EFEK PEMBERIAN MIKROSFER KITOSAN MINYAK KELAPA SAWIT TERHADAP KADAR MDA GINJAL PADA MUS MUSCULUS DENGAN NTA

EFFECT OF CRUDE PALM OIL CHITOSAN MICROSPHERES FOR MDA CONCENTRATION IN MUS MUSCULUS RENAL WITH NTA

Maria Catur Natalia
Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang
Telp. (0341) 580993, E-mail: mariacaturnatalia@gmail.com

Abstrak

NTA (Nekrosis Tubular Akut) merupakan sindrom dari GGA (Gagal Ginjal Akut) intrinsik karena kondisi iskemia atau paparan agen nefrotoksik. Akibatnya banyak sel tubulus yang mengalami kematian dan menurunkan fungsi tubulus sehingga dapat menyebabkan GGA. NTA dapat dikarenakan proses peroksidasi lipid yang banyak menghasilkan MDA yang merusak fungsi sel akibat adanya peningkatan radikal bebas. Salah satu agen yang dapat digunakan untuk memperbaiki kondisi NTA adalah minyak kelapa sawit yang mengandung senyawa antioksidan sehingga proses peroksidasi lipid dapat dihambat dan jumlah MDA menurun. Minyak kelapa sawit dengan pembawa kitosan berat molekul rendah dalam bentuk mikrosfer memungkinkan peningkatan bioavaibilitas minyak kelapa sawit dan akumulasi minyak kelapa sawit di ginjal yang tinggi. Studi experimental post test only control group design dilakukan pada 24 Mus musculus terbagi dalam 6 kelompok yaitu kontrol positif (KP), kontrol negatif (KN), kelompok mikrosfer kitosan minyak kelapa sawit dosis 0,072 mg/gBB (P1) dan dosis 0,107 mg/gBB (P2), dan kelompok minyak kelapa sawit dosis 0,14 mg/gBB (P3) dan dosis 0,21 mg/gBB (P4). Variabel yang diukur adalah kadar MDA menggunakan metode spektrofotometri (Na-TBA). Hasil menunjukkan kadar MDA dari yang tertinggi sampai yang terendah berturut-turut adalah KP, P1, P2, P3, P4, dan KN, KN, P2, P3, dan P4 memiliki perbedaan yang signifikan dengan KP (p < 0,001) dan KP, P1, P2, P3, dan P4 memiliki perbedaan yang signifikan dengan KN (p < 0,001). Dengan demikian maka mikrosfer kitosan minyak kelapa sawit dapat menurunkan kadar MDA Mus musculus dengan NTA dengan dosis mikrosfer minyak kelapa sawit sebesar 0,107 mg/gBB.

Kata Kunci: GGA, NTA, Mikrosfer, Minyak Kelapa Sawit, MDA

Abstract

ATN (Acute Tubular Necrosis) is intrinsic ARF syndrome which is caused by ischemic condition and nephrotoxic agent. This causes necrosis of tubule cells and decrease the function of tubule lead to ARF. In ATN condition the cells necrosis can be caused by lipid peroxidation process that produces MDA which make the impairment of the cells. This processes are caused by overproduction of ROS. One of the agents that can be used for repair ATN condition is crude palm oil that contains antioxidant component. Therefore the lipid peroxidation process can be inhibited and the amount of MDA can be decreased. Crude palm oil with low molecular weight chitosan carrier in microsphere could increase the bioavaibillity of crude palm oil and provide higher accumulation in renal. Experimental post test only control group design study is conducted on 24 Mus musculus which is divided into 6 groups that are positive control (KP), negative control (KN), crude palm oil chitosan microsphere 0,072 mg/gBB (P1) and 0,107 mg/gBB (P2), and crude palm oil 0,14 mg/gBB (P3) and 0,21 mg/gBB (P4). The measured variable was MDA using spectrophotometry method (Na-TBA basic reaction). The result shows that the MDA concentration from highest to lowest in sequence is KP, P1, P2, P3, and P4. KN, P2, P3, and P4 was different significantly compared to KN. Therefore the crude palm oil chitosan microsphere resulted in the better renal MDA level of Mus musculus with ATN in 0,107 mg/gBB.

Key Words: ARF, ATN, Microsphere, Crude Palm Oil, MDA

Pendahuluan

NTA merupakan sindrom dari GGA intrinsik yang dikarenakan kondisi iskemik atau paparan zat toksik. Akibatnya banyak sel tubulus yang mengalami kematian dan nekrosis.¹ Pada kondisi iskemia deplesi ATP terjadi secara cepat yang bisa mengakibatkan dinding tubulus menjadi bocor karena lepasnya adesi epitel pada tubulus dan juga mengalami buntuan karena terjadi pembentukan jel polimerik akibat peningkatan protein Tamm-Horsfal yang tidak diereabsorbsi oleh tubulus. Deplesi ATP juga dapat menyebabkan pembentukan ROS yang dapat merusak sel epitel tubulus.²

Salah satu penyebab dari NTA adalah adanya peningkatan *reactive oxygen species* (ROS).^{2,3} ROS dapat bereaksi dengan asam lemak tak jenuh pada membran lipid dan menginduksi peroksidasi lipid yang dapat mengubah permeabilitas dan integritas dinding sel tubulus proksimal.⁴ Hasil peroksidasi lipid berupa malondialdehid (MDA) dapat bereaksi protein, lipoprotein, RNA, dan DNA sehingga menggangguan fungsi biomolekuler sel tubulus proksimal dan menyebabkan kerusakan sel tubulus proksimal yang dilihat dari adanya sel tubulus proksimal yang mengalami nekrosis.⁵ Kadar MDA dapat menjadi indikator yang penting untuk mengetahui tingkat peroksidasi lipid dan kondisi stres oksidatif.⁶

Salah satu bahan alam yang berpotensi untuk menurunkan peroksidasi lipid sehingga dapat memperbaiki kondisi NTA adalah minyak kelapa sawit. Minyak kelapa sawit mengandung beberapa senyawa fitokimia fenolik yaitu karoten, tokoferol, tokotrienol, skualen, *sterol*, dan koenzim Q.⁷ Senyawa fenolik ini memiliki fungsi sebagai antioksidan, utamanya senyawa vitamin E yang meliputi tokoferol, tokomonoenol, dan tokotrienol.⁸

Mikrosfer kitosan merupakan sistem pembawa obat dengan polimer kitosan dalam bentuk mikrosfer yang dapat membawa obat menuju ke ginjal. Kitosan bersifat biocompatible dan biodegradable⁹. Kitosan dalam bentuk LMWC (Low Molecular Weigh Chitosan) secara spesifik akan terambil oleh sel tubulus ginjal dan akan melepaskan obat dengan mekanisme enzimatik atau hidrolisis.¹⁰

Melalui sistem pembawa ini maka bisa menghantarkan minyak kelapa sawit yang mengandung vitamin E sebagai antioksidan menuju ke ginjal dan dapat menurunkan kerusakan sel ginjal pada kondisi NTA dengan menurunkan proses peroksidasi lipid dan MDA. Dengan demikian akan mampu menurunkan progresivitas dari NTA dan kondisi GGA dapat dicegah.

Metode Penelitian

Populasi dan Sampel

Penelitian ini menggunakan 24 *Mus musculus* jantan dengan usia 2-3 bulan dan berat badan 20-30 gram yang dibagi menjadi 6 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (KN) yang tidak diinduksi NTA dan tidak diterapi, kontrol positif (KP) yang diinduksi NTA namun tidak diterapi, dan 4 kelompok perlakuan (P1,P2,P3,P4) yang diinduksi NTA dan diterapi dengan mikrosfer kitosan minyak kelapa sawit dan minyak kelapa sawit tanpa pembawa.

Pembuatan LMWC

Dilakukan dengan metode hidrolisis menggunakan HCL 1M sebanyak 1 L untuk 10 gram kitosan yang diperoleh dari Phyedumedia selama 2 jam dengan suhu 70oC dan kecepatan 700 rpm. Selanjutnya dilakukan netralisasi sampai pH 6,5-7 dengan NaOH 1N dan disaring. Kemudian dikeringkan dalam oven dengan suhu 40oC selama 24 jam. 11,12

Uji Evaluasi LMWC

LMWC dievaluasi menggunakan metode Viscometer Ostwalt. Larutan kitosan disiapkan dengan konsentrasi 0,00;0,02;0,04;0,06; dan 0,08 % b/v dalam larutan asam asetat 1% sebanyak 100 mL. Kemudian larutan dimasukkan ke dalam alat viskometer Ostwald dan dilakukan perhitungan berat molekul melalui persamaan:11

$$n_{sp} = (t-t_0)/t_0$$

Keterangan:

 n_{sp} = viskositas spesifik (detik)

t = waktu yang diperlukan untuk mengalirnya larutan sampel (detik)

 t_0 = waktu yang diperlukan untuk mengalirnya larutan solven (detik)

Data yang diperoleh selanjutnya dibuat grafik n_{sp} /C terhadap C dan menentukan viskositas instrinsik untuk perhitungan berat molekul. Viskositas instrinsik merupakan titik pada grafik yang menunjukkan nilai C = 0. Berat molekul ditentukan dengan persamaan Mark-Houwink yaitu:^{11,13}

 $[n] = kM^{\alpha}$

Keterangan:

[n] = viskositas intrinsik

k = konstanta pelarut (3.5×10^{-4})

α = konstanta (1,02) M = berat molekul

Uji Separasi Senyawa-Senyawa dalam Minyak Kelapa Sawit

Uji fitokimia dilakukan dengan uji KLT menggunakan eluen n-heksan: isopropanol (98:2) sebanyak 20 mL dan diamati dalam UV-Vis dengan panjang gelombang 254 nm, ditandai noda yang terlihat dan dilakukan perhitungan Rf. Selanjutnya dilakukan perbandingan nilai Rf dengan literatur dimana senyawa tokols memiliki Rf sebesar 0,34.14

Formulasi Mikrosfer Kitosan Minyak Kelapa Sawit

LMWC ditimbang sebanyak 1,5 gram dan dilarutkan dalam 50 mL asam laktat 2,4%. Kemudian larutan diaduk dengan *magnetic stirrer* selama 1 jam dengan kecepatan 700 rpm. Selanjutnya ditambahkan minyak kelapa sawit sebanyak 10 mL dan diaduk kembali selama 15 menit. Kemudian disiapkan 120 mL larutan STPP 5% b/v dalam beaker glass dan ditambahkan campuran kitosan-minyak kelapa sawit menggunakan spuit jarum 18 G tetes demi tetes dan diaduk menggunakan magnetic stirrer dengan kecepatan 700 rpm selama 15 menit. Selanjutnya ditambahkan formaldehida 1,3% sampai terbentuk partikel (±3mL) dan diaduk menggunakan magnetic stirrer kecepatan 700 rpm selama 15 menit. Setelah itu, dilakukan penyaringan menggunakan pompa vakum dan kertas whatmann No 1 dan dibilas menggunakan 10 mL aseton. Hasil penyaringan dikeringkan dalam cawan petri selama 5 hari pada suhu ruang.15

Evaluasi Mikrosfer Menggunakan SEM

Sampel ditempatkan dalam alumunium holder menggunakan isolasi karbon yang memiliki dua sisi yang lengket. Selanjutnya sampel dikeringkan dalam oven dengan suhu 60 °C selama minimal 3 jam. Kemudian sampel ditempatkan dalam lubang tempat sampel di SEM dan dinyalakan SEM dan diamati.9

Evaluasi Toksisitas Formaldehid dan Aseton

Evaluasi residu formaldehida dan aseton dilakukan dengan menbandingkan dosis yang bisa ditoleransi oleh mencit per hari dengan kandungan formaldehida dan aseton dalam sediaan yang diberikan ke mencit per hari. Selain itu juga dilakukan pemantauan gejala klinis terjadinya toksisitas formaldehida yang berupa iritasi lokal pada jaringan rongga mulut *mus musculus* .¹¹6 dan aseton yang berupa iritasi mata dan lakrimasi pada mata. Selain itu juga dapat mengalami pembengkakkan organ yang mengakibatkan rasa nyeri dan hewan coba menjadi tidak aktif bergerak.¹¹7

Induksi NTA

Induksi NTA dilakukan dengan menggunakan gentamisin ip 0,14 mg/gBB selama 7 hari pada sampel (sampel) karena penggunaan gentamisin 100 mg/kgBB selama 7 hari mampu menginduksi kondisi NTA yang ditandai dengan sel tubulus proksimal yang nekrosis dan hilangnya lumen tubulus proksimal pada studi pendahuluan.

Uji Keberhasilan Induksi (Histopatologi)

Dilakukan pembedahan pada 3 mencit yang telah diinduksi dengan gentamicin 0,14 mg/gBB selama 7 hari. Selanjutnya dilakukan preparasi jaringan dalam bentuk *slide* dengan pengecatan HE dan diamati menggunakan mikroskop BX dengan perbesaran 400x

Uji Efektivitas Minyak Kelapa Sawit

Sampel dalam P1 diberi mikrosfer kitosan minyak kelapa sawit dengan dosis 0,072 mg/gBB, P2 diberi mikrosfer kitosan minyak kelapa sawit dengan dosis 0,107 mg/gBB, P3 diberi minyak kelapa sawit dengan dosis 0,14 mg/gBB, dan P4 diberi minyak kelapa

sawit dengan dosis 0,21 mg/gBB selama 14 hari. Kemudian dilakukan pembedahan dan pengambilan sampel berupa ginjal.

Pengukuran MDA

Ginjal dari masing-masing sampel ditimbang dengan berat rata-rata 100 mg. Kemudian ginjal digerus di mortir sampai halus dan diberi dapar phospat sebanyak 1 mL dengan pH 7,4. Selanjutnya hasil dimasukkan ke tabung mikro dan ditambah dengan 200 µL TCA, 200 µL HCL 1 N, 200 µL Na-Thio, dan terakhir ditambahkan akuades secukupnya untuk sampel mengering ketika proses mencegah pemanasan. Selanjutnya sampel dipanaskan dalam penangas air dengan suhu 105°C selama 30 menit dan selanjutnya dilakukan sentrifugasi dengan rpm 3500 selama 10 menit dalam suhu ruang. Kemudian diambil supernatannya dan dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan lamda 532 nm.18

Analisis Data

Analisis data menggunakan One-Way Anova menggunakan SPSS v 2012.

Hasil

Pembuatan dan Evaluasi LMWC

Berdasarkan proses yang dilakukan sebanyak 3 kali dihasilkan 3 batch yang memiliki bobot rata-rata 3,1128 ± 0,1367 g. Hasil ini menunjukkan bahwa dari 8 gram kitosan menghasilkan 38,91% LMWC. Hasil evaluasi berat molekul menggunakan viskometer ostwald dari ketiga batch formulasi rata-rata sebesar 34,837 ± 3,802 kDa. Hasil ini menunjukkan bahwa LMWC memenuhi kriteria LMWC yang dapat menghantarkan obat ke ginjal secara optimal karena memiliki BM < 70 kDa. 10

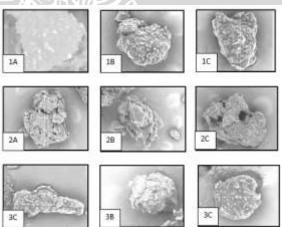
Uji Separasi Senyawa-Senyawa dalam Minyak Kelapa Sawit

Uji ini dilakukan sebanyak tiga kali dan setelah proses eluasi didapatkan bahwa ketiganya memiliki nilai ratarata Rf sebesar 0.312 ± 0.014 . Hasil ini mendekati

nilai Rf senyawa tokols berdasarkan literatur yaitu sebesar 0.34.14

Formulasi dan Evaluasi Bentuk-Ukuran Minkrosfer Kitosan Minyak Kelapa Sawit

Berdasarkan formulasi yang dilakukan 3 menghasilkan 3 batch formula dengan bobot rata-rata sebesar 4,860 ± 0,1432 g. Berdasarkan hasil tersebut maka hasil dari satu kali formulasi cukup untuk perlakuan 14 hari untuk dua kelompok perlakuan karena P1 hanya memerlukan 235,2 mg dan P2 memerlukan 352 mg. Hasil evaluasi dengan SEM pada ketiga batch formula mikrosfer didapatkan bahwa batch 1 hanya didapatkan 2 data diameter yaitu 263 dan 289 µm sedangkan batch 2 memiliki rata-rata diameter sebesar 562,3 ± 108,9 µm dan batch 3 memiliki rata-rata diameter sebesar 196,0 ± 34,6 µm. Hasil dari ukuran ini memenuhi kriteria mikrosfer yaitu partikel yang berukuran 1-1000 µm. 19 Hasil evaluasi bentuk yang didapatkan sebagai berikut:



Gambar 1. Bentuk Mikrosfer Kitosan Hasil SEM Keterangan: 1A (200x), 1B (400x), dan 1C (400x) merupakan mikrosfer hasil batch 1; 2A (200x), 2B (150x), dan 2C (250x) merupakan mikrosfer hasil batch 2; dan 3A (600x), 3B (500x), dan 3C (400x) merupakan mikrosfer hasil batch 3.

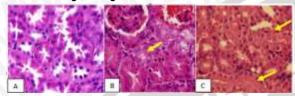
Evaluasi Toksisitas Formaldehida dan Aseton

Berdasarkan hasil perhitungan pada lampiran 6 dan 7 didapatkan hasil bahwa kadar maksimal dari formaldehida dan aseton untuk 1 mencit per hari sebesar 0,0012 mg/gBB dan 0,7043 mg/gBB. Hasil ini menunjukkan kadar yang masih aman karena

maksimal dosis yang dapat ditoleransi per hari untuk mencit yaitu 0,035 mg/gBB²⁰ untuk formaldehida dan 2,3 mg/gBB²¹ untuk aseton. Hasil Pemantauan gejala menunjukkan bahwa mencit tidak mengalami gejala toksisitas formaldehida dan aseton.

Uji Keberhasilan Induksi

Hasil histologi sebagai berikut:



Gambar 2. Histologi Ginjal Evaluasi Induksi

Keterangan: (A) mencit normal memiliki lumen tubulus yang jelas dan inti sel yang masih lengkap (B) mencit yang diinduksi 5 hari menunjukkan lumen tubulus yang mulai menghilang namun belum mengalami nekrosis yang ditunjukkan oleh panah kuning, (C) mencit induksi 7 hari menunjukkan lumen tubulus yang menghilang dan sel yang tidak berinti atau mengalami nekrosis yang ditunjukkan oleh panah kuning

Histologi pada mencit yang telah diinduksi 7 hari menunjukkan bahwa ada celah antar inti sel pada tubulus proksimal yang menunjukkan sel diantaranya mengalami nekrosis dengan ditandai dengan hilangnya inti sel. Hilangnya inti sel ini menunjukkan tanda dari NTA yang merupakan tanda awal GGA. Selain sel yang mengalami nekrosis tanda dari NTA juga dapat dilihat dari hilangnya lumen pada tubulus. Dengan demikian maka induksi 7 hari berhasil membuat mencit mengalami NTA.⁵

Uji Efektivitas Mikrosfer Kitosan Minyak Kelapa Sawit dan Minyak Kelapa Sawit (Hasil Pengukuran MDA)

Hasil dari pengukuran ini menunjukkan rata-rata kadar MDA sebagai berikut:

Kelompok	Kadar MDA (ng/100 mg)
KN	0,137 ± 0,015
KP	0.518 ± 0.094
P1	$0,431 \pm 0,032$
P2	0.345 ± 0.012
P3	$0,293 \pm 0,029$
P4	$0,239 \pm 0,035$

Analisis Data

Hasil menunjukkan bahwa KN dengan KP, P1, P2, P3, P4 memiliki memiliki perbedaan yang signifikan (p < 0,05). Perbandingan KP dengan KN, P2, P3, dan P4 berbeda secara signifikan (p < 0,05), sedangkan perbandingan dengan kelompok P1 tidak ada perbedaan kadar rata-rata MDA yang signifikan (p > 0,05). Untuk kelompok P1 memiliki perbedaan ratarata kadar MDA yang signifikan dengan kelompok KN, P2, P3, dan P4 (p < 0,05). Kelompok P2 memiliki perbedaan rata-rata MDA yang signifikan dengan kelompok KN, KP, P1, dan P4 (p < 0,05) namun tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok P3. Untuk kelompok P3 memiliki perbedaan kadar rata-rata MDA dengan kelompok KN, KP, P1, P4 yang signifikan (p < 0,05) dan untuk P4 memiliki perbedaan yang signifikan dengan KN, KP, P1, P2, dan P3 (p > 0.05).²²

Diskusi

Berdasarkan hasil pengukuran kadar ratarata MDA tiap kelompok dapat dilihat bahwa KN memiliki kadar MDA paling kecil. Hal ini menunjukkan bahwa pada kondisi normal tetap terjadi peroksidasi lipid akibat adanya ROS endogen. Pada metabolisme seluler secara normal dihasilkan produk sampingan berupa ROS endogen.²³ ROS akan berikatan dengan lipid membran sel dan menghasilkan peroksidasi lipid. Peroksidase lipid akan menghasilkan MDA. Dengan demikian maka walaupun dalam keadaan normal pada ginjal mencit masih menghasilkan MDA, namun dalam kadar 0,137 ± 0,015 ng/100 mg ini MDA tidak mengakibatkan NTA. Kelompok KP memiliki kadar MDA paling tinggi yaitu 0,518 ± 0,094 ng/100 mg. Hasil ini dikarenakan KP merupakan kelompok yang diinduksi dengan gentamicin yang memiliki efek meningkatkan ROS karena mengganggu fungsi dari mitokondria sehingga kadar MDA KP lebih tinggi dibandingkan KN, sedangkan dengan kelompok perlakuan kadar KP masih lebih tinggi hal ini dikarenakan kelompok KP tidak diberi agen yang dapat menghentikan proses peroksidase lipid.24 Pada proses peroksidasi lipid tidak ada agen yang menghentikan proses propagasi dengan memberikan

atom hidrogen pada radikal lipid sehingga proses ini terjadi terus menerus dan menghasilkan produk peroksidasi lipid yaitu MDA yang tinggi.²⁵

Kelompok P1 memiliki kadar MDA yang lebih rendah jika dibandingkan dengan KP. Namun jika dibandingkan dengan KN kadar MDA ini masih lebih tinggi. P1 memiliki perbedaan yang signifikan dengan KN (p < 0,001) dan tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan KP (p > 0,05). Kemungkinan dengan dosis mikrosfer kitosan 0,072 mg/gBB kandungan senyawa tokols tidak bisa menghentikan proses peroksidasi lipid secara signifikan dikarenakan jumlah senyawa yang mendonorkan atom hidrogen belum adekuat untuk mengatasi peroksidasi lipid. Pada penelitian sebelumnya disebutkan bahwa minyak kelapa sawit yang memberikan efek terhadap proteksi ginjal adalah dengan dosis 100 mg/kgBB tikus yang setara dengan 0,14 mg/gBB mencit.26 Namun belum ada penelitian sebelumnya yang meneliti efek pemberian minyak kelapa sawit dalam bentuk mikrosfer kitosan dalam menurunkan kadar MDA ginjal.

Kelompok P2 memiliki kadar MDA yang lebih rendah dari KP dan P1 namun lebih tinggi dari KN. P2 memiliki perbedaan yang signifikan dengan KP menunjukkan bahwa dengan pembawa LMWC dalam bentuk mikrosfer kitosan dapat menghantarkan minyak kelapa sawit ke ginjal walaupun hanya dengan kandungan yang kecil sehingga dapat menghambat proses peroksidase lipid dan memiliki efek penurunan MDA. Kelompok P2 bisa memberikan efek terhadap jumlah MDA yang lebih rendah secara signifikan jika dibandingkan dengan KP dikarenakan minyak kelapa sawit yang terkandung di dalamnya cukup dalam menghambat peroksidasi lipid. Minyak kelapa sawit banyak mengandung senvawa antioksidan yang poten diantaranya yaitu senyawa tokols seperti tokoferol, tokotrienol, dan toko monoenol.8 Senyawa ini memiliki gugus fenolik yang mengandung OH. Senyawa ini menghambat proses propagasi dengan memberikan atom hidrogen pada gugus fenoliknya pada radikal peroksil dan mengubahnya menjadi senyawa hidroperoksida yang stabil. Radikal tokoferol yang terbentuk akibat

mendonorkan atom hidrogennya bersifat stabil dan tidak melanjutkan propagasi. Senyawa ini justru dibuang dari siklus dengan reaksi bersama radikal peroksil lainnya dan membentuk senyawa inaktif dan tidak radikal.²⁷ Dengan demikian maka peroksidasi lipid lebih ditekan dan menurun sehingga kadar MDA juga menurun.

Pada penelitian sebelumnya disebutkan bahwa minyak kelapa sawit yang memberikan efek terhadap proteksi ginjal dimulai dengan dosis 100 mg/kgBB tikus yang setara dengan 0,14 mg/gBB mencit.26 Namun berdasarkan hasil penelitian, kelompok P2 dengan dosis 0,107 mg/gBB telah memiliki efek yang baik ke ginjal dengan menghasilkan kadar MDA yang lebih kecil secara signifikan dibandingkan KP. Kemungkinan hal ini dikarenakan terjadi peningkatan akumulasi minyak kelapa sawit di ginjal karena pembawa LMWC yang kurang dari 70 kDa. LMWC dengan berat molekul kurang dari 70 KDa akan mudah berpindah dari sirkulasi menuju ke lumen tubulus melalui filtrasi glomerulus. Selain itu metabolisme oleh hati dan limfa dapat dikurangi dikarenakan LMWC memiliki kemampuan menghindari penangkapan atau mengurangi pengambilan oleh organ liver dan limfa. ¹⁰ LMWC dapat menghindari liver untuk metabolisme dikarenakan kitosan ini memiliki permukaan yang bersifat polar sehingga kitosan diekskresi ke ginjal secara langsung.²⁸ Kemudian LMWC juga dapat meningkatkan akumulasi minyak kelapa sawit di ginjal dikarenakan ada reseptor megalin di tubulus ginjal yang dapat menyerap pembawa kitosan ini. 10 Melalui tiga mekanisme tersebut minyak kelapa sawit yang bersifat non polar dapat dibawa ke ginjal oleh LMWC.

Selain itu bentuk sediaan mikrosfer juga meningkatkan akumulasi minyak kelapa sawit di ginjal karena memiliki ukuran dalam rentang 180-700 mikrometer yang dapat meningkatkan distribusi mikrosfer di korteks ginjal. Peningkatan distribusi mikrosfer ini dikarenakan unkurannya yang kecil sehingga partikel mudah memasuki jaringan yang terjadi inflamasi khususnya bagian tubulus pada kondisi NTA. Mikrosfer kitosan juga memungkinkan penghantaran obat yang bersifat non polar dengan

metode pembuatan emulsi *crosslinking* sehingga meningkatkan bioavaibilitas minyak kelapa sawit karena walaupun minyak kelapa sawit bersifat hidrofobik, dengan formulasi menggunakan mikrosfer kitosan dapat membuat minyak kelapa sawit lebih mudah terdistribusi khususnya ke ginjal.⁹

Untuk kelompok P3 kadar MDA berbeda secara signifikan dengan KP dan KN (p < 0,001). Kadar MDA kelompok ini lebih kecil dibandingkan dengan KP dan lebih besar jika dibandingkan dengan KN. Namun selisih antara P3 dengan KP lebih besar dibandingkan dengan KN. Dengan demikian penurunan sudah mendekati KN. Hal ini menunjukkan bahwa minyak kelapa sawit dengan dosis 0,14 mg/gBB memiliki efek terhadap jumlah MDA yang mengakibatkan jumlah MDA lebih sedikit. Hal ini dikarenakan minyak kelapa sawit memiliki senyawa tokols yang memiliki gugus OH dan bersifat sebagai antioksidan²⁶ sehingga senyawa ini dapat mendonorkan atom hidrogen untuk menghambat proses peroksidasi lipid sehingga kadar MDA menurun.²⁵ Minyak kelapa sawit ini memiliki sifat non polar sehingga dimetabolisme oleh hati menjadi senyawa yang lebih polar untuk bisa diekskresi ke ginjal. Namun senyawa ini masih memiliki efek dalam menurunkan MDA di ginjal dikarenakan hasil metabolit dari senyawa ini yaitu senyawa turunan karboksietil-hidroksikroman (CEHC) yang bersifat polar masih memiliki gugus OH.29,30

Untuk kelompok P4 memiliki kadar MDA 0,239 ± 0,035 ng/100 mg. kadar ini memiliki perbedaan yang signifikan dengan KN, KP, dan P3. Namun kadar ini lebih mendekati KN dikarenakan selisih terhadap KN lebih kecil dibandingkan dengan KP. Mekanisme dari P4 yang dapat menghasilkan jumlah kadar MDA yang lebih rendah secara signifikan memiliki mekanisme yang sama dengan P3 yang telah disebutkan sebelumnya. Namun jika dibandingkan dengan P3 nilai MDA P4 lebih kecil. Pada penelitian sebelumnya disebutkan bahwa dosis minyak kelapa sawit terbukti menunjukkan efek yang baik terhadap proteksi ginjal pada dosis 100 mg/kgBB tikus atau setara dengan 0,14 mg/gBB mencit dan pada dosis lebih besar sama dengan 200 mg/kgBB

tikus tidak menunjukkan hasil yang bagus. 26 Pada P4 dosis minyak kelapa sawit yang digunakan adalah 0,21 mg/gBB mencit atau setara dengan 150 mg/kgBB tikus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar MDA dengan dosis 0,21 mg/gBB lebih kecil dibandingkan dengan dosis 0,14 mg/gBB. Hasil ini menunjukkan bahwa dengan dosis 0,21 mg/gBB efek terhadap penurunan MDA untuk mencegah kerusakan ginjal masih lebih bagus dibandingkan dengan dosis 0,14 mg/gBB. Hal ini dikarenakan kandungan minyak kelapa sawit lebih banyak sehingga kandingan senyawa yang menghambat peroksidasi lipid juga lebih banyak.

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa pemberian mikrosfer kitosan minyak kelapa sawit dan minyak kelapa sawit tanpa pembawa memiliki kadar MDA ginjal dengan NTA yang lebih kecil dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberikan mikrosfer kitosan minyak kelapa sawit maupun minyak kelapa sawit tanpa pembawa walaupun jumlah MDA masih belum mendekati jumlah normal. Mikrosfer kitosan minyak kelapa sawit memiliki efek penurunan terhadap kadar MDA yang signifikan pada pada dosis 0,107 mg/gBB. Minyak kelapa sawit tanpa pembawa dapat menurunkan kadar MDA pada dosis 0,14 mg/gBB dan efek penurunan MDA pada pemberian minyak kelapa sawit lebih besar pada dosis 0,21 mg/gBB dibandingkan 0,14 mg/gBB.

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Tuhan Yesus Kristus yang selalu menyertai dalam penelitian ini sehingga penelitian ini bisa terselesaikan. Terimakasih kepada Efta Triastuti, S.Farm., M.Farm Klin., Apt. dan Ema Pristi Yunita, S.Farm., M.Farm Klin., Apt. selaku pembimbing yang selalu menyediakan waktu untuk memberikan saran-saran pada proses penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Rosen S. dan Isaac E. S. Acute Tubular Necrosis Is a Syndrome of Physiologic and Pathologic Dissociation. *Journal of American* Sociology of Nephrology. 2008; 19: 871-875.
- Rinawati W. dan Diana A. Kidney Injury Molecul-1 (KIM 1) sebagai Penanda Baru Nekrosis Tubular Akut. *Majalah Kedokteran Indonesia*. 2011; 61 (2): 81-85
- Dipiro J. T., Robert L. T., Gary C. Y., Gary R. M., Barbara G. W., dan Michael P. Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach. 7th Ed. USA: Mc Graw Hill. 2008; p727.
- Barrera G. Oxidative Stress and Lipid Peroxidation Products in Cancer Progression and Therapy. ISRN Oncology. 2012;(2012): 1-21.
- Atlas of Pathology. Toxic Tubular Necrosis Third Edition. Romania: University Medicine of Pharmacare. 2009; p1.
- Jetawattana S. Malondialdehyde (MDA), a Lipid Oxidation Product. *Paper*. Tidak diterbitkan. Departement of Radiation Oncology University of Iowa. Iowa. 2005.
- 7. Saifudin, A. dan Saltanat H. R. Enhancing the Removal of Phenolic Compounds from Palm Oil Mill Effluent by Enzymatic Pre-treatment and Microwave-Assisted Extraction. *Chemical Science Transaction*. 2014; 3 (3): 1083-1093.
- Han M., Yuen M., Ah N. M., Cheng H. C., dan Mohamed A. Y., Separation of Vitamin E (Tocopherol, Tocotrienol, and Tocomonoenol) in Palm Oil. *Lipids*. 2004; 39 (10): 1031-1035.
- Mitra A. dan Baisakhi D. Chitosan Microspheres in Novel Drug Delivery Systems. *Indian Journal* of *Pharmaceutical Sciences*. 2011; 73(4): 355-366
- Yuan Z. X., Jing J. L., Xun S., Tao G., dan Zhi R. Z. Enhanced Accumulation of Low Molecular Weight Chitosan in Kidneys: A Study on The Influence of N-Acetylation of Chitosan on The Renal Targeting. *Journal of Drug Targetting*. 2011; 19 (7): 540-551.

- 11. Paramita I. D., Ressa P. D., dan Aji P. Kinetika Reaksi Hidrolisa LMWC dengan HCl. *Jurnal Teknik Kimia dan Industri*. 2012; 1(1): 513-520.
- Qinna N. A., Qutuba G. K., Nawzat A., Mayyas A. A., Tawfiq MA., Khaldoun A. A., et al. Influence of Molecular Weight and Degree of Deacetylation of Low Molecular Weight Chitosan on the Bioactivity of Oral Insulin Preparations. *Marine Drugs*. 2015; 13: 1710-1725.
- Ghosh P. Fundamental of Polymer Science: Molecular Weight of Polymer. Paper. Tidak diterbitkan. Polymer Study Centre. Kolkata. 2006.
- 14. Chandrasekaram K. Analysis Of Phytonutrients From Palm Concentrates By High Performance Liquid Chromatography. *Thesis*. Tidak diterbitkan. Faculty of Science University of Malaya. Kuala Lumpur. 2009.
- 15. Kumar S. S., Saha A .K., Kavitha K., dan Basu S. K. Evaluation of Clobazam Loaded Ionically Cross-Linked Microspheres Using Chitosan. *Der Pharmacia Sinica*. 2012; 3(6):616-623.
- 16. Wakefield J. C. Formaldehyde General Information. Health Protection Agency. 2008;p
- 17. ATSDR. *Toxicological Profile for Acetone*. USA: Public Health Service. U.S. Department of Health and Human Service. 1994; p
- SOP Farmakologi. Standard Operational Procedure of MDA Measurement. SOP. Tidak diterbitkan. Malang: Laboratorium Farmakologi. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. 2016.
- Manjula A., Selvam P., Nirmal R., dan Shakilabanu. Invitro Evaluation Studies of Crosslinked Chitosan Microspheres Contain Rabeprazole Sodium. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2011; 2(6): 1513-1517.
- Word Health Organisation. Formaldehyde in Drinking-water. WHO Guidelines for Drinkingwater Quality. 2005.
- 21. American Chemistry Council Acetone Panel. *Acetone*. USA: Voluntary Children's Chemical Evaluation Program Submission. 2003.

- 22. Stang. Cara Praktis Penentuan Uji Statistik dalam Penelitian Kesehatan dan Kedokteran. Jakarta: Mitra Wacana Media. 2014; p21.
- 23. Bhattacharyya A., Ranajoy C., Sankar M., dan Sheila E. C. Oxidative Stress: An Essential Factor in the Pathogenesis of Gastrointestinal Mucosal Diseases. Physiology Review. 2014; 94: 329-354.
- 24. Khanna, P., Cyntia O., Boon H. B., dan Gyeong H. B. Nanotoxicity: An Interplay of Oxidative Inflammation and Cell Death. Nanomaterials. 2015; 5: 1163-1180.
- 25. Ayala A., Mario F., dan Sandro A. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism Signaling Mechanism of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal in Ramana K. V. (Ed), Oxidative Medicine and Cellular Longevity, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Pharmacy, University of Seville. 2014; p1-31.
- 26. Tan R., Mohamed S., Samaneh G. F., Noordin M., Goh Y. M., dan Manap M. Y. A. Polyphenol

- Rich Oil Palm Leaves Extract Reduce Hyperglycaemia and Lipid Oxidation in STZ-Rats. International Food Research Journal. 2011; 18: 179-188.
- 27. Yamauchi R. Vitamin E: Mechanism of Its Antioxidant Activity. Food Science Technology. 1997; 3(4): 301-309.
- 28. Al-Sou'od K., Rasha A., dan Mayyas A. Surface Activity of Some Low Molecular Weight Chitosan Derivates. Jordan Journal of Chemistry. 2013; 8 (1): 1-17.
- 29. Leonard S. W., Eric G., Michael W. D., Ronald J. S., and Maret G. T. Quantitation of Rat Liver Vitamin E Metabolites by LC-MS During High-Dose Vitamin E Administration. Journal of Lipid Research. 2005; 46: 1068-1075.
- 30. Fairus S., Rosnah M. N., Hwee M. C., and Kalyana S. Alpha-Tocotrienol is The Most Abundant Tocotrienol Isomer Circulated in Plasma and Lipoproteins after Postprandial Tocotrienol-Rich Vitamin E Supplementation. Nutrition Journal. 2012; 11 (5): 1-11.