

repository.ub.ac.id

**PENGARUH GENTAMISIN DOSIS BERTINGKAT TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI DAN KADAREKSPRESI
TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA (TNF- α) GINJAL
PADA HEWAN MODEL TIKUS PUTIH (*Rattus
norvegicus*) GAGAL GINJAL AKUT**

SKRIPSI



PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018



LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**PENGARUH GENTAMISIN DOSIS BERTINGKAT TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI DAN KADAR EKSPRESI
TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA (TNF- α) GINJAL
PADA HEWAN MODEL TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
GAGAL GINJAL AKUT**

Oleh :

SUTARSO
NIM. 145130101111046

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji pada tanggal 03 Agustus 2018 dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Sri Murwani, drh, MP

NIP. 19630101 198903 2 001

drh. Nurina Titisari, M.Sc.

NIP. 19860122 201504 2 001

Mengetahui

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES

NIP. 19600903 198802 2 001



LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Suarso

NIM : 145130107111016

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul:

PENGARUH GENTAMISIN DOSIS BERTINGKAT TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI DAN KADAR EKSPRESI *TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA (TNF- α)* GINJAL PADA HEWAN MODEL TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GAGAL GINJAL AKUT

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, makasaya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, Agustus 2018

Yang menyatakan,

(Sutarso)

NIM. 145130107111016

**PENGARUH GENTAMISIN DOSIS BERTINGKAT TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI DAN KADAR EKSPRESI
TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA (TNF- α) GINJAL
PADA HEWAN MODEL TIKUS PUTIH (*Rattus
norvegicus*)GAGAL GINJAL AKUT**

ABSTRAK

Gagal ginjal akut merupakan gangguan dimana ginjal tidak dapat melakukan fungsi normalnya dalam pembentukan urin dalam waktu yang cepat. Salah satu penyebab gagal ginjal akut adalah antibiotik gentamisin. Gentamisin dapat menyebabkan kerusakan sel pada tubulus nefron. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian gentamisin dosis bertingkat berdasarkan gambaran histopatologi ginjal dan ekspresi *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) ginjal pada hewan model gagal ginjal akut. Hewan coba dalam penelitian ini adalah 20 ekor tikus (*Rattus norvegicus*) jantan dengan berat 200g berumur 2 bulan yang dibagi menjadi 4 kelompok. Kelompok 1 adalah kelompok kontrol negatif yang tidak diberi perlakuan. Kelompok 2,3 dan 4 adalah kelompok yang diinduksi gentamisin dengan dosis 30mg/kgBB, 40mg/kgBB, dan 50mg/kgBB. Kerusakan ginjal yang disebabkan oleh gentamisin diamati melalui preparat histopatologi ginjal menggunakan pewarnaan Hematoxylen Eosin (HE) dan kadar ekspresi TNF- α dengan *flowcytofotometry*. Analisis data secara deksriptif untuk hitopatologi ginjal sedangkan untuk kadar ekspresi TNF- α menggunakan uji *one way* ANOVA dan uji lanjutan BNJ dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=5$). Hasil dari penelitian ini adalah terjadi kerusakan pada ginjal pada semua kelompok perlakuan dosis gentamisin berupa nekrosis di tubulus kontortus, kapsula bowman dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Kadar TNF- α dosis 40mg/kg BB mengalami peningkatan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Kesimpulan dari penelitian ini adalah kelompok perlakuan dengan dosis 40mg/kg BB dapat menyebabkan kerusakan ginjal dan peningkatan kadar TNF- α dibandingkan dengan kontrol negatif.

Kata kunci : ginjal, gagal ginjal, gentamisin, *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α)

**THE EFFECT OF GENTAMISIN DOSE INCREASED TO THE
HISTOPATOLOGY AND TUMOR NECROSIS FACTOR
EXPRESSIONS ALPHA (TNF- α) KIDNEY ON
ANIMAL MODEL RAT (*Rattus norvegicus*)
FAILED KIDNEY WHITE**

ABSTRACT

Acute kidney failure is a disorder in which the kidneys cannot perform their normal function in the formation of urine in a fast time. One of the causes of acute renal failure is antibiotics gentamicin. Gentamicin can cause cell damage to the tubule nephron. This study aims to determine the effect of multilevel gentamicin administration based on renal histopathology and renal expression of Necrosis Factor Alpha (TNF- α) in animal models of acute renal failure. The experimental animals in this study were 20 male rats (*Rattus norvegicus*) weighing 200g 2 months old which were divided into 4 groups. Group 1 is a negative control group that is not treated. Groups 2,3 and 4 were the group induced by gentamicin at a dose of 30 mg/kg BW, 40 mg/kg BW, and 50 mg/kg BW. Kidney damage caused by gentamicin was observed through renal histopathology preparations using Hematoxylen Eosin (HE) staining and TNF- α expression levels with flowcytofotometry. Descriptive data analysis for renal histopatology while TNF- α expression levels used one way ANOVA test and BNJ follow-up test with 95% confidence level ($\alpha = 5$). The results of this study were kidney damage in all gentamicin dose treatment groups in the form of necrosis in the contour tubules, capsule bowman compared to the negative control group. TNF- α levels of 40 mg/kg BW have increased compared to the negative control group. The conclusion of this study is that the treatment group with a dose of 40 mg/kg BW can cause kidney damage and increase levels of TNF- α compared with negative controls.

Keywords: kidney, kidney failure, gentamicin, *Tumor Necrosis Factor alpha* (TNF- α)

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT Yang mengatur segala urusan manusia dan atas segala limpahan rahmat, taufik, serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini yang berjudul Pengaruh Gentamisin Dosis Bertingkat Berdasarkan Gambaran Histopatologi Dan Kadar Ekspresi *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) Ginjal Pada Hewan Model Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Gagal Ginjal Akut. Sholawat dan salam semoga tetap tercurah kepada Nabi Agung Muhammad SAW. Selama penelitian dan penyusunan hasil skripsi ini, halangan, dan rintangan terus menerus terjadi pada diri penulis, sehingga dalam penulisannya melibatkan banyak pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada:

2. Dr, Sri Murwani, drh. MP selaku pembimbing I yang banyak memberikan bimbingan, nasihat, dan arahan kepada penulis.
3. drh. Nurina Titisari, M.Sc selaku pembimbing II yang banyak memberikan bimbingan, nasihat, dan arahan kepada penulis.
4. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan FKH UB yang selalu memberikan dukungan tiada henti demi kemajuan kampus tercinta.
5. drh Ahmad Fauzi M.Si selaku penguji I yang telah banyak memberikan saran dan kritik yang membangun kepada penulis.
6. drh Fidi Nur Aini EPD, M.Si selaku penguji II yang telah banyak memberikan saran dan kritik yang membangun kepada penulis.

7. Ayah dan Ibu tercinta serta seluruh keluarga besar yang telah memberikan do'a, kasih sayang, dan dukungan yang tak terhingga kepada penulis.
8. Seluruh staf dan karyawan FKH, yang telah membantu proses administrasi dalam membuat tugas akhir.
9. Keluarga besar Kosan 520 yang telah menjadi pendorong dalam meraih kesuksesan di FKH UB.
10. Ucapan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian karya tulis ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Akhirnya hanya kepada Allah SWT kita kembalikan semua urusan dan semoga karya tulis ini dapat bermanfaat bagi semua pihak, khususnya bagi penulis dan para pembaca pada umumnya, semoga Allah SWT meridhoi.

Malang, Agustus 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	v
ABSTRAC	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan	3
1.5 Manfaat	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Ginjal	5
2.1.1 Anatomi Ginjal	5
2.1.2 Histologi Ginjal	7
2.1.3 Fisiologi Ginjal	9
2.2 Gagal Ginjal Akut	10
2.3 Hewan Model Gagal Ginjal Akut	12
2.4 Gambaran Histologi Gagal Ginjal	13
2.5 Gentamisin	14
2.5.1 Mekanisme kerja	15
2.5.2 Farmakodinamik dan Farmakokinetik	15
2.5.3 Efek Samping	16
2.6 <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>	17
2.7 Tikus	18
BAB 3. KERANGKA KONSEP	20
3.1 Kerangka Konsep	20
3.2 Hipotesa	22
BAB 4. METODOLOGI PENELITIAN	23
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	23
4.2 Alat dan Bahan Penelitian	23
4.2.1 Alat Penelitian	23
4.2.2 Bahan Penelitian	23
4.3 Penetapan Sampel Penelitian	24
4.4 Penentuan Dosis Gentamisin	25

4.5 Rancangan Penelitian	25
4.6 Variabel Penelitian	25
4.7 Prosedur Penelitian	26
4.7.1 Persiapan Hewan Coba	26
4.7.2 Gentamisin	26
4.7.3 Pemberian Gentamisin	26
4.7.4 Pengambilan Ginjal Tikus	27
4.7.5 Pembuatan Preparat Histopatologi Ginjal	27
4.7.6 Pewarnaan Hematoxylin Eosin	28
4.7.7 Ekspresi TNF- α dengan Metode <i>Flowcytofotometry</i>	29
4.8 Analisis Data	30
BAB 5. HAIL dan PEMBAHASAN	31
5.1 Pengaruh Pemberian Antibiotik Gentamisin Dosis Bertingkat Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus.....	31
5.2 Pengaruh Pemberian Antibiotik Gentamisin Dosis Bertingkat Terhadap Kadar <i>Tummor Nekrosis Factor (TNF)-Alfa</i> Ginjal.	38
BAB 6. PENUTUP	44
6.1 Kesimpulan	44
6.2 Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	48



DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
2.1	Biologis Tikus.....	15
2.2	Daftar Penetapan Dosis.....	22
5.1	Rata-Rata Hasil Kadar TNF- α Ginjal Tikus yang Diinduksi Antibiotik Gentamisin Dosis Bertingkat	37



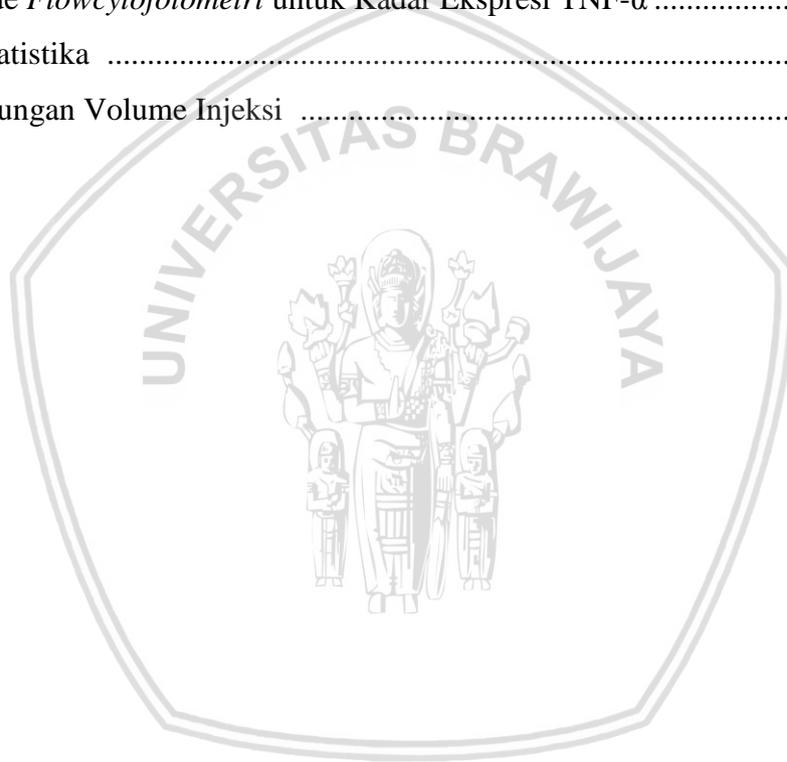
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Anatomi ginjal	7
2.2 Histologi ginjal	8
2.3 Histologi kerusakan ginjal	22
5.1 Makroskopis ginjal pada tikus	32
5.2 Histologi Ginjal Pada Kelompok Kontrol dengan perbesaran 100 kali. Glomelurus (anak panah hitam) yang normal dengan berbentuk bola dan padat, tubulus kontortus (anak panah hijau) proksimal normal dengan bulat bersel kuboid dan terdapat vili	34
5.3 Histologi Ginjal Pada Kelompok Perlakuan I dengan Induksi 30mg/kg BB Perbesaran 100x dan 400x. Glomelurus (anak panah hitam) Mengalami Erosi, Capsula Bowman (anak panah biru) Mengalami Nekrosis, Tubulus Kontortus (anak panah hijau) Mengalami Nekrosis	35
5.4 Histologi Ginjal Pada Kelompok Perlakuan II Induksi 40mg/kg BB Perbesaran 100x dan 400x. Glomelurus (anak panah hitam) Mengalami Erosi, Capsula Bowman (anak panah biru) Mengalami Nekrosis, Tubulus Kontortus (anak panah hijau) Mengalami Nekrosis	36
5.5 Histologi Ginjal Pada Kelompok Perlakuan III Induksi 50mg/kg BB Perbedaran 100x dan 400x. Glomelurus (anak panah hitam) Normal, Capsula Bowman (anak panah hijau) Mengalami Nekrosis, Tubulus Kontortus (anak panah biru) Mengalami Nekrosis	37
5.6 Histogram rata-rata kadar ekspresi TNF- α berdasarkan flowcytometry pada masing-masing perlakuan	38



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Kerangka Operasional Penelitian	48
2. Histopatologi Jaringan Ginjal	49
3. Metode <i>Flowcytofotometri</i> untuk Kadar Ekspresi TNF- α	51
4. Uji Statistika	52
5. Perhitungan Volume Injeksi	55



DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

%	: Persen
APD	: Alat Pelindung Diri
BB	: Berat Badan
cm	: Sentimeter
TNF- α	: <i>Tumor necrosis factor alpha</i>
x	: kali
kg	: Kilogram
mg	: Miligram
g	: Gram
PE	: Physical Examination
<i>sp.</i>	: Spesies
dl	: Desiliter
kal	: Kalori
BB	: Berat badan
mL	: Mililiter
RNA	: <i>Ribonucleoacide</i>
/	: per
°C	: Derajat Celsius
PBS	: Phosphat Buffer Saline
HCl	: Asam klorida
NaCl	: Natrium klorida
\pm	: Kurang lebih
RAL	: Rancangan Acak Lengkap RAL
%	: persen

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Gagal ginjal merupakan gangguan pada ginjal akibat tidak bisa berfungsi secara normal. Beberapa kondisi dimana ginjal dikategorikan sebagai gagal ginjal adalah tidak dapat memfiltrasi darah, tidak dapat mengabsorpsi komponen zat-zat yang dibawa oleh darah, dan tidak bisa mengeluarkan zat yang seharusnya akan dibuang melalui urin (Verdiansah, 2016). Gagal ginjal yang umum terjadi adalah gagal ginjal akut maupun kronis. Gagal ginjal akut merupakan gagal ginjal yang terjadi cukup cepat dengan waktu sekitar beberapa hari sampai mingguan. Gejala yang timbul pada gagal ginjal akut seperti nyeri abdomen, polyuria, oligouria, dan lain-lain (Alfonso, 2016)

Gagal ginjal akut dapat didiagnosa dengan mengukur kadar BUN kreatinin yang dihasilkan oleh individu. Hewan model gagal ginjal akut terjadi karena terjadi kerusakan pada nefron dari ginjal. Pada bagian nefron yang terdiri dari glomerulus, kapsula bowman, tubulus kontortus maupun lengkung henle akan terjadi nekrosis sel. Menurut Halim, (2014) pembuatan gagal ginjal akut tersebut memerlukan waktu sekitar satu bulan. Bahan yang digunakan untuk menginduksi gagal ginjal sangat beragam seperti obatan-obatan (Lathifah, 2016). Salah satu obat yang dapat menyebabkan kerusakan ginjal adalah antibiotik (Chasani, 2008). Antibiotik yang sering digunakan untuk membuat gagal ginjal pada hewan model adalah antibiotik gentamisin. Dosis yang digunakan untuk induksi gagal ginjal sangat beragam. Dosis yang umum

digunakan untuk induksi gagal ginjal adalah 60-100 mg/kgBB selama 10 hari (Padmini, 2012).

Neufrotoksik yang disebabkan oleh antibiotik gentamisin menyebabkan kondisi ginjal menjadi rusak. Ginjal yang rusak dapat ditandai dengan pembengkakan pada korteks ginjal. Selain itu, kondisi sel mengalami nekrosis (Chasani, 2008). Kerusakan ini berlangsung cepat dan dapat dilihat pada hari ke-5 injeksi gentamisin. Kerusakan pada ginjal ini akan menstimulasi sel radang. Beberapa sitokin yang aktif apabila terjadi kerusakan pada sel adalah *Interleukin*, *Tumor Necrosis Factor alpha* (TNF- α) dan lainnya (Soeroso, 2007)

Tumor Necrosis Factor alpha (TNF- α) merupakan sitokin pro-inflamsi yang mana menandakan bahwa terjadi inflamasi pada bagain organ tersebut. *Tumor Necrosis Factor alpha* (TNF- α) juga mengatur proses kematian sel maupun proliferasi dari sel. Sehingga untuk mengetahui kerusakan sel secara molekuler dapat menggunakan *Tumor Necrosis Factor alpha* (TNF- α) sebagai indikator kerusan. *Tumor Necrosis Factor alpha* (TNF- α) akan bekerjasama dengan sistem yang lain untuk mengatasi atau menangani kerusakan dalam tubuh (Supit, 2014)

Berdasarkan pemaparan diatas mengenai gentamisin dan semakin banyak penelitian gagal ginjal maka perlu dilakukan penelitian untuk membuat gagal ginjal secara cepat dengan kerusakan yang cepat juga. Untuk mengetahui gagal ginjal secara akut dapat dilakukan pemeriksaan kondisi ginjal. Pemeriksaan kerusakan ginjal dapat dilakukan melalui histopatologi ginjal dan kadar ekspresi TNF- α .

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Apakah pemberian gentamisin dosis bertingkat dapat menyebabkan perubahan struktur ginjal secara histopatologi ?
2. Apakah pemberian gentamisin dosis bertingkat dapat berpengaruh terhadap kadar TNF- α pada ginjal ?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas, batasan dari penelitian ini adalah :

1. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian adalah tikus (*Rattus novergicus*) jantan berumur 2 bulan dengan berat badan 200 gram (Lintong, 2012) dari D Wistar Bandung yang telah mendapatkan sertifikat laik etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya nomor 954-KEP-UB.
2. Dosis gentamisin yang digunakan adalah 30mg/ kgBB, 40mg/ kgBB, 50mg/ kgBB dan obat diperoleh dari Medica Uno Sidoarjo dengan konsentrasi 100 mg/mL diinjeksikan pada tikus adalah per hari selama 10 hari melalui intramuskulus (Padmini, 2012).
3. Ekspresi TNF- α pada organ ginjal secara *flowcytometry*.
4. Histopatologi ginjal dengan menggunakan pewarnaan hematoxyline eosin yang ditandai adanya kerusakan sel pada ginjal.

1.4 Tujuan

Tujuan dari penelitian yang akan dilakukan adalah :

1. Mengetahui pengaruh pemberian gentamisin dosis bertingkat dapat menyebabkan perubahan struktur ginjal secara histopatologi.
2. Mengetahui pengaruh pemberian gentamisin dosis bertingkat dapat berpengaruh terhadap kadar TNF- α pada ginjal.

1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian yang akan dilakukan adalah :

1. Mampu memberikan informasi tentang pengaruh gentamisin dan dapat digunakan sebagai bahan penelitian berlanjut.
2. Mampu memberikan informasi tentang reaksi sel imunitas atau reaksi TNF- α terhadap adanya pemberian gentamisin.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ginjal

2.1.1 Anatomi Ginjal

Ginjal atau yang disebut dengan renal adalah sepasang organ saluran kemih yang berada di rongga retroperitoneal bagain atas. Bentuk ginjal seperti kacang dengan sisi cekung menghadap medial tetapi pada setiap spesies berbeda tetapi umumnya berbentuk bulat menyerupai kacang. Sisi cekung tersebut berisi pembuluh darah, sistem limfatik, sistem saraf, dan ureter. Ukuran ginjal bermacam-macam sesuai dengan spesies, jenis kelamin, umur dan ada tidaknya ginjal di bagian yang satunya (Aziz, 2008). Rata-rata ukuran ginjal pada manusia sekitar 7cm (lebar) dan tebal 2,5cm (tebal). Berat ginjal memiliki bervariasi tetapi pada manusia sekitar 120-170 gram (Pearce, 2009)

Secara anatomis, ginjal terdiri dari dua bagian yaitu kortek dan medulla. Kortek merupakan bagian luar dari ginjal yang berisi nefron dan jaringan fibrosa. Sedangkan medula merupakan bagian dalam yang berisi lengkung henle dan tubulus distal (Pearce, 2009). Pada bagian atas dari ginjal terdapat anak ginjal atau yang sering disebut dengan kelenjar adrenal yang memiliki warna kuning. Ginjal dibungkus oleh fasia gerota yang berfungsi sebagai barrier menghambat meluasnya pendarahan sari parenkim ginjal serta mencegah ekstravariasi urine saat terjadi trauma. Selain itu, fasia gerota menghambat metastasis dari tumor ginjal ke organ yang lian sekitar ginjal.

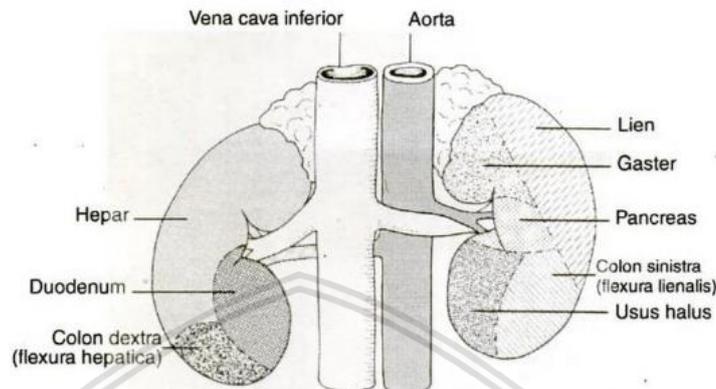
Pada bagian luar fasia gerota terdapat jaringan lemak retroperitoneal yang sering disebut dengan jaringan lemak pareral (Aziz, 2008)

Sebelah posterior, ginjal dilindungi oleh otot punggung yang tebal dan tulang rusuk ke XI dan XII dan pada bagian anterior dilindungi oleh organ-organ intraperitoneal. Bagian sebelah ginjal kanan dikelilingi oleh hepar, kolon dan duodenum. Ginjal bagian kiri dikelilingi oleh lien, lambung, pankreas, jejunum dan kolon. Sehingga ginjal sedikit lebih aman apabila ada kejadian trauma karena terlindungi oleh organ-organ tersebut (Aziz, 2008)

Secara fungsional ginjal berperan dalam proses filtrasi darah, absorpsi komponen darah, augmentasi dan reabsorpsi. Pada bagian korteks terdapat berjuta-juta nefron yang terdiri dari glomerulus, tubulus kontortus proksimal, lengkung henle, dan tubulus kontortus distal dan tubulus kolektivus sesuai **Gambar 2.1**. Glomerulus berfungsi sebagai penyaring darah nantinya akan di filtrasi oleh kapsula bowman . Proses absorpsi berada di tubulus proksimal . proses augmentasi berada di lengkung henle dan proses reabsorpsi berada di tubulus kontortus distal dan tubulus kolektivus. Dan sisa metabolisme akan dikeluarkan menjadi urine yang nantinya akan melewati ureter, vesika urinaria dan uretra (Isnaeni, 2006)

Selain berfungsi membuang metabolisme tubuh urine, ginjal memiliki beberapa fungsi sebagai penghasil endokrin. Ginjal akan mengontrol sekresi *Anti Diuretic Hormone* (ADH), mengatur metabolisme ion kalsium dan vitamin D, menghasilkan hormon eritropoetin yang berperan dalam pembentukan sel darah merah, kalsitriol (vitamin D) yang berfungsi mengatur

tekanan darah dengan cara mengatur keseimbangan kadar kalsium dan hormone prostaglandin (Isnaeni, 2006)



Gambar 2.1 Organ Ginjal (Gibson, 2002)

2.1.2 Histologi Ginjal

Unit kerja secara fungsional, ginjal tersusun dari berjuta-juta nefron yang mempunyai struktur dan fungsi yang sama. Setiap nefron terdiri dari korpuskel renalis, tubulus kontortus prksimal, lengkung henle, dan tubulus kontortus dista dan tubulus kolektivus **Gambar 2.2.** (Adleend, 2015).

a. Korpuskel Renalis

Korpuskel renalis terdiri dari glomerulus yang dikelilingi oleh kapsul epitel berdinding ganda yang disebut dengan kapsula bowman. Lapisan luar membentuk batas korpuskel renalis yang disebut dengan lapisan parietal kapsula bowman. Bentuk lapisan parietal kapsula bowman adalah sel epitel yang gepeng dengan ditunjang lamina basalis. Sedangkan pada glomerulus sel berbentuk seperti tonjolan-tonjolan yang dikenal sebagai sel podosit dan bersinggungan dengan membrane basalis pada jarak tertentu sehingga terdapat daerah yang kosong. Komponen penting dari glomerulus adalah mesangium yang terdiri dari sel mesangial dan matriks mesangial.

Sel mesangial bersifat kontraktil dan memiliki reseptor untuk angiotensin II. Selain itu, sel mesangial berfungsi sebagai tunjangan struktural pada glomerulus, mensintesis matriks, mengendositosis dan membuang molekul normal (Adleend, 2015)

b. Tubulus Kontortus Proksimal

Bentuk epitel dari tubulus kontortus proksimal adalah kuboid ataupun silindris rendah. Di tempat inilah terjadi proses penyerapan atau absorpsi dan ekskresi. Pada tubulus kontortus proksimal akan disekresikan kreatinin dan substansi asing bagi organisme seperti asam paraaminohipurat dan penisilin (Dewi, 2013)

c. Lengkung Henle

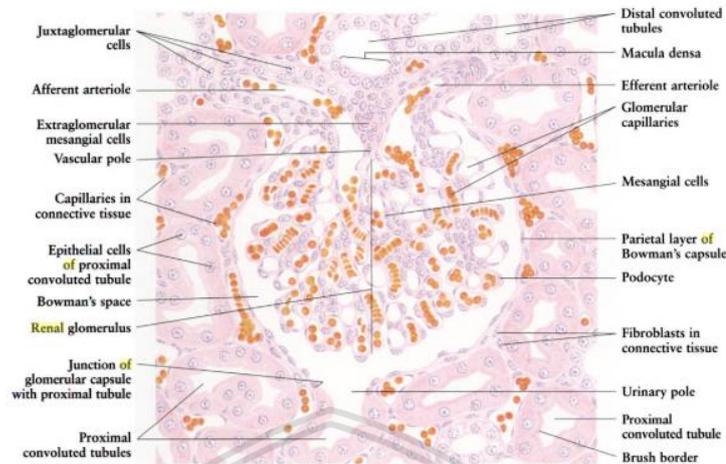
Lengkung henle memiliki bentuk seperti huruf "U" dengan sel skuamus simpleks. Pada bagian ini terlibat retensi air (Dewi, 2013)

d. Tubulus Kontortus Distal

Bentuk dari tubulus kontortus distal berkelok-kelok. Sel-sel tubulus kontortus distal memiliki banyak invaginasi membrane basal dan mitokondria yang berfungsi transport air. Bentuk sel dari tubulus kontortus distal adalah kuboid selapis (Dewi, 2013).

e. Tubulus Kolektivus

Bentuk epitel dari tubulus kolektivus adalah kuboid warna dari sel ini pucat. Epitel ini memiliki sifat mudah dilalui air yang diabsorpsi dari filtrasi glomerulus sehingga terjadi proses reabsorpsi (Dewi, 2013)



Gambar 2.2 Hitologi Ginjal Normal (Zhang, 1998)

2.1.3 Fisiologis Ginjal

Secara fungsional ginjal berperan dalam proses filtrasi darah, absorpsi komponen darah, augmentasi dan reabsorpsi. Pada bagian korteks terdapat berjuta-juta nefron yang terdiri dari glomerulus, tubulus kontortus proksimal, lengkung henle, dan tubulus kontortus distal dan tubulus kolektivus. Glomerulus berfungsi sebagai penyaring darah nantinya akan di filtrasi oleh kapsula bowman . Proses filtrasi darah bertujuan untuk memisahkan plasma darah dari air, ion-ion dan molekul. Proses absorpsi berada di tubulus proksimal dengan yang diabsorpsi adalah gula, asam amino, vitamin dan lain-lain. Proses augmentasi berada di lengkung henle dan proses reabsorpsi berada di tubulus kontortus distal dan tubulus kolektivus. Dan sisa metabolisme akan dikeluarkan menjadi urine yang nantinya akan melewati ureter, vesika urinaria dan uretra (Isnaeni, 2006)

Menurut Aziz (2008), fungsi ginjal untuk mempertahankan kestabilan cairan adalah mempertahankan keseimbangan H₂O dalam tubuh; mengatur

jumlah dan konsentrasi sebagian besar ion CES, termasuk Na^+ , Cl^- , K^+ , HCO_3^- , Ca^{2+} , Mg^{2+} , SO_4^{2-} , PO_4^{2-} , dan H^+ ; memelihara volume plasma yang sesuai, sehingga sangat berperan dalam pengaturan jangka panjang tekanan darah arteri. Fungsi ini dilaksanakan melalui peran ginjal sebagai pengatur keseimbangan garam dan H_2O , membantu memelihara keseimbangan asam-basa tubuh dan menyesuaikan pengeluaran H^+ dan HCO_3^- melalui urin; memelihara osmolaritas berbagai cairan, terutama melalui pengaturan keseimbangan H_2O ; mengekskresikan produk-produk sisa dari metabolisme tubuh, misalnya urea, asam urat, dan kreatinin. Jika dibiarkan menumpuk, zat-zat sisa tersebut bersifat toksik bagi tubuh, terutama otak; mensekresikan banyak senyawa asing, misalnya obat zat penambah pada makanan, pestisida, dan bahan-bahan eksogen non nutrisi lainnya yang berhasil masuk ke dalam tubuh; mensekresikan eritropoietin, suatu hormon yang dapat merangsang pembentukan sel darah merah; mensekresikan renin, suatu hormon enzimatik yang memicu reaksi berantai yang penting dalam proses konservasi garam oleh ginjal; mengubah vitamin D menjadi bentuk aktifnya.

2.2 Gagal Ginjal Akut

Gagal ginjal akut adalah sindroma yang ditandai dengan penurunan laju filtrasi glomerulus secara mendadak dan cepat yang menyebabkan terjadinya retensi produk sisa nitrogen seperti ureum dan kreatinin. Peningkatan jumlah kreatinin serum sekitar 0,5 mg/dL dari nilai sebelumnya. Kejadian gagal ginjal akut ini berlangsung cepat mulai dari beberapa hari sampai mingguan. Penyebab gagal ginjal akut biasanya disebabkan oleh obat yang sering

dikonsumsi setiap harinya (Alam, 2007). Penyebab gagal ginjal prerenal diakibatkan oleh hipofungsi ginjal seperti dehidrasi, perdarahan, penurunan curah jantung dan hipotensi yang lain. penyebab gagal ginjal renal diakibatkan oleh kerusakan akut parenkim ginjal seperti obat, bahan kimia atau toksik, iksemia ginjal dan penyakit glomerulus. Sedangkan pada gagal ginjal pascarenal diakibatkan oleh obstruksi akut traktus urinaria seperti batu di saluran kemih (Aziz, 2008)

Diagnosa gagal ginjal akut ini dapat dilihat dengan beberapa fase. Fase yang pertama adalah anuria, yang mana tidak bisa mengeluarkan urine (produksi urine $<100\text{mL}/24\text{jam}$). Fase yang kedua adalah oligouria dimana kondisi bisa urinasi tetapi mengalami rasa nyeri atau sakit (produksi urin $<400\text{mL}/24\text{jam}$). Sedangkan yang ketiga adalah polyuria dimana kondisi sering melakukan urinasi (produksi urine $>3500\text{mL}/24\text{jam}$). Diagnosa banding gagal ginjal akut adalah penyakit ginjal kronik. Pemeriksaan penunjang yang dilakukan untuk uji kerusakan ginjal adalah darah lengkap, urinalisis elektrolit, analisi gas darah, gula darah, tes fungsi ginjal (Alam, 2007).

Terapi yang dilakukan untuk mengatasi gagal ginjal akut adalah kebutuhan kalori 30 kal/kgBB untuk idealnya dan ditambah $15-20$ untuk penderita gagal ginjal akut, kebutuhan protein $1-1,5\text{ g/kgBB}$ untuk penderita gagal ginjal akut, perbandingan karbohidrat dan lemak yang dikonsumsi adalah $70:30$, tidak mengkonsumsi suplemen asam amino, pemberian air minum $300-500\text{mL}$ perhari.

2.3 Hewan Model Gagal Ginjal Akut

Hewan model merupakan hewan yang digunakan untuk percobaan di dalam laboratorium. Secara umum, hewan coba yang sering digunakan adalah tikus dan mencit. Tikus dan mencit sering digunakan karena mudah didapatkan, harga ekonomis, siklus hidupnya cepat, dan mudah untuk di *handling*. Beberapa contoh penelitian yang menggunakan hewan model tikus atau mencit adalah diabetes, uji modifikasi DNA, uji toksisitas makanan, bahkan sampai gagal ginjal akut.

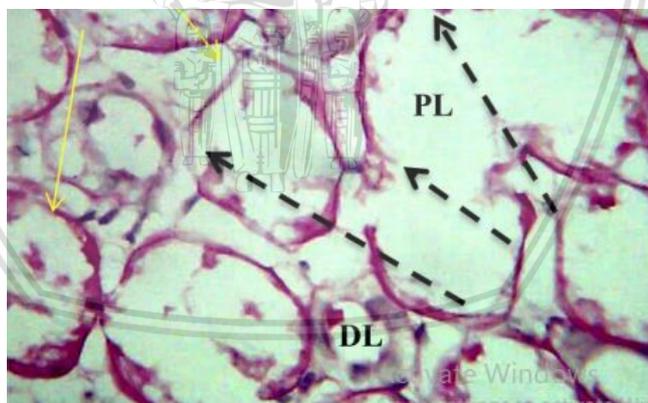
Hewan model gagal ginjal merupakan percobaan menggunakan hewan model yang dibuat untuk merusak kondisi ginjal. Kondisi hewan yang dikatakan gagal ginjal adalah tidak bisa berfungsi secara normal ginjal tersebut. Fungsi normal pada ginjal adalah filtrasi darah, absorpsi, augmentasi dan reabsorpsi. Kegagal ginjal dalam fungsinya disebabkan oleh berbagai agen seperti makanan, minuman, infeksi, obat-obatan dan lain-lain. Agen yang secara cepat membuat kondisi gagal ginjal adalah obat-obatan. Obat-obatan yang dapat membuat toksik pada ginjal adalah antibiotik (Amin, 2014). Salah satu antibiotik yang mampu membuat nefrotoksik adalah gentamisin (Lopes, 2001).

Hewan model gagal ginjal yang diinduksi menggunakan gentamisin sudah mulai digunakan. Menurut Padmini (2012) dosis gentamisin yang dapat menyebabkan nefrotoksik adalah 60 mg/kg BB dengan lama induksi 10 hari. Sedangkan menurut Halim (2014) gentamisin dapat menyebabkan toksik pada ginjal dengan dosis 10 mg/kg BB dengan waktu berberbulan-bulan. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Ataman, (2018) dosis gentamisin 100 mg/kg

BB selama 8 hari. Penggunaan gentamisin untuk membuat gagal ginjal secara akut belum efisien karena dosis yang digunakan tergolong cukup tinggi yaitu 60 mg/kg BB. Sedangkan untuk dosis 10 mg/kg BB membutuhkan waktu yang lama hingga berbulan-bulan. Sehingga perlu untuk memodifikasi dari berbagai penelitian untuk membuat hewan model gagal ginjal akut secara akurat dan tepat.

2.4 Gambaran Histologi Gagal Ginjal

Salah satu cara untuk mengetahui kondisi ginjal dengan membuat histopatologi ginjal. Histopatologi tersebut menggunakan pewarnaan HE. Pengamatan yang umum digunakan untuk mengamati histologi ginjal dengan perbesaran 100 kali dan 400 kali.



Gambar 2.3 Histologi Kerusakan Ginjal (Asah-opoku, 2015)

Keterangan : PL= lumen tubulus kontortus proksimal, DL=lumen tubulus kontortus distal.

Berdasarkan gambaran histologi ginjal pada **Gambar 2.3** kondisi ginjal sudah rusak. Pada gambar diatas merupakan bagian ginjal yang korteks. Ciri-ciri bagian korteks adalah terdapat tubulus konortus dengan berbentuk bulat dan berlumen. Jenis sel pada tubulus adalah kuboid selapis. Kerusakan ginjal

dimulai dari tubulus kontroksus proksimal. Pada tubulus terdapat sel yang nekrosis dengan ciri-ciri sitoplasma mulai keluar, inti sel menghilang. Kondisi tubulus sudah tidak beraturan yang mana keadaan normal berbentuk bulat dengan kondisi sel masih utuh dan terdapat vili yang membantu dalam proses absopsi (Jannat, 2017).

2.5 Gentamisin

Gentamisin adalah salah satu obat antibiotik golongan aminoglikosida. Aminoglikosida merupakan sekelompok obat bakteri yang berasal dari berbagai spesies *streptomyses*. Amonoglikosida mempunyai sifat kimiawi, antimikroba, farmakologi dan efek toksik yang sama. Beberapa golongan amonoglikosida adalah streptomisin, kanamisin, neomisin, amikasin, tobramisin, sisomisin, nitelmisin dan lain-lain. Tetapi, golongan aminoglikosida yang sering digunakan adalah gentamisin, tobramisin dan amikasin (Dalimunthe, 2008). Penggunaan antibiotik digunakan untuk kasus infeksi yang serius. Hal tersebut dikarenakan penggunaan antibiotik digunakan untuk spektrum luas terhadap kasus infeksi kuman aerob gram negative berbentuk basil. Contoh beberapa bakteri basilus gram negatif adalah *Eschericia coli*, *Proteus morabilis*, *Klebsiella sp* dan lain-lain (Akron, 2016)

2.5.1 Mekanisme kerja

Mekanisme kerja dari gentamisin dengan cara menembus dinding bakteri dan mengikat diri pada ribosom. Kemudian gentamisin mengganggu proses translasi dari RNA menjadi kacau. Untuk

menembus dinding sampai ke ribosom, aminoglikosida yang bermuatan positif berikatan dengan membrane luar bakteri yang bersifat negatif (Amin, 2014)

Mekanisme terjadinya kerusakan sel di ginjal yang diakibatkan oleh gentamisin adalah gentamisin akan berikatan dengan lisosom. Ikatan gentamisin dan lisosom dalam sel melalui berawal proses endositosis pada proses absorpsi. Kemudian lisosom tersebut akan pecah dan enzim hidrolitik yang ada dalam lisosom keluar sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan sel. Enzim hidrolitik adalah enzim yang digunakan untuk memecah bahan-bahan makanan seperti karbohidrat, protein dan lain-lain. Kerusakan sel ini dapat dilihat dengan terjadinya pembengkakan atau nekrosis dari sel (Chasani, 2008)

2.5.2 Farmakodinamik dan Farmakokinetik

Antibiotik aminoglikosida memiliki farmakokinetik hampir sama dengan semua golongan aminoglikosida yang lain. Pemberian melalui intravena, 15-30 menit setelah pemberian akan didistribusikan ke ekstraseluler dan konsentrasi puncak dalam plasma pada waktu 30-60 menit setelah pemberian. Waktu paruh pemberian aminoglikosida 1,5-3,5 jam (Amin, 2014)

Setelah gentamisin bercampur dengan darah maka gentamisin akan menuju ke ginjal untuk di filtrasi. Pada saat di ginjal gentamisin tidak dapat difiltrasi karena efek gentamisin akan merusak sel glomerulus.

Gentamisin akan berikatan dengan ribosom dan menyebabkan sel mengalami kerusakan. Karena rusak tersebut maka sel tidak bisa menfiltrasi darah dan sebagian besar gentamisin terbawa melauui urin dan sebagian kecil tetap berada di ginjal (Amin, 2014)

2.5.3 Efek Samping

Efek samping dari gentamisin ini adalah nefrotoksik sehingga untuk penggunaannya perlu diperhatikan usia pasien, gangguan ginjal, gangguan hati. Penggunaan aminoglikosida multidosis selama 3 hari bersifat nefrotoksik. Tetapi nekrosis tubulus renal bersifat sementara sehingga dapat mengalami *recovery* setelah penghentian obat. Gentamisin juga memiliki sifat hepatoksik karena gentamisin merupakan xenobiotic yang merusak hepar. Selain hepar, gentamsin juga menyerang pulmo. Gentamisin akan merusak alveolus pada hepar. Gentamisin dapat menyebabkan tuli bilateral yang bersifat permanen dan dapat menyebabkan kematian dengan menyerang otot serta menyebabkan kelumpuhan (Aap, 2013)

2.6 *Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α)*

Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) merupakan salah satu sitokin pro-inflamasi yang ada pada saat terjadi reaksi peradangan atau kerusakan. TNF- α dihasilkan dari makrofag dan sel-sel jenis lain yang termasuk sistem imunitas. Sel yang dapat mengasilkan TNF- α ketika ada rangsangan yang cocok seperti limfosit dan natural killer. Untuk menghasilkan TNF- α perlu bantuan dari sitokin yang lain yaitu IL-1. IL-1 akan menginduksi produksi TNF- α dan juga

sebaliknya TNF- α akan menginduksi produksi IL-1 oleh makrofag. TNF terdiri dari dua bentuk yaitu TNF- α dan TNF- β . TNF- α diproduksi oleh makrofag, sel T, sel B, kupfer. Sedangkan TNF- β disekresikan oleh sel T (Supit, 2015)

Menurut Misitahari (2011), efek dari TNF dan manifestasinya adalah sebagai berikut :

1. Efek TNF sebagai sitotoksik adalah efek dari beberapa jenis tumor yang mengalami kemunduran dan nekrosis yang disertai pendarahan. Sel tumor dapat dibunuh oleh makrofag sehingga TNF dapat berperan dalam mengatasi sel tumor.
2. Efek TNF sebagai radang yaitu TNF dianggap sebagai mediator utama dalam radang. Selain itu juga TNF berperan dalam penyembuhan luka.
3. Efek TNF pada hematopoietik yaitu akan menghambat koloni biakan leukosit, dan eritrosit.
4. Efek TNF pada imunologik yaitu dapat merangsang limfosit T, meningkatkan ekspresi antigen kelas I pada fibroblast dan endotel.

Proses munculnya TNF- α berawal dari terjadinya kerusakan pada sel. Kerusakan sel akan mengaktifkan NF-Kb (*Nuclear Factor kappa B*). Aktifasi NF-kB akan memicu makrofag untuk memfagositosis sel. Kemudian pada proses fagositosis akan menghasilkan radikal bebas, sitokin, dan MMP (*Matrix Metalloproteinase*). Salah satu sitokin yang muncul pada kerusakan sel adalah TNF- α (Baratawidjaja, 2004)

2.7 Tikus

Menurut Akbar (2010), Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: animalia
Phylum	: chordata
Subphylum	: vertebrata
Class	: mamalia
Ordo	: rodentia
Genus	: rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Hewan laboratorium atau hewan percobaan adalah hewan yang sengaja di pelihara untuk dijadikan sebagai hewan model penelitian, percobaan dan pembelajaran dari berbagai bidang ilmu dalam skala pengamatan laboratorium. Tikus merupakan golongan mamalia sehingga untuk digunakan sebagai hewan model percobaan hasilnya akan tidak jauh berbeda dengan hewan mamalia yang lain. Selain itu, tikus merupakan hewan model yang sangat ekonomis, mudah dikembangbiakkan, mudah di beri perlakuan. Umumnya tikus digunakan untuk percobaan dengan kasus diabetes mellitus, gagal ginjal, hiperkolesterol dan lain-lain (Maula, 2014)

Menurut (Akbar, 2010) keunggulan dari tikus putih adalah cepat dewasa, tidak memperlihatkan musim kawain, dan cepat berkembang biak, mudah ditangani, dapat ditinggal sendiri dalam kandang, berukuran cukup besar dan mudah dalam pengamatan. Umur dewasa dari tikus putih sekitar dua bulan

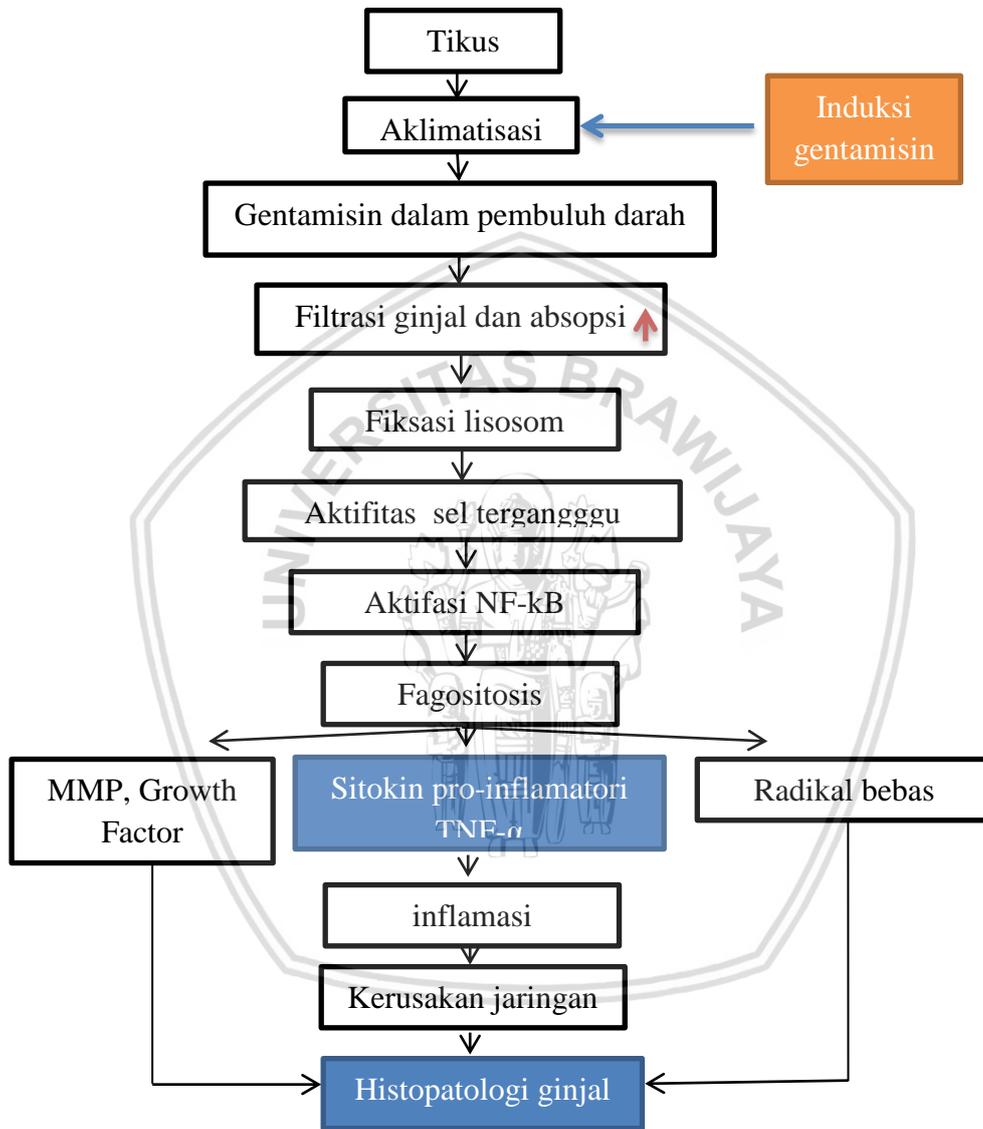
dengan berat sekitar 200-250g. Data biologis dari tikus adalah sebagai berikut:

Table2.1 Biologis Tikus (Maula, 2014)

Indikator	Hasil
Lama hidup	2-3 tahun
Lama bunting	20-22 hari
Umur dewasa	40-60 hari
Seklus kelamin	Poliestrus
Lama estrus	9-20 jam
Berat dewasa	300-400 g untuk jantan 250-300 g untuk betina
Suhu	36-39 °C
Pernafsan	65-115 permenit
Denyut jantung	330-480 permenit
Konsumsi makanan	15-30 g/hari
Konsumsi minuman	20-45 ml/hari
Dosis toksik gentamisin	60 mg/kgBB

BAB III KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :

- : Perlakuan
- : Yang akan di teliti
- : Perlakuan pada Hewan Coba
- : Meningkatkan
- : Selanjutnya/Mempengaruhi

Pemberian gentamisin melalui intramuskulus glutealis atau semimbrinosus semitendinosus selama 10 hari dengan dosis yang berbeda. Gentamisin akan masuk ke dalam pembuluh darah dan nantinya akan di filtrasi oleh ginjal. Gentamisin akan diabsorpsi melalui proses endositosis dan berikatan dengan lisosom. Lisosom merupakan organel sel yang berisi enzim hidrolitik dan berfungsi memecah atau mencerna bahan-bahan seperti karbohidrat, protein yang ada dalam sel. Ikatan antara lisosom dan gentamisin akan menyebabkan membrane lisosom pecah dan melepaskan enzim hidrolitik dan menyebabkan sel mengalami kerusakan (Chasani, 2008). Kerusakan yang terjadi pada bagian kortek ginjal yaitu sel tubulus. Kerusakan sel ditandai dengan ada sel yang mengalami pembengkakan ataupun nekrosis. Kerusakan sel akan mengaktifkan NF-kB yang berada di dalam makrofag. Setelah aktivasi NF-Kb maka terjadi proses fagositosis. Fagositosis akan menghasilkan sitokin, radikal bebas, MMP.

Radikal bebas terjadi akibat fagositosis akan membentuk ROS (*Reactive Oxyge Spesies*) untuk membunuh mikroorganisme. *Matrix Metalloproteinase* (MMP) dan *growth factor* berperan dalam proses remodeling atau penyembuhan dari kerusakan. Sedangkan produksi sitokin seperti TNF- α yang dihasilkan dari makrofag sebagai tanda adanya kerusakan.

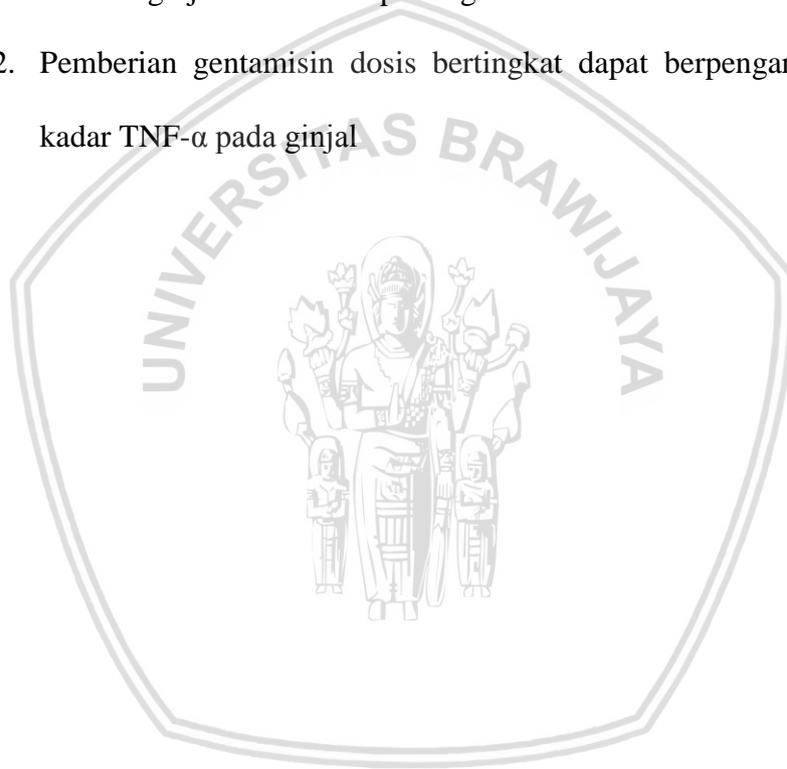
Kerusakan jaringan dapat diidentifikasi menggunakan histopatologi dengan menggunakan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE). Sedangkan TNF- α merupakan salah satu sitokin pro-inflamatori sebagai sistem pertahanan tubuh. Reaksi TNF- α muncul setelah terjadi kerusakan. Semakin parah kerusakan organ maka semakin banyak jumlah TNF- α yang muncul. TNF- α dapat teridentifikasi menggunakan

metode flowsitometri. Metode ini akan memperlihatkan kenaikan kadar TNF- α pada organ ginjal.

3.2 Hipotesa Penelitian

Hipotesa dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Pemberian gentamisin dosis bertingkat dapat menyebabkan perubahan struktur ginjal secara histopatologi.
2. Pemberian gentamisin dosis bertingkat dapat berpengaruh terhadap kadar TNF- α pada ginjal



BAB IV METODOLOGI PENELITIAN

1.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan April sampai Mei 2018. Aklimasi tikus sebelum dilakukan perlakuan berada di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya. Tahapan pemberian perlakuan terhadap hewan coba di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Tahapan pengamatan ekspresi TNF- α di Laboratorium Biologi Seluler dan Molekuler Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya. Pembuatan histopatologi ginjal di Laboratorium Patologi Anatomi Kesima.

4.2 Alat dan Bahan Penelitian

4.2.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang tikus, objek glass, mikroskop, kandang tikus, alat bedah, timbangan, tempat minum tikus, beker glass, gelas ukur, gunting, pinset, pipet, pot organ, cover gelas, papan bedah, spuit, kamera, komputer,.

4.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah hewan coba tikus berumur 2 bulan, gentamisin, Phosphat Buffer Saline (PBS), blok paraffin, formaldehid, alkohol bertingkat, NaCl, hematoxyline, eosin, xylol bertingkat,

pakan tikus, etanol, xylol, paraffin, HCl, litium karbonat, , antibodi primer anti TNF- α , antibodi sekunder.

4.3 Penetapan Sampel Penelitian

Kriteria hewan model yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang berumur 2 bulan dan berat badan 150-200 gram (Lintong, 2012) yang mendapatkan sertifikat layak etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya. Pengulangannya dihitung dengan rumus sebagai berikut (Wulandari, 2014):

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

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 15+4$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 5$$

keterangan :

p = jumlah perlakuan

n= jumlah minimal ulangan yang diperlakukan

Berdasarkan perhitungan diatas dapat disimpulkan bahwa untuk 4 perlakuan diperlukan ulangan paling sedikit 5 kali dalam setiap perlakuan sehingga jumlah tikusnya 20 ekor. Kelompok perlakuan terdiri dari kontrol negatif (K1), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), perlakuan 3 (P3). Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini dalam keadaan sehat yang dapat

diamati secara fisik normal, mata bersinar, rambut mengkilap, aktif dan nafsu makan baik.

4.4 Penetapan Dosis Gentamisin

Dosis gentamisin yang dipakai adalah berbeda-beda per individu. Pemberian diberikan berturut-turut selama 10 hari.

Tabel 4.1 Daftar penetapan dosis gentamisin

Kelompok	Perlakuan
Kontrol (P1)	Akuades 0,3mL
Perlakuan 1 (P2)	Pemberian gentamisin dosis 30mg/kgBB
Perlakuan 2 (P3)	Pemberian gentamisin dosis 40mg/kgBB
Perlakuan 3 (P4)	Pemberian gentamisin dosis 50mg/kgBB

4.5 Rancangan Penelitian

Penelitian ini akan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan yang digunakan ini adalah rancangan yang sering digunakan dengan 4 kelompok perlakuan (Patria, 2016)

4.6 Variabel Penelitian

Variabel yang terdapat dalam penelitian ini adalah :

Variabel bebas : dosis gentamisin

Variabel terkait : kadar TNF- α dan histopatologi ginjal

Variabel kontrol :tikus putih jenis galur wistar (*Rattus norvegicus*):
umur, berat badan, suhu, kelembaban kandang, dan pakan.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Persiapan Hewan Coba

Persiapan hewan coba selama 10 hari dengan tujuan untuk mengadaptasikan dengan lingkungan barunya. Kondisi lingkungan pada saat proses pengadaptasikan sekitar 22-24 °C dengan kelembapan udara sekitar 60%-70% (Widarma,2016). Pakan yang diberikan pada hewan coba berupa ransum 20g per ekor selama satu hari dengan kondisi kandang bersih, bebas dari kebisingan, dan bebas dari polusi (Widiartini, 2013).

4.7.2 Gentamisin

Pemberian gentamisin setiap kelompok berbeda-beda. Sebelum dilakukan pemberian, dilakukan persiapan gentamisin terlebih dahulu. Penyimpanan gentamisin di suhu ruangan. Pengambilan gentamisin menggunakan spuit 1mL. Kelompok 1 merupakan kelompok kontrol, kelompok 2 merupakan perlakuan dengan pemberian 30mg, kelompok 3 merupakan perlakuan dengan pemberian 40mg, dan kelompok 4 merupakan perlakuan dengan pemberian 50mg (Padmini, 2012)

4.7.3 Pemberian Gentamisin

Pemberian genamisin melalui intra muskulus semimembrinosus dan semitendinosus atau muskulus glutealis menggunakan spuit 1mL dengan

ujuran jarum 26G selama 10 hari dengan dosis yang berbeda pada setiap perlakuan (Padmini, 2012)

4.7.4 Pengambilan Ginjal Tikus

Pengambilan organ ginjal dilakukan pada hari ke-11 setelah pemberian gentamisin yang pertama. Prosedur yang dilakukan dengan mendislokasio cervical pada tikus, kemudian memposisikan ventrodorsal dan meletakkan pada papan bedah. Selanjutnya melakukan pembedahan menggunakan alat bedah dengan cara insisi di bagian abdomen hingga thorak. Setelah menginsisi, selanjutnya mengambil organ ginjal dengan cara memotong. Kemudian mencuci organ dengan NaCl fisiologis dan memasukkannya ke larutan buffer (PBS) dengan pH7,4 (Wulandari, 2012)

4.7.5. Pembuatan Preparat Histopatologi Ginjal

Organ ginjal yang telah dikoleksi dimasukkan kedalam formaldehid dengan tujuan supaya tidak rusak jaringannya. Kemudian pindahkan jaringan ke dalam alkohol 70% sebagai *stopping point*. Selanjutnya didehidrasi dengan alkohol bertingkat dengan konsentrasi 70% selama 24 jam, etanol 80% selama 2 jam, etanol 90%, 95% dan etanol absolut selama 20 menit. Kemudian merendam organ ke dalam *xylol* I selama 20 menit dan *xylol* II selama 30 menit supaya organnya bersih (Widarma,2016). Kemudian melakukan filtrasi dan embedding dalam blok paraffin 56-58 °C. organ ginjal disayat dengan ketebalan 5 mikron menggunakan alat mikrotom putar. Setiap ulangan dibuat 4 sayatan

dengan interval 10 sayatan dan diletakkan diatas gelas objek yang sudah diberi larutan alkohol 70%. Selanjutnya di warnai dengan pewarnaan *Hematoxylin eosin* (HE) (Wulandari, 2012)

Pengamatan preparat histologi dari organ ginjal menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x (perbesaran lensa okuler 10x dan lensa objektif 10x) - 400x (perbesaran lensa okuler 10x dan lensa objektif 40x). Pengamatan pada organ dengan mengamati bentuk sel nefron.

4.7.6 Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)

Pewarnaan Hematoxylin Eosin pada ginjal dilakukan dengan cara (Wulandari, 2012),

- a. Deparafinisasi, yaitu menghilangkan parafin yang ada pada jaringan dengan cara menggunakan larutan *xylol* bertingkat I, II, dan III selama 5 menit.
- b. Rehidrasi, yaitu memasukkan ke dalam alkohol bertingkat mulai alkohol 95%,90%,80% dan 70% masing-masing selama 5 menit serta merendam menggunakan aquasdes selama 5 menit.
- c. Pewarnaan I, akan memberikan warna biru pada inti sel yang dilakukan dengan menggunakan *hematoxyline* selama 10 menit.
- d. *Differensiasi*, akan menghilangkan warna biru yang pekat pada inti sel dan sitoplasma. Menghilangkannya dengan menggunakan larutan HCL 0,6 % selama 1 menit. Selanjutnya mencuci dengan air mengalir.

- e. Blueing, akan memperjelas warna biru pada inti sel dengan cara memasukkan Lithium carbonat 0,5% selama 3 menit. Selanjutnya dicuci dengan air mengalir.
- f. Pewarnaan kedua, akan memberikan warna merah muda pada sitolasma dengan menggunakan eosin selama 3 menit.
- g. Dehidrasi, akan menghilangkan air pada jaringan. Caranya dengan memasukkan alkohol secara bertingkat mulai 70%,80%.90%, dan 95% selama masing-masing 5 menit.
- h. *Clearing*, memasukkan preparat pada larutan *xylol* I dan II selama 1 menit hingga kering.
- i. *Mounting*, bertujuan mengawetkan jaringan dengan memberikan Entella atau canada balsem dan ditutup dengan *cover glass*. Kemudian dapat diamati dengan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x-400x.

4.7.7 Kadar TNF- α dengan Metode Flowcytometri

Sampel yang diuji dengan flowcytometri adalah ginjal. Selanjutnya sampel kemudian dibilas dengan menggunakan PBS sebanyak dua kali, diletakan dalam cawan petri yang berisi 5 ml PBS, digerus menggunakan pangkal spuit dan dihomogenisasi serta disuspensi dengan PBS. Sel-sel yang diperoleh dari hasil isolasi difilter dengan menggunakan ayakan 200 mesh. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm, pada suhu 20 °C selama 5 menit. Pellet yang dihasilkan disuspensi dengan 1 mL PBS dan dipipeting untuk mendapatkan homogenat. Sebanyak 200

μL homogenat dipindahkan pada tabung mikrosentrifus baru dan ditambahkan 500 μL PBS. Selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 20 °C. Hasil supernatan dibuang dan pelletnya ditambah kandungan staining extraseluler CD68 dan didiamkan selama 20 menit. Selanjutnya pellet direndam dalam cytofix dan cytoferm 100 μL selama 20 menit lalu ditambahkan 50 μL antibodi intraseluler staining (anti TNF- α) yang dikonjugasi dengan label PE. Kemudian data hasil dari flowcytometri dianalisis dengan menggunakan software BD cellquest Pro™. Program diatur sesuai dengan pewarnaan dan jenis sel yang diidentifikasi. Hasil dari kadar TNF- α akan keluar dalam bentuk angka dan nantinya akan diolah menggunakan statistik (Hefni, dkk., 2013).

4.8 Analisis Data

penelitian ini memiliki dua parameter yang diamati yaitu histopatologi ginjal dan kadar TNF- α . Analisa histopatologi secara kualitatif pada nekrosis sel pada ginjal yang diamati.

Data yang didapatkan dari pengukuran kadar TNF- α dianalisis dengan dan disajikan uji ANOVA dan apabila terdapat perbedaan nyata dilanjutkan uji *Tukey* atau Beda Nyata Jujur (BNJ) $\alpha = 0,05$ untuk mengetahui presentasi perlakuan. Analisa statistika pada pengamatan dilakukan dengan menggunakan program SPSS (*Statistical Package For Social Sciences*) for windows 23.0.

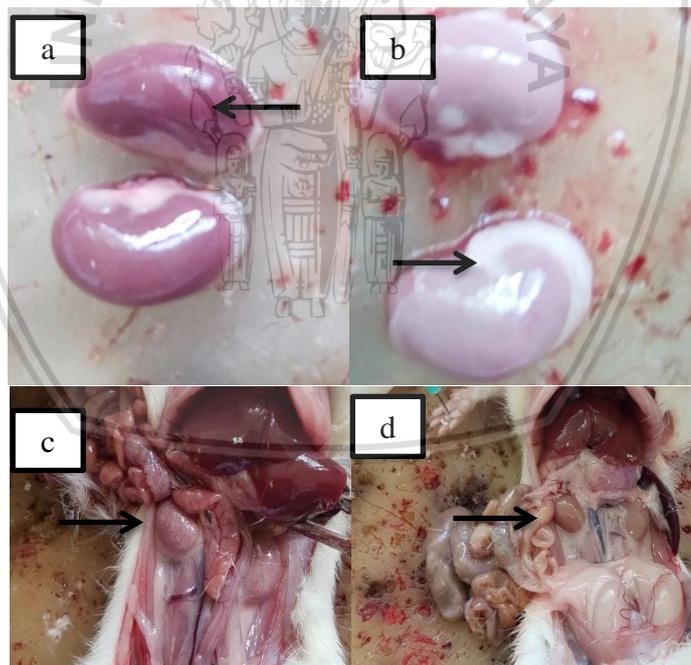
BAB V HASIL dan PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Pemberian Antibiotik Gentamisin Dosis Bertingkat Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus

Gentamisin merupakan salah satu golongan antibiotik yang sering digunakan dalam dunia medis. Antibiotik gentamisin adalah antibiotik turunan aminoglikosida yang mempunyai efek samping terhadap ginjal. Gentamisin sering digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri yang disebabkan oleh bakteri gram negatif berbentuk batang. Mekanisme kerja dari antibiotik gentamisin dengan cara mengganggu proses sintesis protein di dalam bakteri. Ikatan antara gentamisin dengan ribosom bakteri dengan mengganggu kesalahan pembacaan mRNA dan mengganggu kompleks inisiasi pembentukan peptide (Kapic, 2013).

Penelitian sebelumnya mengenai dosis nefrotoksik dari antibiotik gentamisin sangatlah beragam. Menurut Padmini (2012), dosis gentamisin yang menyebabkan nefrotoksik 60 mg/kgBB pada tikus. Sedangkan penggunaan gentamisin secara normal adalah 5-6 mg/kgBB. Hal tersebut sebanding dengan 10 kali penggunaan normal. Indikator dari nefrotoksik dengan melihat kondisi ginjal melalui histopatologi dan kadar urea setelah induksi antibiotik gentamisin. Kondisi nefrotoksik yang diakibatkan oleh induksi gentamisin mengalami kerusakan seperti nekrosis pada bagian glomelurus maupun tubulus kontortus proksimal. Sedangkan pada kadar urea dan kreatinin akan meningkat lebih dari kadar normal. Kadar normal dari urea pada tikus dalam darah sekitar 10-21 mg/dL (Siahaan, 2016).

Gejala klinis yang tampak akibat induksi gentamisin dari penelitian ini adalah tikus kurang aktif dalam bergerak. Volume urin yang dihasilkan dari tikus juga harus diukur melalui kandang khusus. Tetapi karena keterbatasan alat tidak dilakukan pengukuran volume urin. Secara makroskopis kondisi ginjal dari tikus berukuran seperti kacang dengan warna merah tua. Tetapi pada beberapa kelompok mengalami perubahan seperti pada **Gambar 5.1**. Perubahan yang terjadi pada ginjal tikus seperti warna coklat pucat, dan berwarna kuning. Perubahan ginjal tersebut disebabkan oleh gentamisin. Menurut Hayati (2015), warna ginjal yang normal adalah merah tua dengan bentuk seperti kacang.



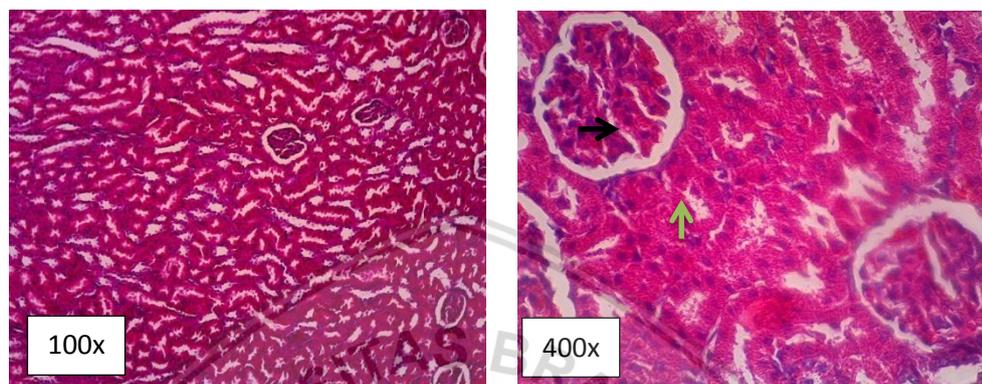
Gambar 5.1 Makroskopis ginjal pada tikus

Keterangan: a) kelompok kontrol negatif berwarna merah tua, b) kelompok perlakuan I induksi 30mg/kb BB berwarna pucat, c) kelompok perlakuan II induksi 40mg/kb BB berwarna pucat, dan d) kelompok perlakuan III induksi 50mg/kb BB berwarna pucat kekuningan.

Pengamatan secara mikroskopis pada ginjal dengan pembuatan preparat histopatologi. Pengamatan dengan alat mikroskop menggunakan perbesaran lensa 40 kali dan 100 kali. Hasil dari histopatologi setiap perlakuan sangat berbeda. Hasil dari setiap kelompok dapat di lihat pada **Gambar 5.2**. Bagaian dari ginjal yang diamati adalah bagain kortek. Kortek merupakan bagain yang terluar dari ginjal dan tersusun atas glomerulus, tubulus kontortus proksimal, maupun tubulus kontortus distal (Singroha, 2012)

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, kelompok kontrol yang tidak diinduksi dengan gentamisin tidak ada perubahan mikroskopis. Pada glomelurus berbentuk bulat dengan sel yang sedikit padat. Pada kapsula bowman berbentuk bulat dengan sel skuamus simplek. Tubulus kontortus proksimal memiliki bentuk bulat dengan berlumen. Bentuk sel dari tubulus kontortus proksimal kubuid selapis dengan di bagain lumen terdapat vili yang membantu absobsi. Lengkung henle tidak tampak karena berada di bagian medulla ginjal sedangkan yang terdapat pada **Gambar 5.2** bagain kortek. Bentuk dari lengkung henle sama dengan tubulus kontortus proksimal yaitu bulat. Tetapi, sel penyusun lengkung henle berbeda yaitu skuamus simplek. Sedangkan pada tubulus kontortus distal juga tampak dengan ciri berberuk seperti tubulus kontortus proksimal tetapi lebih besar ukuran lumen maupun jumlah sel penyusun juga lebih banyak. Menurut Handani (2015), struktur ginjal terdiri dari kortek dan medulla dengan komponen yang terdapat pada kortek adalah glomerulus berbentuk bulat, kapsula bowman dengan bentuk bulat bersel skuamus simplek, tubulus kontortus proksimal dengan bentuk

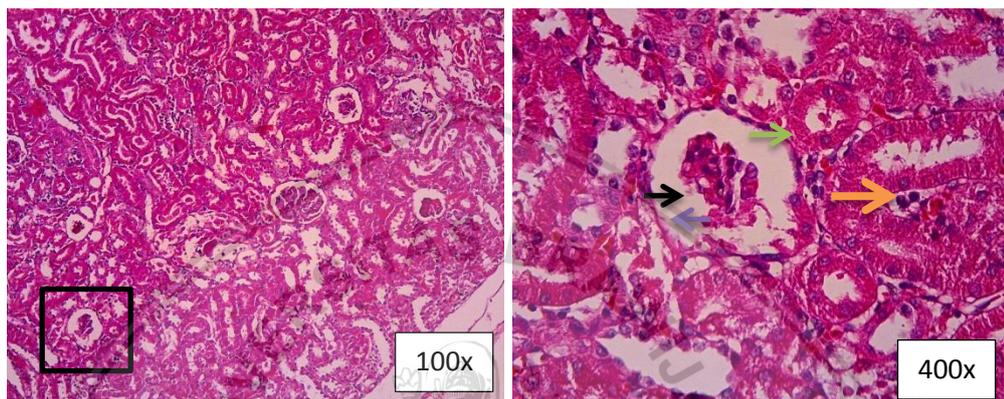
bulat bersel kuboid selapis bermikrovili, dan tubulus kontortus distal dengan bentuk bulat bersel kuboid selapis tanpa mikrovili, serta pada bagian medulla terdiri dari lengkung henle dengan bentuk bulat bersel skuamus simplek.



Gambar 5.2 Histopatologi Ginjal Pada Kelompok Kontrol negatif dengan perbesaran 100 kali. Glomerulus (anak panah hitam) yang normal dengan berbentuk bola dan padat, tubulus kontortus (anak panah hijau) proksimal normal dengan bulat bersel kuboid dan terdapat vili.

Berdasarkan gambaran histopatologi ginjal tikus kelompok perlakuan I sesuai **Gambar 5.3** didapati bahwa struktural ginjal dapat dianalisis dengan jelas. Komponen pada ginjal yang terdapat di bagian korteks adalah glomerulus, kapsula bowman, tubulus kontortus proksimal, dan tubulus kontortus proksimal. Pada glomerulus kondisinya tidak normal yaitu mengalami erosi sedangkan bentuk normal dari glomerulus adalah bulat dan strukturalnya rapat. Kapsula bowman memiliki struktural sel skuamus simplek. Tetapi pada kondisi perlakuan I kondisinya sel skuamus dengan inti menghilang. Pada tubulus kontortus memiliki bentuk sel yang kuboid dengan vili pada bagian lumen dengan fungsi untuk penyerapan. Kondisi sel pada perlakuan I mengalami kerusakan yang ditandai dengan sitoplasma menghilang ataupun inti sel yang menghilang. Selain ditemukan beberapa

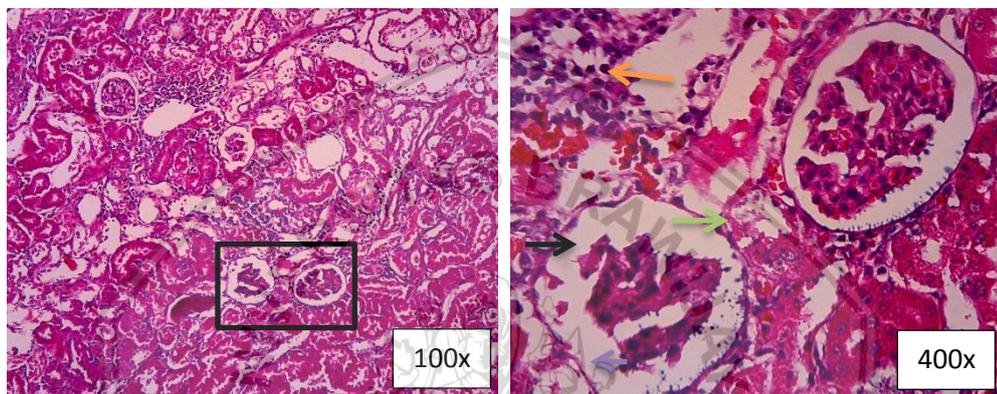
bagain dari kortek yang mengalami kerusakan atau nekrosis, terdapat sel radang yang banyak ditandai dengan betuk bulat besar berwarna ungu kehitaman. Menurut Fahrimal (2016), kerusakan ginjal ditandai dengan adanya sel yang mengalami nekrosis seperti inti sel menghilang.



Gambar 5.3 Histopatologi Ginjal Pada Kelompok Perlakuan I dengan Induksi 30mg/kg BB Perbesaran 100x dan 400x. Glomerulus (anak panah hitam) Mengalami Erosi, Kapsula Bowman (anak panah biru) Mengalami Nekrosis, Tubulus Kontortus (anak panah hijau) Mengalami Nekrosis, Sel Radang (anak panah *orange*).

Hasil dari kelompok perlakuan II didapati sesuai dengan **Gambar 5.4** dengan komponen yang sama dengan umumnya ginjal. Tetapi kondisi kerusakan lebih parah dari pada kelompok perlakuan I. Pada glomerulus kondisinya tidak normal yaitu mengalami erosi sedangkan bentuk normal dari glomerulus adalah bulat dan strukturaknya rapat. Kapsula bowman memiliki struktural sel skuamus simplek. Tetapi pada kondisi perlakuan I kondisinya sel skuamus dengan inti menghilang. Bentuk dari kapsula bowman seharusnya bulat tetapi pada kelompok perlakuan II tidak bulat. Pada tubulus kontortus memiliki bentuk sel yang kuboid dengan vili pada bagian lumen dengan fungsi untuk penyerapan. Kondisi sel pada perlakuan II mengalami

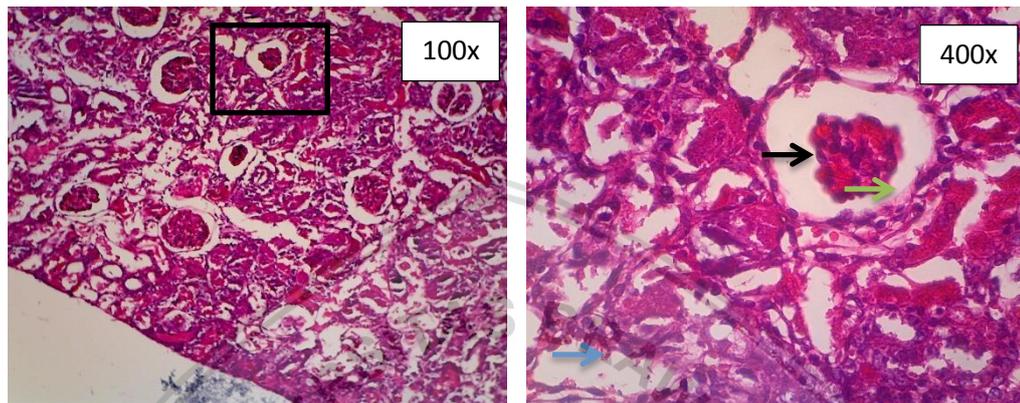
kerusakan yang ditandai dengan sitoplasma menghilang ataupun inti sel yang menghilang bahkan beberapa kondisi sel tidak lagi kuboid. Sel radang yang banyak ditandai dengan betuk bulat besar berwarna ungu kehitaman. Menurut Teslariu (2016), kerusakan ginjal yang diakibatkan oleh gentamisin dapat menyebabkan erosi.



Gambar 5.4 Histopatologi Ginjal Pada Kelompok Perlakuan II Induksi 40mg/kg BB Perbesaran 100x dan 400x. Glomerulus (anak panah hitam) Mengalami Erosi, Kapsula Bowman (anak panah biru) Mengalami Nekrosis, Tubulus Kontortus (anak panah hijau) Mengalami Nekrosis, Sel Radang (anak panah *orange*).

Kelompok perlakuan III secara histologi mengalami kerusakan yang sangat parah sesuai dengan **Gambar 5.5**. Pada glomerulus beberapa tampak rusak yang ditandai dengan bentuk tidak bulat. Kapsula bowman memiliki struktural sel skuamus simplek. Tetapi pada kondisi perlakuan III kondisinya sel skuamus dengan sitoplasma yang menghilang atau hancur. Pada tubulus kontortus memiliki bentuk sel yang kuboid dengan vili pada bagian lumen dengan fungsi untuk penyerapan. Kondisi sel pada perlakuan III mengalami kerusakan yang ditandai dengan sitoplasma menghilang ataupun inti sel yang menghilang bahkan kondisinya tidak diidentifikasi antar tubulus kontortus proksimal ataupun distal. Selain ditemukan beberapa bagian dari kortek yang

mengalami kerusakan atau nekrosis, terdapat sel radang yang banyak ditandai dengan bentuk bulat besar berwarna ungu kehitaman. Menurut Ciric (2014), antibiotik gentamisin dapat menyebabkan nekrosis pada tubulus.

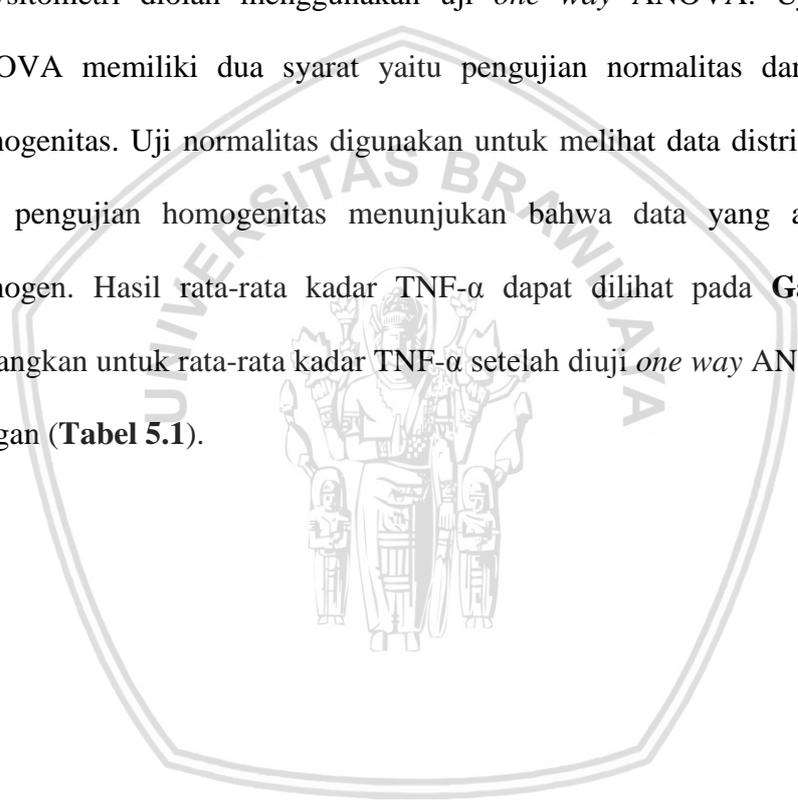


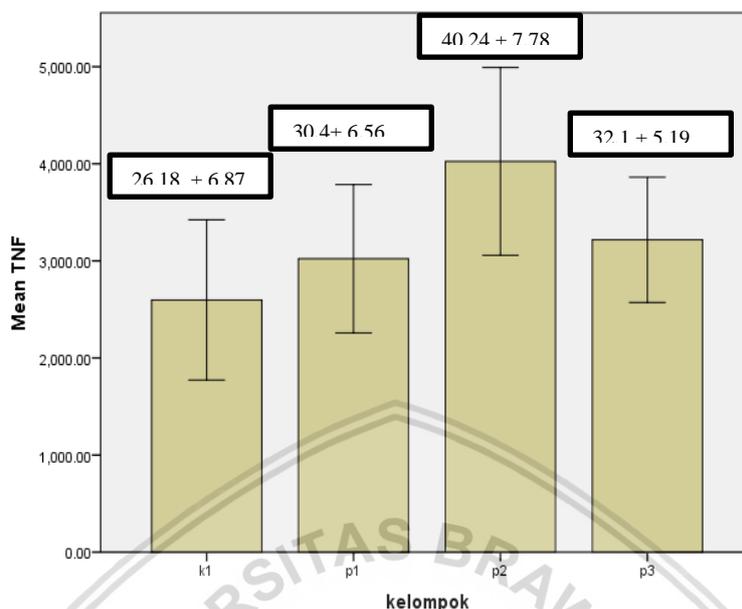
Gambar 5.5 Histopatologi Ginjal Pada Kelompok Perlakuan III Induksi 50mg/kg BB Perbedaran 100x dan 400x. Glomerulus (anak panah hitam) , Kapsula Bowman (anak panah hijau) Mengalami Nekrosis, Tubulus Kontortus (anak panah biru) Mengalami Nekrosis.

Pemberian antibiotik gentamisin dengan dosis yang bertingkat menyebabkan filtrasi dan absorpsi terganggu pada ginjal khususnya bagian korteks. Proses filtrasi berada di glomerulus ginjal yang berbentuk seperti jaring-jaring. Sedangkan absorpsi berada di tubulus kontortus proksimal. Antibiotik gentamisin yang berada di glomerulus dan tubulus kontortus proksimal akan disaring dan diserap melalui proses endositosis. Endositosis kedalam sel dilakukan oleh lisosom. Lisosom tersebut berfungsi sebagai pencerna bahan-bahan yang masuk dengan enzim hidrolisa. Ikatan antara gentamisin dan lisosom menyebabkan lisosom pecah dan sel akan mengalami kerusakan. Kerusakan tersebut di akibatkan enzim hidrolisa yang digunakan untuk mencerna bahan-bahan dari luar (Chasani, 2008).

5.2 Pengaruh Pemberian Antibiotik Gentamisin Dosis Bertingkat Terhadap Kadar *Tumor Necrosis Factor Alfa* (TNF- α) Ginjal

Pengukuran kadar TNF- α dilakukan untuk mengetahui tingkat kerusakan pada ginjal yang diakibatkan oleh antibiotik gentamisin. Pengukuran kadar TNF- α menggunakan flowsitometer data yang didapati dari hasil pengujian flowsitometri diolah menggunakan uji *one way* ANOVA. Uji *one way* ANOVA memiliki dua syarat yaitu pengujian normalitas dan pengujian homogenitas. Uji normalitas digunakan untuk melihat data distribusi normal dan pengujian homogenitas menunjukkan bahwa data yang akan diolah homogen. Hasil rata-rata kadar TNF- α dapat dilihat pada **Gambar 5.6**. Sedangkan untuk rata-rata kadar TNF- α setelah diuji *one way* ANOVA sesuai dengan (**Tabel 5.1**).





Gambar 5.6 Histogram rata-rata kadar ekspresi TNF- α berdasarkan flowcytometry pada masing-masing perlakuan.

Keterangan : Kelompok kontrol negatif (k1) yang tidak diinduksi gentamisin, kelompok perlakuan I (p1) induksi gentamisin 30 mg/kg BB, kelompok perlakuan II (p2) induksi gentamisin 40 mg/kg BB, kelompok perlakuan III (p3) induksi gentamisin 50 mg/kg BB.

Berdasarkan dari histogram diatas, rata-rata ekspresi TNF- α kelompok kontrol negatif 26,18. Pada kelompok perlakuan I yang diinduksi gentamisin 30 mg/kg BB lebih tinggi dari kelompok kontrol negatif dengan rata-rata 30,42. Pada kelompok perlakuan II yang diinduksi gentamisin 40 mg/kg BB memiliki rata-rata yang tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yaitu 40,24. Sedangkan pada kelompok perlakuan III yang diinduksi gentamisin 50 mg/kg BB memiliki rata-rata lebih tinggi daripada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan I dengan angka 32,16.

Berdasarkan hasil statistik *One Way ANOVA* menggunakan *Statistical Package for Social Science* dengan tingkat kepercayaan 95% menunjukkan

adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) pada keempat perlakuan tersebut. Sebelum dilakukan uji *one way* ANOVA, dilakukan uji normalitas dengan hasil distribusi data normal sesuai dengan **Lampiran 4.1**. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas dengan syarat hasil $p > 0,05$ sesuai dengan **Lampiran 4.3**. Apabila sudah memenuhi syarat untuk uji *one way* ANOVA yaitu uji normalitas dengan distribusi normal dan uji homogenitas $p > 0,005$ maka dilakukan uji *one way* ANOVA dengan hasil 0,029 yang mana dibawah dari $p < 0,05$ sesuai dengan **Lampiran 4.4**. Kemudian dilanjutkan dengan uji *Tukey* untuk menentukan adanya perbedaan notasi yang berarti terdapat perbedaan pengaruh perlakuan di kelompok (**Lampiran 4.5**)

Tabel 5.1 Rata-Rata Hasil Kadar TNF- α Ginjal Tikus yang Diinduksi Antibiotik Gentamisin Dosis Bertingkat Berdasarkan Hasil Uji *Tukey*

Kelompok perlakuan	Kadar TNF- α (%) (Rata-rata \pm SD)	Peningkatan kadar TNF- α (%) terhadap kontrol negatif
Kontrol Negatif (K-)	26,18 \pm 6,87 ^a	-
Kelompok Perlakuan 1 (P1)	30,42 \pm 6,56 ^{ab}	16,1955
Kelompok Perlakuan 2 (P2)	40,24 \pm 7,78 ^b	53,7203
Kelompok Perlakuan 3 (P3)	32,16 \pm 5,19 ^{ab}	22.8647

Rata-rata kadar TNF- α kelompok kontrol negatif (K-) digunakan sebagai standar untuk menentukan adanya peningkatan kadar TNF- α yang terjadi disetiap perlakuan. Kadar TNF- α pada ginjal pada kelompok kontrol negatif sebesar 26,18 \pm 6,87 %. Adanya TNF- α pada kelompok kontrol negatif dikarenakan dalam keadaan normal sitokin pasti terdapat di dalam tubuh

walaupun jumlahnya sedikit. Sitokin TNF- α tersebut dihasilkan oleh leukosit salah satunya (Wulandari, 2012).

Pemberian antibiotik gentamisin dengan dosis bertingkat yaitu 30 mg/kg BB pada kelompok perlakuan 1 (P1) menunjukkan adanya peningkatan kadar TNF- α sebesar 16,19 yaitu $30,42 \pm 6,56$ %. Perbedaan notasi antara kelompok kontrol negatif dengan perlakuan (P1) menunjukkan adanya perbedaan tetapi tidak signifikan. Perbedaan yang tidak signifikan anantara kontrol negatif dengan perlakuan 1 (P1) disebabkan adanya pemberian antibiotik gentamisin yang bertingkat sebesar 30 mg/kg BB sehingga akan mempengaruhi kadar TNF- α pada ginjal. Sedangkan pada kelompok kontrol negatif tidak diberi gentamisin. Perbandingan kadar TNF- α pada kelompok perlakuan 1 (P1) dengan kelompok perlakuan 2 (P2) mempunyai notasi berbeda yang menunjukkan perbedaan yang signifikan pada perlakuan tersebut. Pada kelompok perlakuan 2 (P2) yang diberi antibiotik gentamisin dengan dosis 40 mg/kg BB memperlihatkan adanya peningkatan yang cukup tinggi sebesar 53,72 % dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yang kadar TNF- α $40,24 \pm 7,78$ %. Perbandingan antara kelompok perlakuan 2 (P2) dengan kelompok perlakuan 3 (P3) mempunyai notasi yang berbeda secara signifikan pada perlakuan tersebut. Kelompok perlakuan 3 (P3) yang diinduksi antibiotik gentamisin dengan dosis 50 mg/kg BB memperlihatkan adanya peningkatan yang cukup tinggi sebesar 22,86 % dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yang kadar TNF- α $32,16 \pm 5,19$ %.

Pemberian antibiotik gentamisin dengan dosis yang bertingkat menyebabkan filtrasi dan absorpsi terganggu pada ginjal khususnya bagian korteks. Proses filtrasi berada di glomerulus ginjal yang berbentuk seperti jaring-jaring. Sedangkan absorpsi berada di tubulus kontortus proksimal. Antibiotik gentamisin yang berada di glomerulus dan tubulus kontortus proksimal akan disaring dan diserap melalui proses endositosis. Endositosis ke dalam sel dilakukan oleh lisosom. Lisosom tersebut berfungsi sebagai pencerna bahan-bahan yang masuk. Ikatan antara gentamisin dan lisosom menyebabkan lisosom pecah dan sel akan mengalami kerusakan (Chasani, 2008).

Kerusakan sel ditandai dengan ada sel yang mengalami pembengkakan ataupun nekrosis. Kerusakan sel akan mengaktifkan NF- κ B yang berada di dalam makrofag. Setelah NF- κ B mengaktifkan makrofag, maka makrofag akan menghasilkan TNF- α yang belum matang. Kemudian TNF- α dibawa ke retikulum endoplasma dan akan dimatangkan di kompleks golgi. Setelah matang TNF- α akan disekresikan dengan sel targetnya adalah sel endotel. Sementara itu, makrofag yang telah teraktifasi akan memfagositosis dan menghasilkan sitokin, radikal bebas, MMP. Radikal bebas terjadi akibat fagositosis akan membentuk ROS (*Reactive Oxyge Spesies*) untuk membunuh mikroorganisme. *Matrix Metalloproteinase* (MMP) dan *growth factor* berperan dalam proses remodeling atau penyembuhan dari kerusakan. Sedangkan produksi sitokin seperti TNF- α yang dihasilkan dari makrofag

sebagai tanda adanya kerusakan. Sehingga untuk mengetahui kerusakan dari organ ginjal dapat dilihat kadar dari TNF- α (Baratawidjaja, 2004).



BAB VI PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah disampaikan dapat disimpulkan bahwa :

1. Pemberian gentamisin dengan dosis yang bertingkat 30 mg/kg BB, 40 mg/kg BB, dan 50 mg/kg BB dapat menyebabkan perubahan histopatologi ginjal dibandingkan kontrol negatif.
2. Pemberian gentamisin dengan dosis 40 mg/kg BB mampu meningkatkan kadar *Tummor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) dibandingkan dengan kontrol negatif.

6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai obat herbal untuk mengatasi gagal ginjal akut.

DAFTAR PUSTAKA

- Aap. 2013. *Gentamisin Injection*. USP
- Adleend. 2015. *Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (Rattus norvegicus) Setelah Pemberian Meloxicam Dosis Toksik*. Fakultas Kedokteran Universitas Hasanudin. Makasar
- Akbar, B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilisasi*. Jakarta. Adibia Press
- Akron, 2016. *Gentamicin Sulfate Ophthalmic Solution Sterile*. Anada 200-576
- Alam, S. 2007. *Gagal Ginjal*. Jakarta: PT. Gramedia Putra
- Alfonso, A. A. 2016. *Gambaran Kreatinin Serum Pada Pasien Penyakit Gagal Ginjal Kronis Stadium 5 Non Dialysis*. Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi. Manado.
- Amin, L. Z. 2014. *Pemilihan Antibiotic Yang Rasional*. PPDS Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Depok vol.27 no.3
- Asah-opoku, M. N.A. 2015. *Renal Histology And Function In Gentamicininduced Acute Kidney Injury (Aki) In Rats Given Natural Cocoa*. University Of Ghana. Ghana
- Ataman, S. 2018. *The Effect Of Fucoidan On Changes Of Some Biochemical Parameters In Nephrotoxicity Induced By Gentamicin In Rats*. Turkey Ankara Üniv Vet Fak Derg, 65, 9-14
- Aziz, M. F. 2008. *Panduan Pelayanan Medik : Model Interdisiplin Penatalaksanaan Kanker Servik Dan Gagal Ginjal*. EGC. Jakarta
- Baratawidjaja, K.G. 2004. *Imunologi Dasar: Sitokin*. Balai Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 128-131.
- Chasani, S. 2008. *Antibiotik Nefrotoksik: Penggunaan Pada Gangguan Fungsi Ginjal*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.
- Ciric, M. 2014. *The Effects Of Enalapril On Experimental Gentamicin Nephrotoxicity*.
- Dalimunthe, A. 2008. *Pemantauan Efektifias Gentamisin Dosis Berganda Intravenous Terhadap Pasien Pneumonia Komuniti Di Rumah Sakit Umum Pusat H, Adam Malik Medan [Tesis]*. Universitas Sumatra Utara. Medan
- Dewi. A. K. 2013. *Gambaran Mikroskopis Ginjal Tikus Putih (Rattus Sp.) Jantan Dewasa Setelah Pemberian Etanol Kronis*. *Jurnal biologi XVII(2):33-36*



- Fahrimal, Y. 2016. Gambaran Histopatologis Ginjal Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Jantan Yang Diinfeksi Trypanosoma Evansi Dan Diberi Ekstrak Daun Sernai (*Wedelia Biflora*). Universitas Syiah Kuala. *Jurnal Medika Vol.10 No 2*
- Gibson, J. 2002. *Fisiologi dan Anatomi Modern Untuk Perawat*. EGC. Jakarta
- Halim, H. B. 2014. *Nigella sativa Infusion as an Antioxidant Agent Against Gentamicin Induced Kidney Damaged in Mice*. Universitas Padjadjaran. *Jurnal vol.1, no.2*
- Handani, A. R. 2015. Pengaruh Pemberian Kacang Panjang (*Vigna Unguiculata*) Terhadap Struktur Mikroskopis Ginjal Mencit (*Mus Musculus*) Yang Diinduksi Aloksan. Universitas Syiah Kuala. *Jurnal Medika Veteriner Vol. 9 no.1*
- Hayati, L. 2015. *Anatomi Traktus Urinaria*. Univeritas Airlangga. Surabaya
- Hefni, M., Rifa'I, M., Widodo. 2013. Aktivitas Ekstrak Daun Kelor Terhadap Respons Imun Humoral Pada Mencit Yang Diinfeksi Salmonella Typhi. *Jurnal Veteriner 14(4): 519-526*.
- Isnaeni, W. 2006. *Fisiologi Hewan*. Yogyakarta. Kanisius
- Jannet N. 2017. Administration Of Gentamicin-Induced Hematobiochemical And Renal Morphological Alterations In Swiss Albino Mice. Bangladesh Agricultural University. *Academic Journal vol. 11(34)*
- Kapic, D. 2013. *A Histological Study Of The Eff Ect Of Exogenous Melatonin On Gentamicin Induced Structural Alterations Of Proximal Tubules In Rats*. University of Sarajevo
- Lopez, P. 2001. Efficacy of Teicoplanin-Gentamicin Given Once a Day on the Basis of Pharmacokinetics in Humans for Treatment of Enterococcal Experimental Endocarditis. Universitat Auto`noma de Barcelona.Spain. *Journal Vol.45 no.5*
- Maula, I. F. 2014. *Uji Antifertilisasi Ekstrak N-Heksana Biji Jarak Pagar (*jatropha curcas L*) Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvegicus*) Secara In Vivo*. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Uin Syarif Hidayatullah. Jakarta
- Misitahari, M I. 2011. *Pemberian Growth Hormone Menurunkan Kadar Tumor Necrosis Factor-A (Tnf-A) Pada Tikus Jantan Yang Dislipidemia {tesis}*. Program Pascasarjana Universitas Udayana. Denpasar
- Padmini, M. P. 2012. *A Histopathological Study on Gentamisin Induce Nephrotoxicity in Experimental Albino Rats*. Saveetha Medical Collage. India.

- Patria, R.A., 20116. *Pengaruh Pemberian Air Yang Mengandung Plumbum Dari Beberapa Pipa Pvc Terhadap Kadar Malondialdehida Dan Gambaran Histopatologi Duodenum Pada Tikus Putih*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya. Malang
- Pearce, E. C. 2009. *Anatomi Dan Fisiologi Untuk Paramedic*. Jakarta: PT. Gramedia Pusaka Utama.
- Saborisi. B. G. 2014. *Eksresi Tumor Necrosis Factor – Alpha (TNF- α) Dan Jumlah Sperma Pada Tikus (Rattus Norvegicus) Model Diabetes Mellitus Tipe 1 Hasil Induksi Streptozotocin Yang Diterapi Dengan Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (Curcuma Longa L.)*. Vol.3. no.4
- Siahaan, G. S. 2016. *Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Wistar (Rattus norvegicus) Yang Diinduksi Gentamisin Dan Diberikan Ubi Jalur Ungu (Ipomoea battas)*. Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi. Manado. *Journal Vol.4 No.1*
- Singroha, R. 2012. *Effect Of Gentamicin On Kidney In Developing Chicks*. Post Graduate Institute of Medical Sciences. India
- Soeroso, A. 2007. *Sitokin: Oftalmologi Indonesia*. Universitas Negri Sebelas Maret. Surakarta. *Jurnal Oftalmologi Indonesia Vol. 5, No. 3*
- Supit, I. A. 2015. *Profil Tumor Necrosis Factor (TNF- α) Berdasarkan Indeks Massa Tubuh (IMT) Pada Mahasiswa Fakultas Kedokteran*. *Jurnal Biomedik, Vol 3. No.2*
- Teslariu, O. 2016. *The Protective Effects Of Zinc In Experimental Gentamicin Induced Acute Renal Failure In Rats*. University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Iasi, Romania
- Verdiansah. 2016. *Pemeriksaan Fungsi Ginjal*. Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Klinik. Rumahsakit Hasan Sadikin. Bandung
- Widiartini, W. 2013. *Pengembangan Usaha Produksi Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Tersertifikas Dalam Upaya Memenuhi Kebutuhan Hewan Laboratorium*. Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Diponegoro. Semarang
- Wulandari. S. H. 2012. *Ekstraksi Tumor Necrosis Fakcor (TNF- α) dan Gambaran Histopatologi Ginjal Pada Tikus (Rattus Norvegicus) Renal Fibrosis Pasca Induksi Streptokinase*. Fakultas Kedokteran Hewan Universeitas Brawijaya. Malang
- Zhang, S. 1998. *An Atlas of Histology*. Springer. USA