ULANGAN	ULANGAN	ULANGAN
	1	2	3	4
P1	0	0	0	0
P2	3	3	2	3
P3	2	1	2	1
P4	2	1	1	1
P5	1	1	0	1
P6	0	1	1	1

**Tabel 10.3.** Hasil Skoring Kerusakan Jaringan Vesika Urinaria.

KELOMPOK PERLAKUAN	HASIL SKORING			
	ULANGAN	ULANGAN	ULANGAN	ULANGAN
	1	2	3	4
P1	0	0	0	0
P2	3	3	3	2
P3	1	3	2	2
P4	1	1	2	1
P5	1	2	1	1
P6	1	1	0	1

Lampiran 11. Dokumentasi Kegiatan Penelitian.



Gambar 11.1. Kandang Tikus Selama Penelitian



Gambar 11.2. Proses Pengenceran Perasan Semanggi



Gambar 11.3. Penyondean



Gambar 11.4. Eutthanasia



Gambar 11.5. Pembedahan Tikus.



Gambar 11.6. Pengambilan Organ







Gambar 11.7. Perendaman Organ Dalam Wadah Berisi Formalin



Gambar 11.8. Pemotongan Gros



Gambar 11.9. Perendaman Dalam Formalin



Gambar 11.10. Infiltrasi Parafin Dalam Inkubator



Gambar 11.11. Proses Embedding



Gambar 11.12. Pemotongan Mikro (Slicing) Menggunakan Mikrotom Rotary