UJI EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN COCOR BEBEK (Bryophyllum pinnatum) TERHADAP PERBAIKAN JARINGAN PADA GINJAL MENCIT BALB/C MODEL LUPUS **INDUKSI PRISTANE**

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran



Febrinda Esti Syafitri NIM 155070107111005

PROGRAM STUDI KEDOKTERAN **FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA** MALANG 2018

BRAWIJAYA

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama

: Febrinda Esti Syafitri

NIM

: 155070107111005

Program Studi

: Program Studi Kedokteran Fakultas

Kedokteran Universitas Brawijaya

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benarbenar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil-alihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 26 November 2018

Yang membuat pernyataan,

D7609AFF399717467
Reuge

Febrinda Esti Syafitri

NIM. 155070107111005

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberi rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul "Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (*Bryophyllum pinnatum*) terhadap Perbaikan Jaringan pada Ginjal Mencit Balb/c Model Lupus Induksi Pristane".

Ketertarikan penulis terhadap topik ini didasari oleh fakta bahwa mahalnya pengobatan penyakit lupus, padahal prevalensi penyakit lupus di Malang cukup tinggi. Salah satu terapi biosimilar dengan ekstrak etanol daun *B. pinnatum* diharapkan dapat menurunkan prevalensi penyakit lupus. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efek pemberian ekstrak etanol daun *B. pinnatum* terhadap perbaikan jaringan pada ginjal mencit Balb/c model lupus induksi pristane.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

- Dr. dr. Nurdiana, M.Kes., sebagai Ketua Tim Peneliti yang telah memberikan kesempatan untuk bergabung dalam penelitian "Uji Efikasi Ekstrak Daun Cocor Bebek (*Bryophyllum pinnatum*) pada Mencit Balb/c Model Lupus", serta teman-teman Anggota Peneliti, Fahmi, Syifa, Acha, Novi, dan Hani yang selalu memberikan semangat satu sama lain dalam proses penelitian.
- Prof. Dr. dr. Kusworini, M.Kes., Sp.PK., sebagai pembimbing pertama yang dengan sabar membimbing penulisan dan analisis data, serta senantiasa memberikan nasihat serta saran, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
- 3. Dr. dr. Endang Sri Wahyuni, MS., sebagai pembimbing kedua yang dengan sabar telah membimbing untuk bisa menulis dengan baik, dan senantiasa memberi semangat, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
- dr. Dicky Faizal Irnandi, Sp.And., sebagai Ketua Tim Penguji Ujian Tugas Akhir yang telah memberikan masukan untuk menyempurnakan naskah Tugas Akhir.

- Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes., Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya beserta staf pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan penulis kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- 6. Dr. dr. Triwahju Astuti, M.Kes., Sp.P(K), sebagai Ketua Program Studi Kedokteran yang telah membimbing penulis menuntut ilmu di PS Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA., sebagai penasehat akademis yang selama ini telah banyak memberikan bimbingan dan semangat kepada penulis.
- Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB, yang telah membantu melancarkan urusan administrasi, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir.
- 9. Para analis di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Patologi Anatomi yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.
- 10. Yang tercinta ibunda Purwijayanti dan ayahanda Joko Santoso, yang tersayang kakak Nonny Octa Wisanti, S.Farm., Apt. dan adik Trinindya Eksact Daruni, serta keluarga besar yang telah mencurahkan segala doa dan kasih sayang kepada penulis selama ini.
- 11. Sahabat-sahabatku Yuyan, Susy, Yuny, Musmu, Wari, Asa, Hani, Wawa, Nobi, dan Neta atas segala pengertian, motivasi, dan semangatnya.
- 12. Teman-teman angkatan 2015 yang selalu menemani, memberi semangat, dan bantuan.
- 13. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa karya ilmiah ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun.

Akhirnya, semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 26 November 2018

<u>Penulis</u>

DAFTAR ISI

	Halan	าan
Judul		i
Halama	n Pengesahan	ii
Pernyat	aan Keaslian Tulisan	iii
Kata Pe	ngantar	iv
Abstrak	(bahasa Indonesia)	vi
Abstrac	t (bahasa Inggris)	vii
Daftar Is	Sİ	viii
Daftar T	abel	xii
Daftar G	Sambar	xiii
Daftar L	ampiran	xiv
Daftar Is	stilah dan Singkatan	ΧV
BAB 1	PENDAHULUAN	1
	1.1 Latar Belakang	1
	1.2 Rumusan Masalah	3
	1.3 Tujuan Penelitian	3
	1.3.1 Tujuan Umum	3
	1.3.2 Tujuan Khusus	4
	1.4 Manfaat Penelitian	4
	1.4.1 Manfaat Akademik	4
	1.4.2 Manfaat Praktis	4
BAB 2	TINJAUAN PUSTAKA	5
	2.1 Lupus atau Systemic Lupus Erythematosus (SLE)	5
	2.1.1 Epidemiologi	5
	2.1.2 Faktor Risiko	6
	2.1.3 Etiologi	7
	2.1.4 Patofisiologi	8

	2.1.5 Kompikasi	Ö
	2.1.6 Diagnosis	9
	2.1.7 Pemeriksaan Penunjang	10
	2.1.8 Terapi	11
	2.1.8.1 Terapi Farmakologi	11
	2.1.8.2 Terapi Non Farmakologi	12
	2.2 Ginjal	13
	2.2.1 Fisiologi Ginjal	13
	2.2.2 Gambaran Histologis Ginjal Sehat	18
	2.2.3 Gambaran Histopatologis Ginjal Lupus Nefritis	32
	2.3 Pristane	33
	2.3.1 Gugus Fungsi	33
	2.3.2 Efek Pada Tubuh	34
	2.4 Cocor Bebek (Bryophyllum pinnatum)	36
	2.4.1 Taksonomi	36
	2.4.2 Kandungan Bahan Aktif	37
BAB 3	KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	39
	3.1 Kerangka Konsep Penelitian	39
	3.2 Deskripsi Kerangka Konsep	40
	3.3 Hipotesis Penelitian	42
BAB 4	METODE PENELITIAN	43
	4.1 Rancangan Penelitian	43
	4.2 Populasi dan Sampel Penelitian	43
	4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian	45
	4.4 Variabel Penelitian	45
	4.4.1 Variabel Bebas	45
	4.4.2 Variabel Terikat	45
	4.5 Definisi Operasional	46

	4.6	Alat dan Bahan/Instrumen Penelitian	47
		4.6.1 Alat dan Bahan Ekstraksi Daun Cocor Bebek (<i>Bryophyllum pinnatum</i>)	47
		4.6.2 Alat dan Bahan Penginduksian Mencit Balb/c dengan Prista	ne 47
		4.6.3 Alat dan Bahan Pemberian Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebe (Bryophyllum pinnatum)	ek 47
		4.6.4 Alat dan Bahan Pemeriksaan HistoPA Ginjal	48
	4.7	Prosedur Penelitian	48
		4.7.1 Persiapan Hewan Coba	48
		4.7.2 Ekstraksi Daun Cocor Bebek (Bryophyllum pinnatum)	49
		4.7.3 Penginduksian Mencit Balb/c dengan Pristane	49
		4.7.4 Pemberian Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (Bryophyllum	
	(pinnatum)	49
	\parallel		50
		Alialisis Dala	50
		1/ 1/ 1/ 1/ 1/ 1/ 1/ 1/ 1/ 1/ 1/ 1/ 1/ 1	51
			52
BAB 5	HA	SIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	55
	5.1	Hasil Penelitian	54
		5.1.1 Hasil Pengamatan Manifestasi Mencit Balb/c Model Lupus Induksi Pristane	55
		5.1.2 Hasil Pengukuran Kadar ANA dan Anti ds-DNA Mencit Balba Model Lupus Induksi Pristane tanpa Pemberian Ekstrak Etanol Daun <i>B. pinnatum</i>	/c 56
		5.1.3 Hasil Pengamatan Mikroskopik Ginjal	58
	5.2	Analisis Data	59
		5.2.1 Uji Normalitas Data Shapiro-Wilk	59
		5.2.2 Uji Homogenitas Data	59
		5.2.3 Uji One-Way ANOVA	60
		5.2.4 Uji Post Hoc Multiple Comparisons	61

		5.2.5 Uji Korelasi Pearson	62
BAB 6	PE	MBAHASAN	63
	6.1	Pengaruh Pristane terhadap Diameter Glomerulus Ginjal Mencit Balb/c dalam Menginduksi Lupus	63
	6.2	Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (<i>Bryophyllum pinnatum</i>) terhadap Diameter Glomerulus Ginjal Mencit Balb/c Model Lupus Induksi Pristane	64
	6.3	Keterbatasan Penelitian	66
BAB 7	PE	NUTUP	67
	7.1	Kesimpulan	67
	7.2	Saran	67
LAMPIF	RAN	Saran	68
DAFTA	DAFTAR PUSTAKA		

DAFTAR TABEL

Halaı	man
Tabel 4.1 Jadwal Pelaksanaan Penelitian	52
Tabel 5.1 Hasil Pengukuran ANA dan dsDNA	56
Tabel 5.2 Hasil Pengukuran Diameter Glomerulus	58
Tabel 5.3 Hasil Uji Normalitas Data Shapiro-Wilk	59
Tabel 5.4 Hasil Uji Homogenitas Data	59
Tabel 5.5 Hasil Uji One-Way ANOVA	60
Tabel 5.6 Hasil Uji Post Hoc Multiple Comparisons	61
Tabel 5.7 Hasil Uji Korelasi Pearson	62



DAFTAR GAMBAR

	Hala	ıman
Gambar 2.1	Korteks Ginjal	18
Gambar 2.2	Korteks Ginjal	18
Gambar 2.3	Pelvis Ginjal	18
Gambar 2.4	Vaskularisasi Ginjal dengan Pewarnaan Vaskuler	19
Gambar 2.5	Nefron Ginjal	20
Gambar 2.6	Renal Corpuscle	
Gambar 2.7	Glomerulus	22
Gambar 2.8	Struktur yang Terdapat pada Glomerulus Dilihat dengan Mikro Elektron	24
Gambar 2.9	Keadaan Patologis pada Glomerulus	25
Gambar 2.10	Tubulus Kontortus Proksimal	27
Cambai 2.11	Longituring From Community	20
\\\	Tubulus Kontortus Distal	
Gambar 2.13	Aparatus Jukstaglomerular	30
Gambar 2.14	Duktus Kolektivus	31
	Histologi Ginjal	
Gambar 2.16	Gugus Fungsi Pristane	34
Gambar 5.1	Manifestasi Klinis Lupus yang Muncul Setelah Injeksi Pristane 0,5ml Dosis Tunggal secara Intraperitoneal	
Gambar 5.2	HistoPA Glomerulus pada Ginjal Balb/c dengan Pengecatan F	l&E
		57
Gambar 5.3	Grafik Rata-Rata Diameter Glomerulus	58

DAFTAR LAMPIRAN

		Halaman
Lampiran 1	Hasil Analisis SPSS	68
Lampiran 2	Surat Laik Etik	71
Lampiran 3	Dokumentasi Penelitian	72



BRAWIJAY

DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

ADH : Anti Diuretic Hormone

Ag-autoAb : Antigen-Autoantibodi

AHA : American Heart Association

ANA : Antibodi antinuklear

anti-dsSNA : Antibody-double stranded DNA

APRIL : a ploriferation inducing ligand

Anti-Sm : Smith Antibody

BAFF : B cell activating factor

BBLR : Berat Badan Lahir Rendah

BCMA : B-Cell Maturation Antigen

BPS : Badan Pusat Statistik

B. pinnatum : Bryophyllum pinnatum

C : Komplemen 3

CD : Cluster of Differentiation

CRP : C-Reactive Protein

DAMP : Damage-Associated Molecular Pattern

DC : Dendritic Cell

DL : Darah Lengkap

DNA : Deoxyribonucleic Acid

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

ESRD : End-Stage Renal Disease

FSGS : Focal and Segmental Glomerulosclerosis

GWAS : Genome-Wide Association Studies

 H_2O : air

H&E : Hematoxylin and Eosin staining

IFN : Interferon

IgAN : IgA nefropati

IgG : Imunoglobulin G

IgM : Imunoglobulin M

IL : Interleukin

IRA : Ikatan Reumatologi Indonesia

IRF 7 : Interferon Regulatory Factor 7

I : liter

L3 : Vertebrae lumbalis 3

LED : Laju Endap Darah

LN : Lupus Nefritis

MCD : Minimal Change Disease

Mdk : Gen Midkine

ml : mililiter

NFκβ : Nuclear Factor-kappa B

NFAT : Nuclear Factor of Activated T-Cells

nRNP : Anti Nuclear Ribonucleoprotein

NSAID : Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug

PAS : Periodic Acid-Schiff staining

RNA : Ribonucleic Acid

SEBs : Subsequent Entry Biologics

Sel J-G : Sel jukstaglomerular

SLE : Systemic Lupus Erythematosus

SLICC : Systemic Lupus International Collaborating Clinic

ssDNA : Single Stranded DNA

STAT4 : Signal Transducer and Activator of Transcription 4

T12 : Vertebrae thoracalis 12

TACI: Transmembrane Activator and CAML Interactor

TGF-β1 : Transforming Growth Factor-β1

Th : T helper

TMPD : 2,6,10,14-tetramethylpentadecane atau pristane

TNF-α : Tumor Necrosis Factor Alfa

TKD : Tubulus Kontortus Distal

TKP : Tubulus Kontortus Proksimal

UV : Ultraviolet

VDRL : Veneral Disease Research Laboratory

WHO : World Health Organization



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

UJI EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN COCOR BEBEK (Bryophyllum pinnatum) TERHADAP PERBAIKAN JARINGAN PADA GINJAL MENCIT BALB/C MODEL LUPUS INDUKSI PRISTAN

Oleh:

Febrinda Esti Syafitri

NIM. 155070107111005

Telah diuji pada

Hari : Senin

Tanggal: 26 November 2018

Dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I

dr. Dicky Faizal Irnandi, Sp. And.

NIP. 2012088704131001

Pembimbin I/Penguji II,

nbing II/Penguji III,

Prof.Dr.dr. Kusworini, M.Kes, Sp.Pk NIP. 195603311988022001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter

dr. Triwahiu Astuti, M.Kes., Sp.P(K) NIP. 196310221996012001

ABSTRAK

Syafitri, Febrinda Esti. 2018. *Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek* (Bryophyllum pinnatum) terhadap Perbaikan Jaringan pada Ginjal Mencit Balb/c Model Lupus Induksi Pristane. Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Prof. Dr. dr. Kusworini, M.Kes, (2) Dr. dr. Endang Sri Wahyuni, MS.

Lupus adalah penyakit autoimun yang merusak multisistem secara kronis, sehingga sering menimbulkan komplikasi pada ginjal disebut Lupus Nefritis (LN). Lupus nefritis terjadi pada 60% pasien lupus dan tetap menjadi penyebab utama morbiditas pada pasien lupus di seluruh dunia 5 tahun terakhir, tergantung respon terhadap pengobatan awal. Pengobatan LN paling efektif saat ini adalah Mikofenolat Mofetil (MMF) dan Inhibitor Kalsineurin, tunggal maupun kombinasi. Semakin tinggi derajat penyakit, semakin besar risiko terjadinya kegagalan terapi, sehingga dibutuhkan terapi agen biologis. Tetapi, agen biologis di Indonesia masih sulit diterapkan karena harga yang mahal. Terapi biosimilar dengan ekstrak etanol daun cocor bebek (Bryophyllum pinnatum) diduga akan menyerupai target terapi agen biologis, yaitu menurunkan aktivitas autoantibodi pada ginjal. Penelitian memiliki tujuan untuk dapat membuktikan efek pemberian ekstrak etanol daun B. pinnatum terhadap perbaikan jaringan ginjal mencit Balb/c model lupus induksi pristane. Desain penelitian eksperimental di laboratorium menggunakan rancangan post test only controlled group design secara in vivo. Sampel dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan 1 (10,5 mg/kgBB/hari), perlakuan 2 (21 mg/kgBB/hari), perlakuan 3 (42 mg/kgBB/hari). Pada awal penelitian, kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan diinjeksi pristane sesuai ketentuan. Pada bulan ke-4 setelah injeksi pristane, dilakukan pemberian ekstrak etanol daun B. pinnatum secara oral selama 3 bulan perlakuan. Selanjutnya dilakukan pembedahan untuk mengambil organ ginjal. Kemudian dibuat slide dengan pengecatan hematoxylin and eosin (H&E) untuk diamati secara morfometrik dengan mengukur diameter glomerulus. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara diameter glomerulus pada mencit kontrol negatif, kontrol positif, dan kelompok perlakuan (ANOVA p-0,000).

Kata Kunci: pristane, lupus nefritis, Cocor Bebek (*Bryophyllum pinnatum*), diameter glomerulus

ABSTRACT

Syafitri, Febrinda Esti. 2018. Effect Studies of Bryophyllum pinnatum Leaves Ethanol Extract on Repair of Kidney Tissue in Pristane-Induced Lupus Balb/c Mice Model. Final Assignment, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya. Supervisors: (1) Prof. Dr. dr. Kusworini, M.Kes, (2) Dr. dr. Endang Sri Wahyuni, MS.

Lupus is an autoimmune disease that damages multisystems chronically, so it often causes kidney complications called Lupus Nephritis (LN). Lupus nephritis occurs in 60% of lupus patients and remains a major cause of morbidity in lupus patients worldwide over the past 5 years, depending on the response to initial treatment. The most effective LN treatment currently is Mycophenolate Mofetil (MMF) and calcineurin inhibitors, single or combination. The higher the degree of disease, the greater the risk of therapy, so biological agent therapy is needed. However, biological agents in Indonesia are still difficult to implement because of the high prices. Biosimilar therapy with Bryophyllum pinnatum leaves ethanol extract is thought to resemble the target of biological agent therapy, which is reducing the activity of autoantibodies in the kidneys. The study aims to prove the effect of B. pinnatum leaves ethanol extract on repair of kidney tissue in pristane-induced lupus Balb/c mice model. The experimental study design in the laboratory used a post-test only controlled group design in vivo. Samples were divided into 5 groups: negative control, positive control, treatment 1 (10.5 mg/kgBW/day), treatment 2 (21 mg/kgBW/day), treatment 3 (42 mg/kgBW/day). At the beginning of the study, the positive control group and the treatment groups were injected pristane in accordance with the provisions. In the 4th month after pristane injection, then the B. pinnatum leaves ethanol extract was orally administered for 3 months of treatment. After that, surgery is performed to take kidney organs. Then slides were made with hematoxylin and eosin (H&E) staining to be observed morphometrically by measuring the glomerular diameter. The results shows a significant difference between glomerular diameter among negative control, positive control, and treatment group (ANOVA p-0,000).

Keywords: pristane, lupus nephritis, Bryophyllum pinnatum, glomerular diameter

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Lupus atau *Systemic Lupus Erythematosus* (SLE) adalah kelainan autoimun kronis yang merusak beberapa sistem tubuh, termasuk ginjal (Kapadia *et al.*, 2012). Sulitnya mengendalikan faktor risiko penyakit ini menyebabkan prevalensi penyakit lupus cukup tinggi dibandingkan penyakit autoimun lain. Menurut survei Kalim (2017), prevalensi lupus masyarakat di Malang memperlihatkan angka sebesar 0,5% terhadap total populasi (Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI, 2017). Hal ini menunjukkan bahwa setidaknya 4.282 penduduk di Malang merupakan pasien lupus. Sistem diagnosis lupus di Indonesia yang buruk menjadi salah satu faktor yang menyebabkan pasien lupus terdiagnosis pertama kali oleh dokter dalam kondisi berat atau telah muncul berbagai macam komplikasi.

Lupus dapat mengancam nyawa, terutama apabila mempengaruhi organ vital: jantung, paru, otak, dan ginjal. Komplikasi yang terjadi pada ginjal disebut Lupus Nefritis (LN). Lupus nefritis terjadi pada 60% pasien lupus dan tetap menjadi penyebab utama morbiditas pada pasien lupus di seluruh dunia pada 5 tahun terakhir, tergantung pada tingkat keparahan penyakit, faktor genetik, dan sosial ekonomi, serta respon terhadap pengobatan awal (Nawata *et al.*, 2018 dan Dasilva Santos *et al.*, 2018). Klasifikasi dan pengobatan pada LN tergantung pada tingkat kerusakan jaringan ginjal (Der *et al.*, 2018). Kerusakan jaringan

ginjal disebabkan oleh inflamasi di jaringan peningkatan aktivasi self reactive lymphocyte (sel T, sel B, TNF-α, TGF-β1, IL-1, IL-6). TGF-β1 akan mengaktivasi sel-sel target di ginjal, yaitu sel fibroblast, sel mesangial, podosit, sel tubulus, dan sel endotel, yang akan memicu terbentuknya matriks ekstraseluler yang akan meningkatan diameter glomerulus pada fase awal dan penurunan diameter glomerulus pada fase akhir karena fibrosis (Loeffler and Wolf, 2014). Siklofosfamid, dalam kombinasi dengan kortikosteroid, telah menjadi pengobatan lini pertama untuk menginduksi remisi penyakit LN Proliferatif, serta mengurangi mortilitas dalam beberapa tahun terakhir (Tunnicliffe et al., 2018). Tetapi, perawatan, termasuk Mikofenolat Mofetil (MMF) dan Inhibitor Kalsineurin, tunggal maupun dalam kombinasi memiliki tingkat remisi yang setara atau lebih baik, serta toksisitas yang lebih rendah dibandingkan Siklofosfamid dan Kortikosteroid (Nawata et al., 2018). Semakin tinggi derajat penyakit, semakin besar risiko terjadinya kegagalan terapi dengan MMF, sehingga dibutuhkan terapi agen biologis. Tetapi, terapi agen biologis di Indonesia masih sangat sulit karena harganya sangat mahal dan kondisi ekonomi kebanyakan pasien lupus masih tergolong menengah ke bawah, sehingga dibutuhkan terapi biosimilar sebagai terapi alternatif yang harganya lebih terjangkau.

Terapi biosimilar dengan ekstrak etanol daun *B. pinnatum* akan menyerupai target terapi agen biologis, yaitu menurunkan aktivasi self reactive lymphocyte. Substitusi terapeutik antara terapi yang digunakan sekarang dengan terapi biosimilar cocor bebek diharapkan dapat menjawab permasalahan yang ada di Indonesia, karena pertimbangan harga yang lebih terjangkau. Oleh karena itu, diperlukan identifikasi dan evaluasi efek dari penggunaan ekstrak etanol daun *B. pinnatum*. Analisis yang dilakukan pada uji molecular docking secara in silico

BRAWIJAY

menyimpulkan bahwa *B. pinnatum* memiliki afinitas terbaik pada ligan maupun reseptor BAFF dan APRIL, yaitu reseptor yang berperan pada patogenesis lupus, dibandingkan 4 tanaman lainnya, yaitu kunyit (*Curcuma longa*), teh hijau (*Camelia sinensis*), jinten hitam (*Nigella sativa*), dan kemangi (*Ocimum sanctum*) (Kalsum *et al*, 2017). Berdasarkan hasil penelitian tersebut, diharapkan terapi *B. pinnatum* dapat efektif dalam meningkatkan angka harapan hidup dan menurunkan mortalitas serta morbiditas pasien lupus.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, dirumuskan masalah dalam penelitian ini, yaitu:

Apakah pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) berpengaruh terhadap perbaikan jaringan pada ginjal mencit Balb/c model lupus induksi pristane?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, adapun tujuan penelitian ini sebagai berikut.

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) terhadap perbaikan jaringan pada ginjal mencit Balb/c model lupus induksi pristane.

1.3.2 Tujuan Khusus

Mengetahui efek pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) terhadap diameter glomerulus ginjal mencit Balb/c model lupus induksi pristane.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil akhir dari penelitian ini diharapkan memberikan manfaat sebagai berikut.

1.4.1 Manfaat Akademik

Manfaat terhadap pengembangan ilmu adalah memberikan informasi terkait efek penggunaan ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) terhadap perbaikan jaringan ginjal mencit Balb/c model lupus induksi pristane.

1.4.2 Manfaat Praktis

Manfaat penelitian ini terhadap masyarakat adalah mempersiapkan penggunaan ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) sebagai terapi alternatif untuk memperbaiki kondisi klinis lupus.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Lupus atau Systemic Lupus Erythematosus (SLE)

2.1.1 Epidemiologi

Organisasi Kesehatan Dunia atau *World Health Organization* (WHO) menyebutkan bahwa prevalensi penyakit lupus menduduki urutan ke-6 dari penyakit autoimun, yaitu sebesar 20-60 kasus per 100.000 penduduk. Sedangkan insiden penyakit lupus mencapai urutan ke-4 dari penyakit autoimun, yaitu sebesar 2-8 kasus per 100.000 penduduk per tahun. Jumlah pasien lupus di Indonesia belum diketahui secara pasti. Prevalensi lupus di masyarakat berdasarkan survei yang dilakukan oleh Prof. Dr. dr. Handono Kalim, Sp.PD.KR dkk di Malang memperlihatkan angka sebesar 0,5% terhadap total populasi (Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI, 2017). Ikatan Reumatologi Indonesia (IRA) pada tahun 2015 juga menyatakan bahwa prevalensi lupus di Indonesia mencapai 5 penderita setiap 100.000 penduduk. Berdasarkan data dari Badan Pusat Statistik (BPS) Jawa Timur, total populasi penduduk di Kota Malang sampai dengan tahun 2016 adalah sebesar 856.410 jiwa. Hal tersebut menunjukkan bahwa setidaknya 4.282 penduduk di Malang merupakan pasien lupus.

Rasio pasien lupus wanita lebih tinggi dibandingkan pria ditemukan pada negara-negara yang memiliki frekuensi wanita yang berpendidikan tinggi atau staff akademik, legislator wanita, emisi presentase CO₂ yang lebih tinggi dari listrik atau panas dan presentase *terrestrial* yang lebih tinggi (Novo *et al*, 2017).

Sebaliknya, rasio wanita dan pria lebih rendah ditemukan pada negara-negara yang memiliki frekuensi wanita tidak bekerja dan negara-negara dengan pengeluaran kesehatan *out-of-pocket* untuk pelayanan kesehatan primer. Ini adalah penelitian terbesar yang telah dilaporkan, termasuk hampir 2.000.000 kasus memberikan gambaran data yang besar mengenai penyakit di seluruh dunia, dengan rasio wanita: pria adalah 8: 4, usia rata-rata pada saat didiagnosis adalah 32 tahun, dan paling sering melibatkan darah, organ sendi, kulit, serta ginjal (Novo *et al*, 2017).

2.1.2 Faktor Risiko

Keanekaragaman manifestasi klinis yang ditimbulkan disesuaikan dengan kompleksitas faktor risiko (genetik, hormonal, dan lingkungan) yang memicu dan rangkaian autoantibodi terkait (Lisnevskaia et al, 2014). Status vitamin D mungkin memiliki peran gabungan dalam transisi ke lupus pada individu dengan peningkatan risiko genetik lupus (Young et al, 2016). Pada populasi Asia, alel B secara signifikan meningkatkan risiko lupus, sedangkan pada populasi Kaukasia tidak ada signifikansi (Hu et al, 2016). Peningkatan proporsi penyakit ginjal dan perkembangan ke end-stage renal disease (ESRD) juga memiliki peran dalam prevalensi lupus yang lebih tinggi pada pasien kulit hitam dibandingkan dengan pasien kulit putih (Somers et al, 2014). Penting halnya menyoroti kebutuhan untuk memantau secara ketat pasien lupus Asia di negara-negara Asia dalam keterlibatan ginjal dan kardiovaskuler, terutama mereka yang mungkin tidak menerima perawatan yang tepat dan karena itu berisiko lebih besar terkena penyakit berat (Jakes et al, 2012). Hubungan lupus dengan kelahiran prematur dan berat badan lahir rendah (BBLR) juga konsisten dengan penelitian pada

populasi kehamilan pasien dengan lupus (Parks *et al*, 2016). Sulitnya mengendalikan faktor risiko penyakit lupus, menyebabkan prevalensi penyakit lupus cukup tinggi dibandingkan dengan penyakit autoimun lain.

2.1.3 Etiologi

Lupus merupakan penyakit autoimun, tetapi penyebab autoimun pada penyakit lupus tidak dapat ditentukan atau belum diketahui secara pasti. Genome-Wide Association Studies (GWAS) membuktikan pentingnya pathway sel B dan sinyal IFN pada patogenesis lupus (Järvinen et al, 2012). Setelah sel B normal keluar dari sumsum tulang, sel B melewati proses screening yang memungkinkan sel autoreaktif diekskresi. Pada pasien lupus, terjadi defek pada proses screening tersebut, termasuk awal maturasi sel B dan transisi sel B menjadi sel B matur. Interaksi sel B pada lupus mempengaruhi produksi IgG dan komplemen untuk mengompensasi autoantibodi. Produksi autoantibodi oleh sel B pada lupus dipicu oleh ketersediaan antigen endogen. Hipereaktivitas sel B menyebabkan jumlah autoantibodi dan sitokin proinflamasi meningkat. Sel B yang hipoaktif juga menyebabkan autoreaktivitas, sehingga terhindar dari apoptosis. Asam nukleat endogen yang terkait dengan apoptosis mengalami peningkatan jumlah, sehingga merangsang produksi IFN dan menyebabkan autoimunitas dengan merusak toleransi melalui aktivasi dan promosi maturasi konvensional (myeloid) sel dendrit. Sel dendrit matur menyebabkan toleransi ketika sel dendrit matur aktif menjadi autoreaktif.

BRAWIJAYA

2.1.4 Patofisiologi

Lupus adalah penyakit autoimun inflamasi multisistem kronis (Helmii et al., 2013). Lupus adalah penyakit yang sangat heterogen dengan pilihan pengobatan yang terbatas, dimana manifestasi klinisnya merupakan hasil dari berbagai mekanisme patologis (Orduno et al, 2017). Namun, mekanisme patologis yang menyebabkan terjadinya kerusakan jaringan belum sepenuhnya dipahami. Pada semua jaringan yang terkena dapat diidentifikasi patologi melalui seluler dan molekuler pathway, yang berarti manifestasi mungkin akan melibatkan beberapa organ (Heuer et al, 2017). Manifestasi klinis lupus ini sangat beragam, tergantung lokasi organ yang terlibat dan dapat melibatkan multiorgan dengan perjalanan klinis yang sangat bervariasi, kompleks, dapat ditandai oleh serangan akut, periode aktif, kompleks, atau remisi, dan seringkali pada keadaan awal tidak sebagai lupus (Sujoko et al, 2012). Karakterisasi faktor genetik/epigenetik, efektor seluler, kontribusi tissue-specific factor dan kerusakan yang terkait, limfosit T dan B, serta subset sel imun innate dan abnormalitas yang sesuai (Moulton et al, 2017).

2.1.5 Komplikasi

Sistem diagnosis lupus di Indonesia yang buruk menjadi salah satu faktor yang menyebabkan pasien lupus terdiagnosis pertama kali oleh dokter dalam kondisi berat atau telah muncul berbagai macam komplikasi. Komplikasi yang paling sering muncul pada pasien lupus adalah Lupus Nefritis (LN). LN terjadi pada 60% pasien lupus dan tetap menjadi penyebab utama morbiditas pada pasien lupus di seluruh dunia pada 5 tahun terakhir, tergantung pada tingkat keparahan penyakit, faktor genetik, dan sosial ekonomi, serta respon terhadap

pengobatan awal (Nawata et al., 2018 dan Dasilva Santos et al., 2018). LN memerlukan perhatian khusus agar tidak terjadi penurunan fungsi ginjal. Bila biopsi bukan kontraindikasi, maka konfirmasi diagnosis, evaluasi aktivitas penyakit, klasifikasi kelainan histopatologi, prognosis, dan penentuan terapi dilakukan berdasarkan histologi ginjal (Der et al., 2018). Klasifikasi kriteria WHO untuk lupus nefritis telah diperbaharui oleh *International of Nephrolog and Renal Pathology Society* (ISN/RPS) tahun 2003.

2.1.6 Diagnosis

Diagnosis dari penyakit lupus memiliki sensitifitas dan spesifisitas yang beragam, karena perjalanan penyakit lupus yang dinamis dan sering memunculkan manifestasi yang beragam yang akan mengacu pada penyakit lain, seperti rheumatoid arthritis, dermatitis, anemia, dan sebagainya. Untuk mendiagnosis lupus dibutuhkan minimal 4 atau lebih kriteria diagnosis lupus dengan minimal 1 kriteria klinis dan 1 kriteria imunologis (Systemic Lupus International Collaborating Clinic, 2012). Kriteria klinis menururut SLICC tahun 2012 meliputi: lupus kutaneus akut atau lupus subkutan (termasuk malar rash); lupus kutaneus kronis (contoh: discoid rash general atau lokal); ulserasi oral atau nasal; alopesia tanpa jaringan parut; artritis/sinovitis ≥2 sendi dan kekakuan di pagi hari (≥30 menit); serositis (nyeri pada pleura dan perikardial selama >1 hari); manifestasi renal (rasio protein urin selama 24 jam >500 mg); manifestasi neurologis (kejang, psikosis, myelitis); anemia hemolisis; leukopenia $(<4.000/mm^3)$ atau limfopenia $(<1.000/mm^3);$ dan trombositopenia (<100.000/mm³). Sedangkan kriteria imunologis menurut SLICC tahun 2012 meliputi: ANA di atas nilai normal laboratorium; antibodi anti-dsDNA di atas nilai normal laboratorium; antibodi anti-Sm; antibodi antifosfolopid [antikardiolipin dan antibodi *anti-β1-glycoprotein* (IgA-, IgG-, atau IgM-); positif palsu tes VDRL); rendahnya komplemen (C3, C4, atau CH50); dan tes *coombs direct* (dalam keadaan tidak adanya anemia hemolisis).

2.1.7 Pemeriksaan Penunjang

Pemeriksaan penunjang yang dapat dilakukan oleh pasien salah satunya adalah pemeriksaan darah yang meliputi darah lengkap (DL) dan kadar kreatinin serum. Darah lengkap dapat membantu dalam melihat adanya leukopenia, limfopenia, anemia, dan trombositopenia. Hal tersebut disebabkan oleh adanya insufisiensi produksi eritropoetin (faktor pembentuk hemopoetik) yang mengatur diferensiasi dan proliferasi prekursor eritrosit (Isselbacher et al, 2012). Pasien juga dapat melakukan urinalisis dengan mikroskop. Pemeriksaan kreatinin serum dan urine dengan urinalisis dapat membantu mengetahui fungsi ginjal. Tes laboratorium lain yang dapat dilakukan oleh pasien yaitu C-Reactive Protein (CRP) yang meningkat sebagai tanda dari inflamasi, serta kadar komplemen (C3 dan C4) menurun karena ditekan oleh inflamasi yang diinduksi kompleks imun. Selain itu, salah satu faktor predisposisi lupus adalah congenital complement deficiency. Fungsi hati mungkin sedikit meningkat pada fase akut atau sebagai respons terhadap azathioprine atau Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug (NSAID). Sedangkan untuk tes spot protein/spot creatinine ratio dapat digunakan untuk mengukur proteinuria yang apabila meningkat dapat menjadi suspek Lupus Nefritis (Hahn et al, 2012).

BRAWIJAY

2.1.8 Terapi

2.1.8.1 Terapi Farmakologi

Sampai saat ini, belum ada obat yang dapat menyembuhkan penyakit lupus, namun perawatan yang tepat dapat membantu secara signifikan (American College of Rheumatology, 2017). Terapi konvensional yang digunakan saat ini hanya bertujuan untuk menghentikan inflamasi dengan menekan sistem imun, membantu meredakan gejala, dan melindungi keterlibatan organ dari kerusakan yang irreversible. Tetapi, semua obat yang digunakan untuk terapi memiliki kemungkinan efek samping, seperti kortikosteroid (prednisone) yang untuk menekan sistem imun, sehingga diharapkan dapat bertujuan mengendalikan inflamasi yang dapat menimbulkan efek samping seperti pertambahan berat badan, tekanan darah tinggi, osteoporosis, depresi, glaukoma, karatak. Padahal, prednisone merupakan salah satu obat yang dikatakan paling cepat dan paling efektif meredakan gejala saat lupus sedang "aktif" untuk mencegah kerusakan organ. Beberapa kondisi klinis penyakit autoimun seperti lupus dan rheumatoid arthritis resisten terhadap terapi konvensional, sehingga mengharuskan Pasien lupus beralih ke terapi agen biologis dengan menggunakan antibodi monoklonal.

Semua pasien lupus yang telah mengalami komplikasi berupa LN tetap diberikan terapi seperti pasien lupus tanpa komplikasi, namun dosisnya disesuaikan dengan histologi ginjal. Siklofosfamid, dalam kombinasi dengan kortikosteroid, telah menjadi pengobatan lini pertama untuk menginduksi remisi penyakit LN Proliferatif, serta mengurangi mortilitas dalam beberapa tahun terakhir (Tunnicliffe *et al.*, 2018). Tetapi, perawatan, termasuk Mikofenolat Mofetil (MMF) dan Inhibitor Kalsineurin, tunggal maupun dalam kombinasi memiliki

tingkat remisi yang setara atau lebih baik, serta toksisitas yang lebih rendah dibandingkan Siklofosfamid dan Kortikosteroid (Nawata *et al.*, 2018). Obat antihipertensi juga diberikan terhadap pasien LN, karena target tekanan darah pada pasien adalah ≤120/80 mmHg. Beberapa obat antihipertensi yang banyak digunakan untuk pasien lupus adalah *angiotensin-converting enzim* (ACE) *inhibitor* tunggal ataupun kombinasi. *Loop* diuretik diberikan seperlunya untuk mengurangi edema dan mengontrol hipertensi. Pengobatan terhadap hiperkolesterolemia juga dilakukan untuk mencegah penurunan fungsi ginjal karena target kolesterol serum yang direkomendasikan oleh *American Heart Association* (AHA) adalah <180 mg/dl. Pengobatan yang direkomendasikan untuk pasien lupus dengan hiperlipidemia yang menetap adalah obat penurun lemak seperti *HMG Co-A reductase inhibitors* (AHA, 2011).

2.1.8.2 Terapi Non Farmakologi

Terapi yang digunakan beberapa tahun terakhir adalah dengan menggunakan terapi agen biologis, yaitu antibodi monoklonal. Antibodi ini ditujukan terhadap suatu molekul tertentu, sehingga terjadi inaktivasi terhadap molekul tersebut. Beberapa ahli reumatologi di seluruh dunia telah memasukkan terapi agen biologis tersebut ke dalam standar terapi penyakit autoimun karena secara klinis maupun laboratoris, terapi agen biologis tersebut juga mampu memperbaiki derajat aktivitas penyakit. Namun, di Indonesia masih sangat sulit diterapkan penggunaan agen biologis karena harganya yang sangat mahal. Pada pasien LN aktif, direkomendasikan diet rendah garam pada seluruh pasien dengan hipertensi. Sedangkan pada pasien lupus dengan hiperkolesterolemia direkomendasikan untuk mengurangi asupan lemak.

BRAWIJAY

2.2 Ginjal

2.2.1 Fisiologi Ginjal

Ginjal adalah organ utama yang berperan dalam mempertahankan stabilitas volume, komposisi elektrolit, dan osmolaritas cairan ekstraseluler (Sherwood, 2012). Kontrol ginjal terlibat dalam sistem endokrin dan sistem saraf. Keseimbangan air dan elektrolit dipertahankan oleh ginjal dengan menyesuaikan jumlah air dan berbagai konstituen plasma yang dipertahankan di tubuh atau dikeluarkan dengan urine. Keseimbangan ini dipertahankan dalam kisaran yang sangat sempit dan memungkinkan kehidupan, meskipun pemasukan dan pengeluaran konstituen-konstituen ini melalui cara lain sangat bervariasi. Selain melakukan penyesuaian terhadap asupan air, garam, dan elektrolit lain dalam jumlah yang bervariasi, ginjal juga menyesuaikan pengeluaran konstituenkonstituen cairan ekstraseluler melalui urine untuk mengompensasi kemungkinkan pengeluaran abnormal melalui keringat berlebihan, muntah, diare, atau perdarahan. Fungsi ginjal dalam mempertahankan homeostasis inilah yang menyebabkan komposisi urine menjadi sangat bervariasi.

Ketika kandungan air atau elektrolit tertentu seperti garam di *extracellular fluid* berlebihan, ginjal dapat mengeluarkan kelebihan tersebut melalui urine (Sherwood, 2012). Sebaliknya, jika kandungan air atau elektrolit tersebut kurang, ginjal tidak dapat menambahkan konstituen, tetapi dapat membatasi pengeluarannya, sehingga konstituen tersebut dapat diabsorbsi oleh tubuh. Oleh karena itu, ginjal lebih efisien mengompensasi kelebihan daripada kekurangan. Bahkan pada beberapa keadaan, ginjal tidak dapat menghentikan pembuangan suatu bahan yang bermanfaat melalui urine, meskipun mungkin bahan tersebut diperlukan oleh tubuh dan tubuh mengalami kekurangan.

Ginjal juga berperan dalam pengeluaran bahan-bahan sisa metabolisme yang berpotensi toksik dan senyawa asing dari tubuh. Karena bahan-bahan sisa tersebut tidak dapat dikeluarkan sebagai zat padat, maka bahan-bahan tersebut harus dikeluarkan dalam bentuk larutan, sehingga ginjal harus menghasilkan paling sedikit 500 ml urine berisi bahan sisa setiap harinya (Sherwood, 2012). Volume plasma dapat turun apabila orang tidak mendapat air (H₂O), karena bahan-bahan sisa tersebut harus dikeluarkan bersama H₂O.

Glomerulus adalah jaringan berbentuk bola yang terdiri dari kapiler-kapiler dan berfungsi untuk filtrasi plasma tanpa protein dalam tahap pertama pembentukan urine (Sherwood, 2012). Pada sekitar glomerulus terdapat tubulustubulus ginjal yang berfungsi untuk mengumpulkan cairan terfiltrasi dan mengubahnya menjadi urine dengan melakukan pertukaran tertentu dengan kapiler peritubulus yang berada di sekitarnya. Glomerulus nefron kortikal terletak di lapisan luar korteks, sedangkan glomerulus nefron jukstamedular terletak di lapisan dalam korteks dan di samping medula. Letak glomerulus dan kapsula Bowman di korteks inilah yang terkait dengan tampak granular. Pada saat darah mengalir melalui glomerulus, plasma bebas protein terfiltrasi melalui kapiler glomerulus ke dalam kapsula Bowman. Plasma yang terfiltrasi ke dalam glomerulus sebanyak 20% dalam keadaan normal. Filtrasi glomerulus ini adalah langkah pertama dalam pembentukan urine, dimana 125 ml cairan difiltrasi setiap menitnya. Volume ini sama dengan 180 l (sekitar 47,5 galon) setiap harinya, sedangkan volume rata-rata plasma pada orang dewasa adalah 2,75 l, sehingga jika keseluruhan volume plasma difilter, maka glomerulus bekerja sebanyak 65 kali sehari. Jika semua yang difiltrasi keluar sebagai urine, semua plasma akan menajdi urine dalam waktu kurang dari setengah jam. Namun, hal ini tidak terjadi

BRAWIJAYA

karena tubulus ginjal dan kapiler peritubulus, sehingga cairan di dalam tubulus dan darah di dalam peritubulus dapat direabsorpsi kembali.

Pada saat filtrat mengalir melalui lumen tubulus, bahan-bahan yang bermanfaat bagi tubuh dikembalikan secara selektif ke plasma kapiler peritubulus. Bahan-bahan yang telah direabsorpsi ini tidak keluar melalui urine, tetapi dibawa oleh kapiler peritubulus ke sistem vena. Kemudian, bahan tersebut diresirkulasi oleh jantung. Dari 180 l plasma yang difiltrasi per hari, cairan yang direabsorpsi rata-rata sebesar 178,5 l. Sisa di tubulus sebanyak 1,5 l mengalir ke pelvis ginjal untuk dikeluarkan sebagai urine (Sherwood, 2012). Namun, terdapat bahan-bahan selektif yang dapat berpindah dari kapiler peritubulus ke lumen tubulus yang disebut dengan sekresi tubulus. Sekresi tubulus ini merupakan rute kedua dalam masuknya bahan ke tubulus selain melalui filtrasi glomerulus. Aliran sebanyak 80% ke dalam kapiler peritubulus melalui arteriol eferen ini merupakan sisa dari plasma yang mengalir melalui filtrasi glomerulus sebanyak 20%. Sekresi tubulus ini merupakan pengeluaran bahan dari plasma secara cepat dengan mengekstraksi sejumlah tertentu bahan dari 80% plasma yang tidak terfiltrasi di kapiler peritubulus dan memindahkannya ke bahan filtrat yang ada di tubulus. Bahan filtrat yang ada di tubulus inilah yang kemudian akan diekskresikan dari tubuh melalui pelvis ginjal, yaitu titik pengumpulan urine di ginjal.

Cairan yang difiltrasi dari glomerulus ke dalam kapsula Bowman harus melewati tiga lapisan yang membentuk membran glomerulus, yaitu dinding kapiler glomerulus, membran basal, dan lapisan dalam kapsula Bowman (Sherwood, 2012). Lapisan-lapisan tersebut bersama-sama berfungsi sebagai saringan halus molekuler yang menahan sel darah dan protein plasma, tetapi H_2O dan zat terlarut dengan ukuran molekul yang lebih kecil dapat lewat. Endotel

kapiler glomerulus terdiri dari epithel squamous simplex yang ditembus oleh banyak pori besar dan menyebabkan 100 kali lebih permeabel terhadap H₂O dan zat terlarut daripada kapiler di bagian lain tubuh. Sel endotel sendiri juga dilubangi oleh lubang atau fenestrasi yang besar. Membran basal adalah lapisan gelatinosa aselular yang terbentuk dari kolagen dan glikoprotein serta tersisip di antara glomerulus dan kapsula Bowman. Kolagen menyebabkan struktural membran menjadi kuat dan glikoprotein menghambat filtrasi protein plasma yang kecil. Protein plasma yang lebih besar tidak dapat difiltrasi karena tidak dapat melewati pori kapiler, tetapi pori ini dapat dilewati protein plasma terkecil, yaitu albumin. Namun, glikoprotein menolak albumin dan protein plasma lainnya yang bermuatan negatif. Oleh karena itu, hampir tidak dapat ditemukan protein plasma di dalam filtrat, tetapi kurang dari 1% molekul albumin berhasil lolos ke dalam kapsula Bowman. Protein-protein kecil yang terfiltrasi diangkut oleh tubulus kontortus proksimal (TKP) dengan endositosis, lalu didegradasi menjadi konstituen asam amino yang akan dikembalikan ke darah. Jika terdapat albumin berlebihan di dalam urine (albuminuria), maka penyebabnya adalah gangguan pada muatan negatif di membran basal, sehingga membran glomerulus lebih permeabel terhadap albumin meskipun ukuran pori kapiler tidak berubah. Namun saat setelah berolahraga juga dapat ditemukan protein dalam urine, tetapi sifatnya sementara dan tidak berbahaya. Lapisan membran glomerulus yang terakhir adalah lapisan dalam kapsula Bowman yang terdiri dari podosit, sel mirip gurita yang mengelilingi kuntum glomerulus. Setiap podosit memiliki banyak berhubungan processus memanjang yang saling dan menyebabkan terbentuknya celah sempit di antaranya yang disebut celah filtrasi. Celah filtrasi

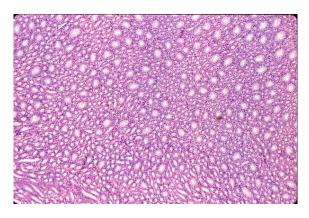
BRAWIJAY

ini membentuk jalur agar cairan dapat keluar dari kapiler glomerulus dan menuju lumen kapsula Bowman.

2.2.2 Gambaran Histologis Ginjal Sehat

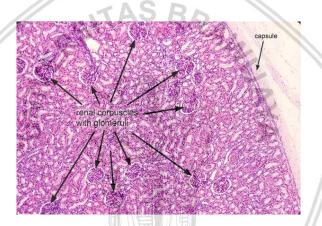
Ginjal adalah organ yang terletak retroperitoneal. Terdapat dua ginjal yang ada di kanan dan kiri memperantarai *vertebrae thoracalis* 12 (T12) hingga *vertebrae lumbalis* 3 (L3). Jika dilakukan palpasi ataupun *imaging*, maka akan terlihat ginjal kanan lebih rendah daripada ginjal kiri karena di sebelah kanan terdapat hati. Ginjal dibungkus oleh tiga lapis jaringan, mulai dari yang terdalam yaitu jaringan ikat fibrosa kapsula renalis, di tengah ada jaringan lemak kapsula adiposa, dan terluar fascia renal (Tortora *et al*, 2017).

Secara histologi, ginjal terbagi atas korteks, medula, dan pelvis renalis (Eroschenko, 2013). Korteks terdiri dari tubulus kontortus bersama dengan banyak *renal corpuscle* yang ditunjukkan pada gambar 2.1 dan gambar 2.2. Medula terdiri dari lengkung Henle dan duktus kolektivus. Medula dapat dibagi menjadi "zona" atau "garis", terlihat kasar, yang mencerminkan struktural tubulus yang membentuk lengkung Henle. Medula memiliki lingkungan interstisial yang khas, hipertonik, dan kurang oksigen. Korteks dan medula terdiri dari jutaan nefron yang mengelilingi, serta mengalir ke pelvis yang berongga, awal saluran ureter, sehingga dilapisi oleh epitel transisional (Mescher, 2013). Pelvis ginjal merupakan struktur berongga kelanjutan duktus kolektivus pada nefron (Leboffe *et al*, 2013) yang ditunjukkan pada gambar 2.3.



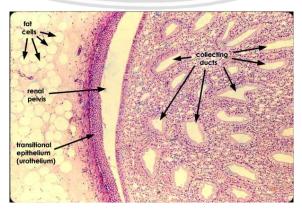
Gambar 2.1 Korteks Ginjal

Terdiri dari Tubulus Kontortus dan Renal Corpuscle



Gambar 2.2 Korteks Ginjal

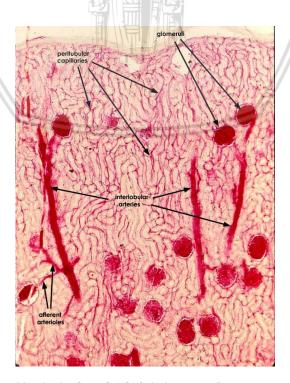
Dilapisi oleh Kapsul dan Terdiri dari Jutaan Nefron beserta *Renal Corpuscle* dengan Glomerulusnya



Gambar 2.3 Pelvis Ginjal

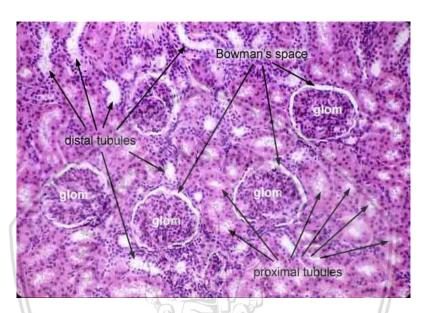
Dilapisi oleh Epitel Transisional (*Urothelium*) dan Jaringan Lemak

Setiap lobus ginjal terdiri dari *medullary pyramid*, yaitu daerah piramidal yang memproyeksikan ke pelvis dan berhubungan dengan korteks (Mescher, 2013). Lobus terlihat secara makroskopis ginjal yang dipotong. Daerah korteks yang memisahkan *medullary pyramid* satu sama lain yang disebut "*columns of Bertini*". Lobulus ginjal didefinisikan sebagai bagian ginjal yang mengandung nefron yang dihubungkan oleh duktus kolektivus. Lobulus umumnya tidak terlalu terlihat, bahkan sampai pemeriksaan mikroskopis. Lobulus terpusat pada "*medullary rays*", kumpulan tubulus lurus (duktus kolektivus dan lengkung Henle) yang menyerupai substansi medula, tetapi meluas ke dalam korteks. Pengelompokan lain dari nefron sesuai dengan distribusi arteriol aferen dari arteri interlobularis komunis yang naik melewati korteks di antara lobulus dan mengalirkan arteriol aferen ke dekat glomerulus. Darah mengalir dari arteri interlobularis komunis, menuju arteriol aferen, kapiler glomerulus, dan kapiler peritubulus (Leboffe *et al.* 2013) yang ditunjukkan pada gambar 2.4.



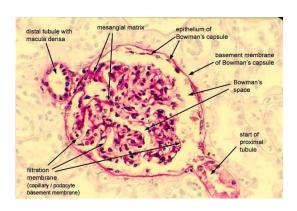
Gambar 2.4 Vaskularisasi Ginjal dengan Pewarnaan Vaskuler

Unit fungsional dari ginjal merupakan nefron (Mescher, 2013). Setiap nefron terdiri dari satu glomerulus dan tubulus yang berhubungan yang ditunjukkan pada gambar 2.5. Ginjal secara keseluruhan terdiri dari banyak nefron (jutaan) dengan pembuluh darah yang berkaitan (Leboffe *et al*, 2013).



Gambar 2.5 Nefron Ginjal

Renal corpuscle adalah tempat dimana proses pembentukan urine dimulai dengan filtrasi plasma darah yang ditunjukkan pada gambar 2.6 . Setiap renal corpuscle terdiri dari epithelial cup yang disebut kapsula Bowman yang berisi simpul kapiler dan elemen lainnya yang disebut glomerulus. Tubulus ginjal dibedakan menjadi beberapa segmen. Sebuah tubulus kontortus proksimal menyaring filtrat dari renal corpuscle. Lengkung Henle turun ke medula, membentuk hairpin turn, dan kembali ke korteks. Tubulus kontortus distal lewat dekat renal corpuscle asalnya (pada aparatus jukstaglomerular), kemudian mengarah ke duktus kolektivus. Duktus kolektivus menerima cairan dari beberapa tubulus kontortus distal, kemudian melewati medula dan mengalir ke pelvis (Leboffe et al, 2013).

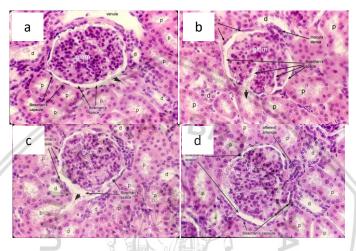


Gambar 2.6 Renal Corpuscle

Terdapat mekanisme progresif berupa hiperfiltrasi dan hipertrofi pada nefron yang masih sehat sebagai kompensasi ginjal akibat nefron yang berkurang, tetapi kompensasi ini berlangsung singkat dan ada akhirnya diikuti oleh proses maladaptif berupa nekrosis nefron yang tersisa (Isselbacher *et al*, 2012). Dengan adanya nekrosis tersebut akan menyebabkan penurunan fungsi nefron secara progresif.

Setiap *renal corpuscle* memiliki beberapa bagian, berbentuk *spheris* atau bulat, dan memiliki dua "kutub" di ujung yang berlawanan. Kutub vaskuler yang berkaitan dengan kompleks jukstaglomerular menerima dari arteriol aferen dan eferen dan mengalir ke kapiler glomerulus yang ditunjukkan gambar 2.7 d (Mescher, 2013). Kutub *urinary* adalah lokasi TKP, arus keluar untuk filtrat glomerulus. Kapsula Bowman yang terletak paling luar dan merupakan dinding epitel dari *renal corpuscle*. Celah Bowman (*Bowman's space* atau "*urinary space*") merupakan celah di antara kapsula Bowman yang ditunjukkan oleh gambar 2.7 a, b, dan c. Glomerulus adalah jaringan khas yang disebut "*little ball*" dan menempati sebagian besar dari *renal corpuscle*, terdiri dari beberapa elemen yang berbeda, yaitu kapiler glomerulus, podosit, membran filtrasi, dan mesangium. Kapiler glomerulus memiliki endotel yang *fenestrated* (penuh

lubang). Podosit adalah sel epitel yang melindungi kapiler glomerulus. Tepat di sebelah setiap kapiler glomerulus, di antara podosit, dan endotel kapiler terdapat membran filtrasi. Mesangium adalah *supporting tissue* yang terdiri dari sel mesangial dan matriks. Awal TKP adalah "*drain*" yang membawa cairan menjauh dari celah Bowman (Leboffe *et al*, 2013).



Gambar 2.7 Glomerulus

Bagian luar, epithel "parietal" dari renal corpuscle adalah kapsula Bowman (Mescher, 2013). Kapsula Bowman adalah epithel luar yang menutupi celah Bowman. Epitel ini merupakan epithel squamous simplex dan menjadi cuboid saat di TKP. Meskipun kapsula Bowman sedikit jelas epithel squamous simplex, tetapi tidak jelas bahwa glomerulus juga tertutup oleh epitel. Struktur khas podosit menyamarkan fakta bahwa sel tersebut merupakan sel epitel. Jadi, celah Bowman sepenuhnya dilapisi oleh epitel. Sedangkan bagian dalam, epitel "visceral" terdiri dari podosit.

Endotelium kapiler glomerulus dilubangi dengan banyak lubang kecil, atau fenestrated (dari fenestra Latin, jendela) (Mescher, 2013). Setiap sel endotel memiliki bentuk seperti "a slice of very holey Swiss cheese", digulung menjadi silinder untuk membuat segmen kapiler. Fenestrasi tersebut terlalu kecil untuk

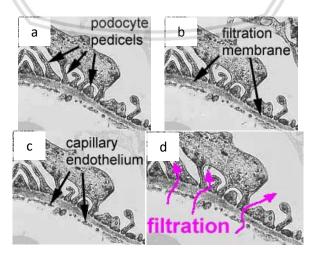
memungkinkan sel darah masuk, tapi plasma bisa lewat dengan bebas dari lubang dan masuk ke membran filtrasi kapiler glomerulus "exceptionally leaky". Meskipun membran filtrasi memegang kendali sel dan protein plasma, cairan yang tersisa (air, ion mineral, dan molekul kecil) lolos dengan bebas ke celah Bowman dan karenanya berada di sepanjang tubulus.

Membran filtrasi merupakan fusi antara membran basal endotel dengan membran basalis epitel glomerulus (podosit) (Mescher, 2013). Apapun yang menyumbat atau mengental pada membran filtrasi dapat mengganggu aliran cairan dan akan mengurangi laju filtrasi. Bersamaan dengan plasma saat melewati fenestrasi kapiler, air, ion, dan molekul kecil juga ikut melewati membran filtrasi ke dalam celah Bowman, sementara protein serum disimpan di kapiler. Filtrat yang terakumulasi di celah Bowman mengalir ke TKP, kemudian mengalir ke lengkung Henle, tubulus kontortus distal (TKD), dan duktus kolektivus. Pada berbagai segmen tubulus ginjal ini, filtrat diubah menjadi urine, terutama dengan reabsorpsi komponen yang masih dibutuhkan. Membran filtrasi tidak tampak pada pewarnaan *Hematoxylin and Eosin* (H&E), tetapi dapat dilihat dengan pewarnaan *Periodic Acid-Schiff* (PAS) atau silver. Mikroskop elektron adalah cara terbaik untuk memvisualisasikan membran filtrasi.

Podosit atau yang disebut "footed cell" adalah sel epitel yang khas yang mendukung membran filtrasi tanpa menghalangi aliran filtrat (Mescher, 2013) yang ditunjukkan pada gambar 2.8 a. Setiap podosit berdiri di atas pedikulus bercabang atau "foot processus" dan menempel pada membran filtrasi. Antara pedikel yang berdekatan terdapat celah yang disebut filtration slits yang memungkinkan perpindahan filtrat cairan ke celah Bowman yang ditunjukkan pada gambar 2.8 b dan c. Arah filtrasi yaitu keluar dari endothel kapiler menuju

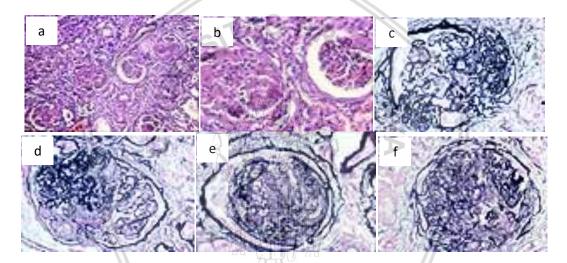
membran filtrasi yang ditunjukkan pada gambar 2.8 d. Sifat epitel podosit tidak jelas pada *renal corpuscle* yang sudah matur. Pada preparat histologi yang khas, nukleus podosit cenderung berbentuk oval dan cukup *euchromatic*. Podosit mungkin dikenali karena terlihat lebih "epitel" daripada sel endotel kapiler atau sel mesangial, dan karena letaknya tepat di sebelah celah Bowman (tidak ada jaringan di antaranya).

Sel mesangial glomerular tidak khas dan "non-descript cells" yang terkonsentrasi pada kutub vaskuler glomerulus (Mescher, 2013). Sel-sel tersebut memproduksi matriks mesangial dan mungkin berkontribusi pada pemeliharaan membran filtrasi. Nukleus sel mesangial terkadang dikenali sebagai nukleus kecil, tidak beraturan, dan agak heterochromatic dalam glomerulus. Sel mesangial ektra-glomerulus, juga disebut "lacis cells atau sel Goormaghtigh", menempati celah di antara glomerulus dan makula densa TKD. Matriks mesangial adalah material ekstraseluler yang mengelilingi sel mesangial. Selain menyediakan beberapa support secara mekanik pada kapiler glomerulus, fungsi matriks mesangial belum diketahui.



Gambar 2.8 Struktur yang Terdapat pada Glomerulus Dilihat dengan Mikroskop Elektron

Beberapa proses patologis memodifikasi struktur glomerulus dan dengan demikian akan mengganggu filtrasi glomerulus (Mescher, 2013). Pemeriksaan histologis dengan detail glomerulus (termasuk mikroskop elektron) adalah praktik standar untuk diagnosis patologi ginjal. Minimal change disease (MCD) dengan menghilangnya processus podosit yang ditunjukkan pada gambar 2.9 a dan b. Membranous glomerulonephritis dengan membran basalis glomerulus menebal dan mengandung deposit padat elektron yang ditunjukkan pada gambar 2.9 c, d, e, dan f.

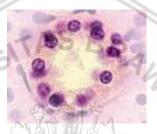


Gambar 2.9 Keadaan Patologis pada Glomerulus

Terjadi Proliferasi Sel Glomerulus dan Pelebaran Celah Bowman, a, b. Menggunakan Mikroskop Cahaya, c, d, e, f. Menggunakan Mikroskop Elektron

Tubulus ginjal menerima filtrat plasma dari glomerulus memprosesnya menjadi urine (Mescher, 2013). Setiap tubulus dibedakan menjadi beberapa segmen khusus. Aspek yang berbeda dari reabsorpsi filtrat terlokalisasi pada segmen yang berbeda. TKP di korteks menyerap sebagian besar mineral dan nutrisi lainnya dari cairan yang lewat dan membawanya ke darah di kapiler peritubuler. Lengkung Henle menurunkan kemudian menaikkan filtrat ke medula yang membantu membangun lingkungan hipertonik cairan interstisial meduler. TKD kembali ke aparatus jukstaglomerular dari *renal* corpuscle asalnya. Akhirnya, tubulus kolektivus mengarah kembali melalui medula untuk mengalir ke pelvis. Diferensiasi fungsional dari segmen tubuler yang berbeda dikaitkan dengan variasi struktur sel epitel tubuler. Spesialisasi struktural ini terlihat dalam mikroskopis tubulus.

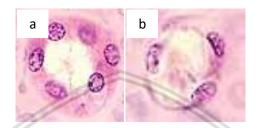
Initial segment tubulus adalah TKP yang ditunjukkan pada gambar 2.10. Disebut proksimal karena terdekat dengan titik awal (renal corpuscle) dan kontortus karena berkelok-kelok (kontras dengan segmen lurus dari tubulus yang membentuk lengkung Henle). Segmen tubulus ginjal ini mengembalikan sebagian besar filtrat ke darah lewat kapiler peritubuler, dengan secara aktif memompa molekul kecil keluar dari lumen tubulus ke celah interstitial (air kemudian mengikuti gradien konsentrasi) (Mescher, 2013). TKP cenderung beberapa kali lebih panjang daripada TKD, sehingga bagian TKP jauh lebih umum daripada TKD pada slide histologis dari korteks ginjal. Epitel dari segmen awal yang turun lengkung Henle mirip dengan TKP, dan kadang-kadang disebut pars recta dari TKP. TKP dilapisi oleh epithel cuboid simplex yang khas pada selnya. Ujung apikal setiap sel memiliki brush border microvili yang memberikan luas permukaan yang meningkat untuk mengakomodasi saluran membran dan bertanggung jawab pada penyerapan molekul kecil sel dari filtrat di dalam lumennya. Brush border terlihat jelas dalam sediaan histologis rutin, tetapi sel TKP cenderung memiliki ujung apikal yang tidak jelas (kontras dengan batas apikal sel yang lebih pasti yang terdiri dari TKD dan tubulus kolektivus). Sel-sel pada TKP memiliki proporsi mitokondria pada sitoplasmanya guna menyediakan energi yang akan digunakan untuk memompa ion dan molekul untuk melawan gradien konsentrasi. Banyaknya mitokondria di sini menyebabkan sel-selnya sedikit asidofil. Membran plasma sel TKP yang berdekatan sangat *interdigitated*. Hal ini meningkatkan luas permukaan membran basalis yang tersedia untuk memompa molekul keluar dari ujung basal setiap sel. Sebagai konsekuensi dari membran sel yang interdigitasi tersebut, batas antara sel TKP yang berdekatan tidak mencolok, yaitu pada bagian epitel terlihat seperti rangkaian sitoplasma kontinyu dengan nukleus yang muncul pada interval tidak teratur (Leboffe *et al*, 2013).



Gambar 2.10 Tubulus Kontortus Proksimal

Lengkung Henle adalah bentukan khas dari tubulus ginjal, berhubungan dengan fungsi khas medula renal dalam konservasi air (Mescher, 2013). Pada dasarnya, lengkung Henle membantu membangun lingkungan saline hipertonik di medula, yang pada gilirannya memungkinkan pemulihan air selanjutnya pada duktus kolektivus (dan berhubungan dengan konsentrasi urine di dalam duktus kolektivus). Lengkung Henle terdiri dari saluran yang turun, memiliki segmen tebal yang pendek di awal dan diikuti oleh segmen tipis yang panjang yang ditunjukkan pada gambar 2.11 a. Saluran yang naik memiliki segmen tipis yang ditunjukkan pada gambar 2.11 b dan diikuti oleh segmen tebal. Segmen tebal yang menurun dilapisi oleh *epithel cuboid simplex* yang secara struktural mirip dengan TKP. Segmen ini pada dasarnya merupakan kelanjutan dari TKP (kadang-kadang disebur *pars recta* berbeda dengan *pars convoluta*). Segmen tipis yang menurun dilapisi oleh *epithel squamous simplex*, begitu juga dengan

segmen tipis yang naik. Segmen tebal yang naik dilapisi oleh *epithel cuboid* simplex yang secara struktural mirip dengan TKD (seperti untuk TKP, segmen ini kadang-kadang disebut *pars recta* dari TKD yang berlawanan dengan *pars convoluta*) (Leboffe *et al*, 2013).



Gambar 2.11 Lengkung Henle

Gambar a. Segmen tebal, b.Segmen tipis

Tubulus kontortus distal berlanjut ke dalam korteks dari segmen lengkung Henle yang naik. Seperti TKP, disebut kontortus karena berkelok-kelok. Disebut distal karena lebih jauh atau "hilir" dari titik awal *renal corpuscle*. Segmen tubulus ginjal ini mengembalikan material yang masih berguna dari filtrat ke darah melalui kapiler peritubuler, seperti TKP yang secara aktif memompa molekul kecil keluar dari lumen tubulus ke ruang interstitial (Mescher, 2013). Setiap TKD kembali ke kutub vaskuler dari *renal corpuscle* asalnya. Di daerah ini, TKD memiliki nama khusus, yaitu makula densa (makula densa = "dense spof", dinamai untuk pengelompokan dekat nuklei epitel di dinding TKD) yang merupakan bagian dari aparatus jukstaglomerular. Bagian TKD cenderung relatif jarang terlihat pada preparat histologis korteks ginjal, karena cenderung jauh lebih pendek daripada TKP. Tubulus ini dilapisi oleh *epithel cuboid simplex*. Tidak seperti TKP, ujung apikal masing-masing sel TKD tidak memiliki *brush border*, walaupun mungkin ada mikrovili yang tersebar yang ditunjukkan pada gambar 2.12. Karena sebagian besar "pengangkatan berat" telah dilakukan di TKP, sel

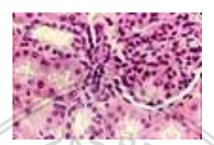
TKD tidak begitu terspesialisasi. Ujung apikal sel TKD cenderung lebih berbeda daripada sel TKP, yang menunjukkan kemunculan lumen yang lebih besar dan lebih jelas di setiap TKD. Sama dengan TKP, sel TKD memiliki proporsi mitokondria yang tinggi dalam sitoplasmanya, untuk menyediakan energi untuk memompa ion dan molekul melawan gradien konsentrasi. Namun, sel TKD memiliki lebih sedikit mitokondria dibandingkan TKP. Maka dari itu, lebih sedikit asidofilia daripada TKP. Membran plasma sel TKD yang berdekatan sangat interdigitasi (seperti pada TKP), hal tersebut meningkatkan luas permukaan membran basal yang tersedia untuk memompa molekul keluar dari ujung basal setiap sel. Sebagai konsekuensi dari membran sel interdigitas tersebut, batasbatas antara sel TKD yang berdekatan tidak mencolok, yaitu pada bagian epitel tampak seperti rangkaian sitoplasma kontinyu dengan nukleus yang muncul pada interval yang tidak teratur (Leboffe *et al.* 2013).



Gambar 2.12 Tubulus Kontortus Distal

Makula densa atau aparatus jukstaglomerular atau kompleks jukstaglomerular adalah kompleks struktur yang berhubungan dengan kutub vaskuler setiap *renal corpuscle* (Mescher, 2013). Aparatus jukstaglomerular memiliki dua komponen utama, yaitu makula densa dan sel jukstaglomerular (sel J-G) yang ditunjukkan pada gambar 2.13. Makula densa adalah kumpulan inti sel epitel padat di sepanjang TKD yang menyempit, bersebelahan dengan arteriol

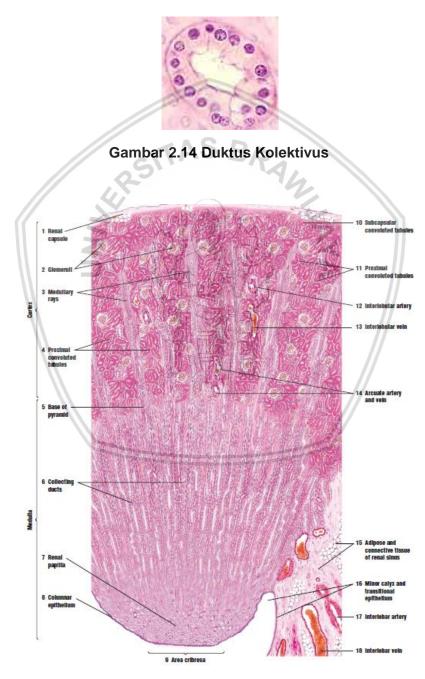
aferen di kutub vaskuler sel darah asal tubulus terbentuk. Ini bisa berfungsi sebagai sensor untuk konsentrasi natrium dan/atau klorida. Sel jukstraglomerular di dinding arteriol aferen adalah sel otot polos khusus yang mengandung butiran sekretori, sumber hormon renin (Leboffe *et al*, 2013).



Gambar 2.13 Aparatus Jukstaglomerular

Penamaan duktus kolektivus dikarenakan saluran ini "mengumpulkan" urine dari TKD. Duktus kolektivus dilapisi oleh epithel cuboid simplex yang tampak kurang terspesialisasi daripada TKP atau TKD (Mescher, 2013). Sitoplasma relatif jelas, yaitu tidak terlalu eosinofilik, dan batas sel biasanya berbeda. Duktus kolektivus bergabung dan menjadi lebih besar saat turun melalui medula. Ukurannya yang berbeda-beda dapat diamati pada berbagai tingkat di ginjal, dengan yang terkecil di korteks dan yang terbesar di dekat pelvis. Epitel duktus kolektivus memiliki sifat fisiologis yang tidak biasa dari permeabilitas yang dapat disesuaikan terhadap air, di bawah kendali hormon diuretik hipofisis di bawah pituitari (ADH). Jika permeabilitas terhadap air tinggi, maka air berdifusi melintasi epitel duktus kolektivus ke interstisial hipertonik medula, sehingga menghasilkan konsentrasi urine dalam duktus. Tetapi jika permeabilitas air rendah, maka air ditahan dalam urine dan dikeluarkan dari tubuh. Duktus kolektivus mudal dikenali di medula ginjal, sebagai tubulus yang relatif besar yang dilapisi oleh epithel cuboid, dimana sel epitel relatif jelas, yaitu

bukan sebagai eosiofilik seperti TKP dan TKD, serta memiliki batas sel yang berbeda (Leboffe *et al*, 2013) yang ditunjukkan pada gambar 2.14. Gambaran ginjal secara keseluruhan mulai dari korteks hingga medulla ditunjukkan pada gambar 2.15.



Gambar 2.15 Histologi Ginjal

Terdiri dari Medula dan Korteks Beserta Struktur di Dalamnya

2.2.3 Gambaran Histolopatologis Ginjal Lupus Nefritis

Disfungsi ginjal permanen dapat terjadi karena patofisiologi sel ginjal, seperti hipertrofi, apoptosis, dan kelainan podosit, yang menyebabkan berkurangnya kemampuan filtrasi glomerulus dan hilangnya kapiler glomerulus dan insterstisial, fibrosis tubulointerstisial, dan atrofi tubuler (Loeffler and Wolf, 2014). Kelainan yang terjadi di glomerulus seperti *focal and segmental glomerulosclerosis* (FSGS), nefropati IgA, glomerulonefritis, lupus nefritis, dan nefropati diabetik, terjadi peningkatan ekspresi *Transforming Growth Factor-β1* (TGF-β1) dan reseptor TGF-β1 pada glomerulus dan tubulus karena akumulasi matriks ekstraseluler yang berlebihan. TGF-β1 adalah sitokin multifungsi yang berperan dalam homeostasis ginjal dan memodulasi proliferasi sel, diferensiasi, apoptosis, adhesi, dan migrasi (Luo *et al*, 2017). Pada pasien yang mengalami penyakit ginjal, terjadi peningkatan kadar TGF-β1 dalam urine seiring dengan peningkatan derajat proteinuria, fibrosis interstisial, dan matriks mesangial. Penebalan membran basal diinduksi oleh TGF-β1 dengan menstimulasi sel ginjal untuk menghasilkan lebih banyak matriks ekstraseluler.

TGF-β1 memiliki peran yang cukup besar dalam pengendalian penyakit autoimun. Pada pasien lupus, terjadi penurunan kadar serum TGF-β1 oleh limfosit yang mungkin berkaitan dengan aktivitas penyakit yang tinggi dan kerusakan organ yang parah. Tingkat keparahan kerusakan ginjal berkaitan dengan kadar TGF-β1 dalam serum yang menurun (Metawie *et al*, 2015). Jumlah total kadar TGF-β1 memiliki korelasi positif dengan kadar trombosit dan berkorelasi negatif dengan laju endap darah (LED). Peningkatan produksi *growth factor*, termasuk TGF-β1 juga dapat disebabkan oleh aktivasi NFκβ (Loeffler and Wolf, 2014). TGF-β1 akan mengaktivasi sel-sel target, yaitu sel fibroblast, sel

mesangial, podosit, sel tubulus, dan sel endotel, yang akan memicu terbentuknya matriks ekstraseluler. Sel fibroblast akan menyebabkan terjadinya fibrosis interstisial pada ginjal dengan mengekspresikan kolagen tipe-I. Sel mesangial pada glomerulus akan mengespresikan kolagen tipe-IV yang akan menyebabkan terjadinya glomerulosklerosis. Produksi matriks ekstraseluler, abnormalitas processus podosit, apoptosis sel, dan transisi sel epitel menjadi mesenkimal, yang selanjutnya menyebabkan terjadinya glomerulosklerosis dan fibrosis interstisial pada ginjal disebabkan oleh aktivasi TGF-β1 pada sel podosit. Sedangkan aktivasi TGF-β1 pada sel tubulus ginjal menyebabkan produksi matriks ekstraseluler, proliferasi sel, apoptosis sel, dan transisi sel menjadi mesenkimal, yang selanjutnya akan menyebabkan terjadinya fibrosis interstisial pada ginjal. Produksi TNF-α juga akan menyebabkan sel mesangial, podosit, sel tubulus, dan sel endotel mengalami apoptosis secara berlebihan. Kelainan fungsi ginjal lain yang menandakan komplikasi dari lupus ditandai dengan meningkatnya ekskresi protein, meningkatnya tekanan darah permanen, munculnya edema tungkai, sehingga membutuhkan sonografi atau biopsi ginjal (Kuhn dan Landmann, 2014).

2.3 Pristane

2.3.1 Gugus Fungsi

Pristane atau 2,6,10,14-tetramethylpentadecane (TMPD) merupakan tata nama IUPAC yang memiliki struktur kimia C₁₉H₄₀ (*National Institute of Standards and Technology of USA*, 2017) yang ditunjukkan pada gambar 2.16.

Gambar 2.16 Gugus Fungsi Pristane

2.3.2 Efek Pada Tubuh

Induksi pristane bertujuan untuk memperoleh fenotip sel B yang pristane secara intraperitoneal juga akan menyerupai lupus. Injeksi menyebabkan tersekresinya autoantibodi yang selanjutnya akan membentuk kompleks antigen-autoantibodi (Ag-autoAb). Kompleks Ag-autoAb akan bersirkulasi ke seluruh tubuh dan pada saat mencapai sel target, seperti sel mesangial, podosit, sel tubulus, dan sel endotel di glomerulus, kompleks AgautoAb tersebut akan terdisposisi. Setelah terdisposisi, ini akan sel menyebabkan terjadinya glomerulosklerosis dan fibrosis pada interstisial ginjal yang akan menyebabkan mikroalbuminuria. Albuminuria juga dapat disebabkan oleh disfungsi endotel kapiler glomerulus dengan mengurangi cara negatifitasnya. Pristane yang diinjeksikan juga menimbulkan reaksi inflamasi dan fragmentasi sel atau molekul damage-associated molecular pattern (DAMP) karena proses apoptosis yang dapat mengaktivasi makrofag dan selanjutnya meningkatkan keaktifan NFκβ yang akan mengekspresikan sitokin-sitokin proinflamasi seperti TNF-α, TGF-β1, IL-1, dan IL-6. TNF-α yang bersifat proteolitik akan merusak glikoprotein, sehingga berkurangnya muatan negatif pada podosit (Loeffler and Wolf, 2014). Hal tersebut akan menyebabkan daya tolak-menolak antara podosit dan albumin berkurang, sehingga albumin dapat dengan mudah menembus membran filtrasi yang akan menyebabkan terjadinya mikroalbuminuria. Jika protein terus dikeluarkan dari tubuh, secara progresif akan

terjadi penurunan kadar protein dalam tubuh dan akhirnya terjadi penurunan tekanan osmotik plasma sehingga muncul edema karena cairan berpindah dari intravaskuler menuju interstisial (Stevens and Levin, 2013). Lama kelamaan, perpindahan cairan ini akan menyebabkan penurunan aliran darah ke ginjal sehingga kecepatan aliran darah juga akan meningkat untuk mengompensasi volume yang turun.

Pada penelitian sebelumnya, dilaporkan bahwa defisiensi interferon regulatory factor 7 (IRF 7) pada mencit yang diinduksi pristane mengalami kegagalan dalam memproduksi autoantibodi seperti anti-dsSNA, ssDNA, nRNP, dan autoantibodi Sm (Miyagawa and Asada, 2017). Perbedaan yang tidak signifikan antara kadar IgG dan IgM total pada mencit yang tidak diinduksi dengan mencit yang diinduksi menunjukkan produksi autoantibodi membutuhkan IRF7. Tetapi, kurangnya kadar autoantibodi tersebut tidak berefek pada perkembangan glomerulonefritis yang mengindikasikan bahwa produksi autoantibodi dan glomerulonefritis dikontrol oleh mekanisme yang berbeda. Realtime PCR pada sel limpa dan analisis flow cytometri pada sel peritoneal menunjukkan bahwa defisiensi IRF7 mengekspresikan kadar IFN-stimulated genes yang lebih rendah. Hal ini menunjukkan bahwa pathway IFN tipe 1 sangat penting dalam produksi autoantibodi dan patologi jaringan yang melibatkan transkripsi. Sedangkan Real-time PCR dan uji ELISA pada sera menunjukkan gen target NFκβ mengalami upregulation, dimana jalur NFκβ penting dalam patogenesis glomerulonefritis karena injeksi inhibitor NFκβ dapat mengurangi perkembangan glomerulonefritis.

Sel T yang diaktivasi berperan penting dalam patogenesis penyakit autoimun, termasuk lupus nefritis (LN). Aktivasi *calcineurin/nuclear factor* dari sel

T yang teraktivasi (NFAT) dan STAT4 *signalling* sangat penting bagi sel T untuk melakukan berbagai fungsi efektor. *Growth Factor Midkine* (gen Mdk) telah teridentifikasi sebagai regulator baru dalam patogenesis LN karena induksi pristane melalui aktivitas *signalling* NFAT dan IL-12/STAT 4. Tikus yang tidak diinduksi menunjukkan kerusakan glomerulus lebih parah daripada tikus yang defisiensi Mdk, seperti yang ditunjukkan oleh hiperseluler mesangial dan ekspansi matriks, dan loop kapiler glomerulus dengan deposisi kompleks imun. Mdk juga menginduksi sel T CD4+ mengekspresikan CD69 melalui aktivasi nukleus dari transkripsi NFAT dan secara selektif meningkatkan diferensiasi sel T CD4+ *naive* ke sel Th1 dengan mempromosikan pensinyalan IL-12/STAT 4 (Masuda *et al*, 2017). Hal ini menunjukkan Mdk diperlukan dalam aktivasi sel T CD4+ yang diregulasi NFAT dan diferensiasi sel Th1, yang akhirnya mengarah pada eksaserbasi LN.

2.4 Cocor Bebek (Bryophyllum pinnatum)

2.4.1 Taksonomi

Taksonomi dari tanaman B. pinnatum (Raj et al, 2014).

Divisi : Magnoliopita

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Saksifragalses

Keluarga: Crassulaceae

Genus : Kalancchoea

Section : Bryophyllum

Spesies : Kalancchoea pinnata/Bryophyllum pinnatum

BRAWIJAYA

2.4.2 Kandungan Bahan Aktif

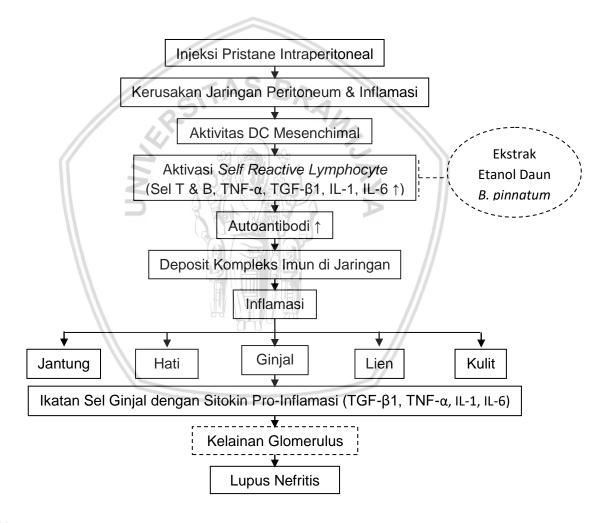
Daun dan kulit dari B. Pinnatum adalah tonik pahit, astrigent, analgesik dan carminative, digunakan secara ethanopharmacologis untuk pengobatan diare dan muntah, sakit telinga, luka, abses, ulkus lambung, gigitan serangga, dan lithiasis. Spesies B. pinnatum merupakan tanaman sukulen, yaitu tanaman yang mengandung air. Bagian tanaman yang berada di udara tidak hanya mengandung senyawa steroid, tetapi juga flavonoid, asam fenolik, antosianin, alkaloid, saponin, dan tanin (Nwali et al, 2012). Senyawa yang diisolasi dari B. pinnatum banyak digunakan sebagai obat tradisional untuk infeksi paru, rheumatoid arthritis, anti-inflamasi, dan lain-lain dimana sebagian efek antiinflamasinya dikaitkan dengan efek imunomodulator dan imunosupresan (Afzal, et al, 2012). Penelitian sebelumnya yang dilakukan secara in silico, in vitro, dan in vivo berhasil menemukan senyawa aktif pada B. pinnatum yang berpotensi untuk menjadi terapi biosimilar karena mengandung bufadienolide, yaitu Bryophyllin A, Bryophyllin B, dan lain-lain, serta mengandung Bryotoxin A, Bryotoxin B, dan Bryotoxin C yang memiliki struktur dan aktivitas seperti digoksin dan digitoksin (Czepas et al, 2017). Senyawa-senyawa aktif tersebut memiliki kemampuan docking dengan afinitas energi yang besar pada B cell-stimulating molecules, B cell activating factor (BAFF) dan a ploriferation inducing ligand (APRIL) yang terlibat dalam beberapa penyakit autoimun dengan keterlibatan autoreactive B cell, termasuk lupus, IgA nefropati (IgAN), Sjörgen's syndrome, dan rheumatoid arthritis (Samy et al, 2017). BAFF dan APRIL merupakan ligan utama yang berperan dalam peningkatan maturasi sel B dan produksi autoantibodi pada lupus. Selain itu, senyawa-senyawa aktif pada B. pinnatum tersebut juga mampu berikatan dengan reseptor BAFF dan APRIL pada tempat yang sama kedua ligan tersebut berikatan dengan reseptornya, sehingga tanaman B. pinnatum berpotensi sebagai obat kompetitif inhibitor untuk mencegah ikatan ligan BAFF dan APRIL pada ikatannya. Dengan begitu, diharapkan penggunaan B. pinnatum dapat menurunkan maturasi sel B dan produksi autoantibodi pada lupus.



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan:

: menginduksi : menghambat

_____ : variabel yang tidak diamati secara langsung

: variabel yang diteliti

BRAWIJAY

3.2 Deskripsi Kerangka Konsep

Pristane yang diinjeksikan intraperitoneal pada mencit akan merusak selsel yang ada di dalam abdomen. Seiring kerusakan sel-sel tersebut, maka akan diikuti dengan kerusakan organ-organ yang ada di dalam tubuh mencit. Pada suatu penelitian, mencit yang diinduksi pristane secara intraperitoneal memproduksi autoantibodi spesifik dan menunjukkan gejala dari lupus, termasuk proliferative artritis. diffuse immune complex glomerulonephritis haemorrhagic pulmonary capillaritis (Hadaschik et al, 2017). Clinical arthritis muncul pada bulan ke-3 penginduksian yang menunjukkan gejala inflamasi, erosi, dan kerusakan tulang rawan. Pada bulan ke-8 dapat ditemukan milderosive arthritis, yaitu adanya pannus dengan tipe sel granulosit, penurunan kadar osteoclast, erosi yang jarang mempengaruhi kedua lapisan tulang kortikal, dan tidak menunjukkan adanya perkembangan kerusakan sendi (Leiss, 2013). Biasanya, gejala yang mendahului artritis adalah peningkatan autoantibodi serum secara signifikan, dengan sendi yang terkena menunjukkan peningkatan deposit IgG (dan IgM) di dalam jaringan inflamasi.

Pada suatu penelitian eksperimental, mencit yang diinduksi pristane mengalami peningkatan ekspresi TLR7 atau reseptor IFN-I, sehingga menyebabkan hiperaktivitas sel B dan produksi autoantibodi pada lupus (Zhuang et al, 2015). Sel B dapat diaktivasi oleh kompleks protein-RNA karena keterlibatan reseptor sel B dan TLR7. Dalam memproduksi autoantibodi, TLR7 menjadi tidak toleransi, pertahanan memori serologis setelah toleransi rusak, atau sel B autoreaktif menjadi survive. Berbagai subset sel B atau sel B yang sudah keluar dari sumsum tulang terlibat pada produksi autoantibodi, termasuk folikel, zona marginal, dan sel B-1a/B-1b yang responsnya berbeda pada sinyal

TLR7. Selain itu, pensinyalan TLR7 dapat meningkatkan produksi autoantibodi oleh sel plasma atau dapat meningkatkan diferensiasi sel B memori menjadi sekresi antibody-secreting sel plasma.

Penelitian yang lebih baru menemukan bahwa sumsum tulang pada pasien lupus dan tikus yang diinduksi pristane mengandung banyak sel mati, yang dapat merangsang produksi TNF-α lokal dengan melibatkan TLR7. Sel B memori pada tikus yang diinduksi dengan pristane hyper-responsive pada ligand TLR7 yang mungkin disebabkan oleh peningkatan ekspresi TLR7 karena produksi IFN-I. Populasi sel B memori yang semakin luas dapat menyebabkan sekresi IgG sel plasma dalam merespons sel apoptosis, sehingga meningkatkan kemungkinan bahwa akumulasi sel-sel mati pada jaringan lupus dapat membantu mempertahankan produksi autoantibodi dengan menggerakkan diferensiasi sel B terminal. Autoantibodi akan memunculkan kompleks Ag-autoAb dan akan tersirkulasi ke seluruh tubuh. Saat kompleks Ag-autoAb mencapai sel targetnya, seperti sel mesangial, podosit, sel tubulus, dan sel endotel kapiler glomerulus, maka kompleks tersebut akan terdisposisi dan menimbulkan kerusakan jaringan pada organ target. Salah satu target organnya adalah ginjal yang akan memunculkan manifestasi klinis berupa mikroalbuminuria. Keterlibatan ginjal ditandai dengan meningkatnya ekspresi protein serta meningkatnya tekanan darah yang permanen, sehingga diperlukan biopsi ginjal (Kuhn dan Landmann, 2014). Histologi ginjal pada lupus menggambarkan banyaknya sel inflamasi mononuklear di interstisial ginjal dan terbentuk hyaline cast (tiroidisasi) di tubulus ginjal (Soto et al, 2016).

Potensi *B. pinnatum* dapat digunakan sebagai agen deplesi sel B dan supresi sistem imun secara *in vivo*. Satu senyawa dari *B. pinnatum* memiliki

ikatan afinitas tertinggi pada BAFF-R (6,3 kcal/mol), sampai TACI (4 senyawa, 6,4 kcal/mol) dan BCMA (7 kcal/mol). Penelitian in vivo mengungkapkan bahwa pengobatan B. pinnatum secara signifikan menurunkan presentase sel CD19+ CD22+ dan tingkat ds-DNA dengan cara tergantung dosis yang secara signifikan lebih rendah dibandingkan kontrol (masing-masing p = 0,002 dan p = 0,036). Pengobatan B. pinnatum juga menurunkan presentase Th1, Th2, dan Th17 tergantung dosis dibandingkan dengan kontrol (Kalsum et al, 2017).

3.3 Hipotesis Penelitian

3.3.1 Pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek (Bryophyllum pinnatum) memiliki pengaruh terhadap perbaikan jaringan ginjal mencit Balb/c betina model lupus dengan induksi pristane.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian dengan desain eksperimental murni di laboratorium menggunakan rancangan *post test only controlled group design* secara *in vivo*. Penelitian ini dilakukan dengan cara menginduksi mencit Balb/c betina dengan pristane *single dose* 0,5 ml intraperitoneal, sehingga mencit menjadi lupus. Kemudian mencit dibagi menjadi 5 kelompok berdasarkan perlakuan dan dosis ekstrak etanol daun *B. pinnatum*.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian *in vivo* ini adalah mencit Balb/c betina model lupus dengan induksi pristane. Pengelompokan dan perlakuan hewan coba dilakukan secara acak dengan metode *simple random sampling* dan pembagian kelompok berdasarkan dosis pemberian ekstrak etanol daun *B. pinnatum*. Kriteria inklusi mencit pada penelitian ini meliputi:

- 1. Mencit strain Balb/c betina
- 2. Mencit berwarna bulu putih, sehat, bergerak aktif, dan tingkah laku normal
- 3. Usia 6-8 minggu
- 4. Berat badan rata-rata 25-30 gram

Berikut kriteria eksklusi pada penelitian ini meliputi:

1. Mencit yang selama penelitian tidak mau makan

BRAWIJAY

- 2. Mencit yang kondisinya menurun atau mati selama penelitian Mencit Balb/c betina model lupus dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu:
- 1. Kelompok Kontrol Negatif [K(-)] : mencit Balb/c sehat
- Kelompok Kontrol Positif [K(+)] : mencit Balb/c model lupus induksi pristane tanpa perlakuan
- Kelompok Perlakuan 1 (P1) : mencit Balb/c model lupus induksi pristane dan diberikan ekstrak etanol daun *B. pinnatum* dengan dosis 10,5 mg/kgBB/hari
- Kelompok Perlakuan 2 (P2) : mencit Balb/c model lupus induksi pristane dan diberikan ekstrak etanol daun ekstrak etanol daun B. pinnatum dengan dosis 21 mg/kgBB/hari
- 5. Kelompok Perlakuan 3 (P3) : mencit Balb/c model lupus induksi pristane dan diberikan ekstrak etanol daun ekstrak etanol daun B. pinnatum dengan dosis 42 mg/kgBB/hari

Banyaknya subjek penelitian dalam setiap kelompok dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

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

n: jumlah ulangan; p: jumlah perlakuan

terdapat 5 perlakuan dalam penelitian ini, oleh karena itu didapatkan jumlah sampel sebagai berikut:

$$n(5-1) \ge 15$$

Untuk 5 perlakuan, diperlukan pengulangan paling sedikit sebanyak 4 kali untuk setiap perlakuan, sehingga sampel mencit total yang diperlukan dalam penelitian ini adalah minimal 20 ekor mencit Balb/c. Pada penelitian ini akan digunakan

BRAWIJAY

subjek hewan coba sejumlah 60 ekor mencit dengan penempatan 10 ekor mencit pada setiap kandang. Setiap kandang diberi perlakuan sesuai dengan kelompok yang telah dibagi, namun untuk kandang 6 menjadi cadangan.

4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada tahun 2018 yang direncanakan dilakukan selama sekitar 41 minggu yang terdiri atas 1 minggu aklimatisasi dan 16 minggu penginduksian pristane. Pemberian ekstrak etanol daun *B. pinnatum* dilakukan selama 12 minggu setelah peginduksian pristane, kemudian dilanjutkan dengan 1 hari pembedahan dan pemeriksaan histoPA, serta analisis data.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah pemberian ekstrak etanol daun *B. pinnatum* yang dibagi beberapa dosis, yaitu 10,5; 21; dan 42 mg/kgBB/hari selama 12 minggu secara oral kepada mencit kelompok perlakuan.

4.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kerusakan jaringan ginjal yang meliputi diameter glomerulus ginjal mencit Balb/c model lupus induksi pristane dan diberi ekstrak etanol daun *B. pinnatum*.

BRAWIJAN

4.5 Definisi Operasional

- 4.5.1 Mencit model lupus adalah mencit Balb/c yang menunjukkan kadar ANA dan anti-dsDNA di atas normal, serta menunjukkan gejala dari lupus, termasuk artritis dan kerontokan bulu setelah injeksi pristane secara intraperitoneal.
- 4.5.2 Pristane adalah larutan alkana isoprenoid, yaitu cairan berminyak transparan dan tidak bercampur dengan air, namun dapat larut dalam dietil eter, benzena, kloroform, dan karbon tetraklorida (Hahn and Kono, 2013). Larutan pristane ini 95% murni yang dibeli dari Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA.
- 4.5.3 Ekstrak etanol daun *B. pinnatum* adalah daun *B. pinnatum* yang diperoleh dari Balai Materia Medika Batu dalam bentuk simplisia dan kemudian diekstraksi dengan etanol di Laboratorium Farmakologi FKUB.
- 4.5.4 Kerusakan jaringan ginjal diukur melalui diameter glomerulus ginjal (μm) mencit Balb/c model lupus induksi pristane dan diberi ekstrak etanol daun B. pinnatum yang mulai menjauhi rata-rata nilai kontrol negatif (perbedaan dikatakan bermakna apabila nilai p<0,05). Pengukuran dilakukan dengan alat ukur Olympus Soft Imaging Solutions GmbH yang ada di Laboratorium PA FKUB bersama analis laboratorium berkompeten.</p>

BRAWIJAY

4.6 Alat dan Bahan/Instrumen Penelitian

4.6.1 Alat dan Bahan Ekstraksi Daun Cocor Bebek (*Bryophyllum* pinnatum)

Alat yang digunakan adalah oven untuk mengeringkan daun *B. pinnatum*, blender untuk menghaluskan daun *B. pinnatum* yang sudah kering, timbangan, wadah untuk perendaman, *rotary vacuum evaporator*, dan *desiccator* dengan *silica* untuk penyimpanan ekstrak. Bahan yang digunakan adalah daun *B. pinnatum* dan pelarut yaitu etanol 96%.

4.6.2 Alat dan Bahan Penginduksian Mencit Balb/c dengan Pristane

Alat dan bahan yang dibutuhkan untuk penginduksian mencit Balb/c adalah spuit 1 cc dan pristane.

4.6.3 Alat dan Bahan Pemberian Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (Bryophyllum pinnatum)

Alat dan bahan yang digunakan untuk pemberian ekstrak etanol daun *B. pinnatum* adalah spuit 50 cc yang sudah didesain untuk pemberian ekstrak etanol daun *B. pinnatum* dengan sonde khusus dan ekstrak etanol daun *B. pinnatum*. Pada saat pembedahan dibutuhkan alat dan bahan yaitu spuit 1 cc untuk penginjeksian *amphetamine* sebelum pembedahan, tempat yang sudah didesain untuk fiksasi mencit yang akan dibedah, gunting, pinset, tabung organ yang sudah diisi formalin secukupnya, dan label.

BRAWIJAYA

4.6.4 Alat dan Bahan Pemeriksaan HistoPA Ginjal

Alat dan bahan yang digunakan untuk pembuatan preparat adalah *slide*, *cover glass*, dan cat H&E. Alat dan Bahan yang digunakan untuk pengevaluasian jaringan ginjal adalah Olympus Soft Imaging Solutions GmbH yang ada di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit yang dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan kriteria eksklusi. Dipilihnya mencit Balb/c dikarenakan relevansi dengan patogenesis autoimun dan predisposisi genetik dari mencit yang mendukung. Sebelum diberikan perlakuan, mencit diaklimatisasi di laboratorium terlebih dahulu selama 7 hari. Mencit ditempatkan pada kandang berukuran 30x20x25 cm sebanyak 10 ekor pada setiap kandang. Dilakukan pembersihan kandang setiap hari dan penggantian sekam yang dilakukan 2 kali dalam 1 minggu untuk menjaga kebersihan kandang. Selain itu sirkulasi udara dan pencahayaan juga dipertahankan dalam keadaan baik dengan cara penempatan kandang di dalam ruangan dengan temperatur ruang, sirkulasi udara, dan pencahayaan yang sesuai dengan standar pemeliharaan hewan coba. Pemberian makanan dan minuman mencit disesuaikan dengan standar pemeliharaan hewan coba di Laboratorium Farmakologi FKUB. Penelitian dilaksanakan setelah mendapat persetujuan etik dari komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.7.2 Ekstraksi Daun Cocor Bebek (*Bryophyllum pinnatum*)

Daun kering kemudian dijadikan bubuk (800 g), kemudian direndam dalam etanol (2,5 L) dengan maserasi statis pada suhu ruang setiap 48 jam sebanyak 20 kali. Ekstrak etanol (EEBP) difilter dan dievaporasi di dalam *rotary vacuum evaporator* (Rotavapor RII, Büchi, Flawil, Switzerland) pada suhu terkontrol (50-60°C). Ekstrak ini ditempatkan pada *desiccator* dengan *silica* untuk menghasilkan 138,46 g (17,3%) (Chibli *et al.*, 2014).

4.7.3 Penginduksian Mencit Balb/c dengan Pristane

Untuk menginduksi lupus, mencit berusia 8-12 minggu mendapat injeksi intraperitoneal *single dose* sebesar 500 µL 2,6,10,14-tetrametyl-pentadecane (pristane) (95% murni, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) (Brand *et al.*, 2015). Mencit pada kandang 1-5 diinjeksi 500 µL atau 0,5 ml pristane. Pengamatan tanda-tanda lupus yang muncul kemudian diamati mulai 2 bulan setelah injeksi pristane. Pengukuran ANA dan ds-DNA pada minggu ke-16 dilakukan pada beberapa sampel mencit untuk mengetahui apakah mencit sudah menjadi model lupus.

4.7.4 Pemberian Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (*Bryophyllum* pinnatum)

Pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek dilakukan setiap hari selama 16 minggu dengan dosis: 10,5; 21; dan 42 mg/kgBB/hari secara per oral menggunakan sonde khusus oleh petugas Laboratorium Farmakologi berkompeten. Pada minggu ke-28, mencit diberi efek sedasi dengan

amphetamine secara intraperitoneal, kemudian sampel organ ginjal diambil dan dilakukan pengamatan variabel.

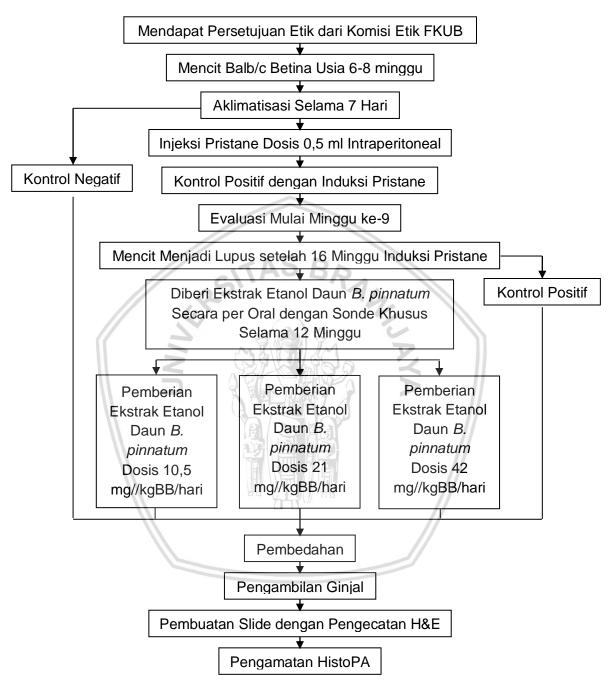
4.7.5 Pengukuran Diameter Glomerulus

Sampel organ ginjal yang telah diisolasi dibuat slide dengan pengecatan H&E untuk diamati gambaran jaringan ginjal. Pengamatan terhadap ginjal dapat dilakukan secara morfometrik, antara lain dengan mengukur nilai rata-rata diameter glomerulus (Patera *et* al, 2006). Selanjutnya dilakukan pengukuran diameter glomerulus pada berbesaran 400 kali (10 x 40). Pengukuran diameter dilakukan pada 10 glomerulus dengan menggunakan Olympus Soft Imaging Solutions GmbH bersama dengan analis Laboratorium Patologi Anatomi berkompeten, kemudian dihitung rata-rata yang didapat.

4.8 Analisis Data

Data yang diperoleh diuji normalitasnya dengan uji normalitas Saphiro-Wilk dan diuji homogenitasnya dengan uji Levene. Jika data tersebut terdistribusi normal dan homogen, selanjutnya diuji dengan statistik parametrik. Namun, apabila data tersebut tidak terdistribusi normal dan tidak homogen, selanjutnya diuji dengan uji statistik nonparametrik. Perbedaan dikatakan bermakna apabila nilai p<0,05. Data ditunjukkan dalam rerata ± standar deviasi. Keseluruhan analisis dilakukan dengan program *SPSS 16 for Windows*.

4.9 Alur Penelitian



Keterangan:

Penelitian dilakukan setelah mendapatkan Persetujuan Etik dari Komisi Etik FKUB. Mencit Balb/c yang sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi sejumlah 60 ekor diaklimatisasi selama 1 minggu. Setelah itu, dilakukan pembagian mencit

sesuai dengan berat badan. Setiap kandang diisi 10 ekor yang dibagi sesuai dengan berat badan. Satu kandang dipisahkan untuk menjadi kelompok Kontrol (-), yaitu mencit Balb/c sehat yang tidak diinduksi pristane. Sedangkan 5 kandang lainnya diinduksi pristane dengan dosis 0,5 ml secara intraperitoneal untuk dijadikan kelompok Kontrol (+). Setelah diinduksi pristane selama 8 minggu, kemudian dievaluasi manifestasi yang muncul. Pada minggu ke-16, mencit Balb/c menjadi lupus berdasarkan manifestasi klinis dan laboratorium. Kemudian 2 kandang dipisahkan untuk tetap menjadi kelompok Kontrol (+), sedangkan 3 kandang lainnya dipisahkan kembali sesuai dengan berat badan untuk diberikan perlakuan pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek (*B. pinnatum*) dengan dosis 10,5 mg/kgBB/hari, 21 mg/kgBB/hari, dan 42 mg/kgBB/hari. Setelah 3 bulan diberikan perlakuan, dilakukan pembedahan mencit pada semua kandang untuk diambil organ ginjalnya. Setelah itu, semua organ ginjal dibuat slide dengan pengecatan H&E dan diukur diameter glomerulus.

4.10 Jadwal Pelaksanaan

Pelaksanaan kegiatan dilakukan selama 17 bulan dimulai pada Bulan Mei 2017 sampai Oktober 2018.

Tabel 4.1 Jadwal Pelaksanaan Penelitian

No	Kegiatan			ruari 17			-	ret 17			Ap 20				M 20		
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Persiapan																
2	Pengumpulan																
	Data																
3	Analisis data																
4	Finalisasi																

No	Kegiatan			ıni 17				ıli 17			Agu 20	stus 17	1	S	-	mbe 17	<u> </u>
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Persiapan																
2	Pengumpulan Data																
3	Analisis data																
4	Finalisasi																

No	Kegiatan	ı	love 20	mbe 17	er	D		mbe 17	er			uari 18				2018 2 3			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4		
1	Persiapan				- ^	9													
2	Pengumpulan Data		200		7	(0	1	7	4									
3	Analisis data										P								
4	Finalisasi	7.			623		3	J		C									

No	Kegiatan	5	Ma	ret			A	oril	1		M	lei					
			2018 2018								20	18					
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Persiapan			1				2									
2	Pengumpulan			Ç													
	Data				ii/\\		A										
3	Analisis data							B									
4	Finalisasi																

No	Kegiatan			ıli 18			Agu 20			S	epte 20		er		Okto 20	ober 18	
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Persiapan																
2	Pengumpulan																
2	Data																
3	Analisis data																
4	Finalisasi									·							

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

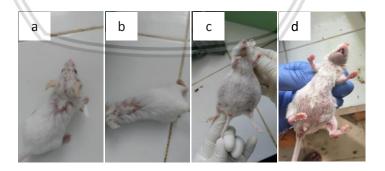
Penelitian yang telah dilakukan adalah penelitian dengan desain eksperimental di laboratorium untuk menguji efek pemberian ekstrak etanol daun *B. pinnatum* terhadap jaringan ginjal mencit Balb/c model lupus induksi pristane. Mencit Balb/c diaklimatisasi selama 7 hari, kemudian diinjeksi pristane 0,5 ml *single dose* secara intraperitoneal. Pada penelitian yang telah dilakukan, didapatkan data hasil untuk masing-masing kelompok perlakuan. Penelitian ini terdiri dari 5 macam kelompok dengan masing-masing kelompok berjumlah 2-5 mencit yang dipelihara kurang lebih selama 28 minggu dengan penginduksian pristane selama 16 minggu dan pemberian ekstrak etanol daun *B. pinnatum* selama 12 minggu. Pada akhir penelitian, mencit diberi efek sedasi dengan *amphetamine*, kemudian dibedah. Sampel organ ginjal diambil dan dilakukan pengamatan variabel. Sampel organ yang telah diisolasi dengan formalin sebagai *buffer*, kemudian dibuat slide dengan pengecatan H&E untuk diamati jaringan ginjal. Hasil penelitian berupa nilai rata-rata hasil pengukuran diameter glomerulus yang dituliskan dalam tabel 5.2.

Kelompok pertama adalah Kelompok Kontrol Negatif [K(-)], yaitu kelompok mencit Balb/c sehat. Kelompok yang kedua adalah Kelompok Kontrol Positif [K(+)], yaitu kelompok mencit Balb/c model lupus induksi pristane tanpa perlakuan. Kelompok yang ketiga adalah Kelompok Perlakuan 1 (P1), yaitu kelompok mencit Balb/c model lupus induksi pristane dan diberikan ekstrak

etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) dengan dosis 10,5 mg/kgBB/hari. Kelompok yang keempat adalah Kelompok Perlakuan 2 (P2), yaitu kelompok mencit Balb/c model lupus induksi pristane dan diberikan ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) dengan dosis 21 mg/kgBB/hari. Kelompok yang kelima adalah Kelompok Perlakuan 3 (P3), yaitu kelompok mencit Balb/c model lupus induksi pristane dan diberikan ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) dengan dosis 42 mg/kgBB/hari. Penentuan kerusakan jaringan ginjal mencit dilakukan terhadap K(+) dengan mengukur diameter glomerulus yang kemudian dibandingkan dengan K(-).

5.1.1 Hasil Pengamatan Manifestasi Mencit Balb/c Model Lupus Induksi Pristane

Pengamatan terhadap manifestasi klinis mencit Balb/c yang telah diinduksi pristane single dose 0,5 ml secara intraperioneal dimulai pada minggu ke-9.



Gambar 5.1 Manifestasi Klinis Lupus yang Muncul Setelah Injeksi Pristane 0,5 ml Dosis Tunggal secara Intraperitoneal

a, b. Kerontokan Bulu, c. Pembesaran Perut, d. Artritis

Gambar 5.1 a, b menunjukkan kerontokan bulu pada wajah dan punggung mencit. Sedangkan pada Gambar 5.1 c menunjukkan pembesaran

perut yang disebabkan oleh asites. Gambar 5.1 d menunjukkan adanya artritis pada sendi mencit. Manifestasi ini sesuai dengan penelitian Hu *et al.* (2016) bahwa mencit yang telah diinduksi pristane akan mengalami *malaise*, kerontokan bulu, artritis, splenomegali, renomegali, peningkatan ANA, anti-dsDNA, dan antibodi anti-Sm secara signifikan.

5.1.2 Hasil Pengukuran Kadar ANA dan anti-dsDNA Mencit Balb/c Model Lupus Induksi Pristane tanpa Pemberian Ekstrak Etanol Daun B. pinnatum

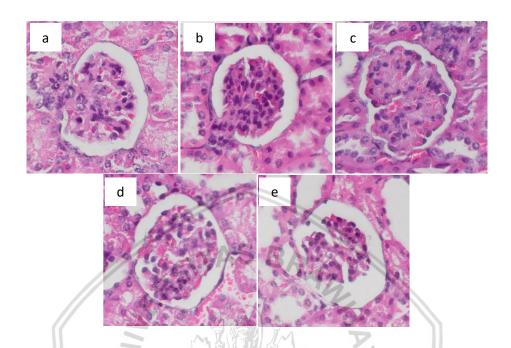
Antinuclear antibody (ANA) merupakan autoantibodi sensitif untuk lupus, sedangkan antibodi anti-dsDNA merupakan autoantibodi spesifik untuk lupus. Pada penelitian lain yang menggunakan hewan coba model lupus dengan induksi pristane menunjukkan ANA dan anti-dsDNA muncul sekitar 12-16 minggu setelah induksi (Cui et al., 2006). Pada penelitian ini, ANA dan dsDNA diukur pada minggu ke-16 setelah induksi pristane. Hasil pengukuran ANA dan dsDNA dapat dilihat pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1 Hasil Pengukuran ANA dan dsDNA

n	ANA (U/ml)	dsDNA (U/ml)	
1	146,6	39,8	
2	214,9	28,5	
3	207,2	30,8	
Rata-Rata (U/ml)	189,6	33,1	

Berdasarkan gambar 5.1 dan tabel 5.1 dapat disimpulkan bahwa kelompok mencit yang telah diinduksi pristane secara intraperitoneal menderita lupus karena manifestasi klinis yang muncul serta peningkatan ANA yang signifikan.

5.1.3 Hasil Pengamatan Mikroskopik Ginjal



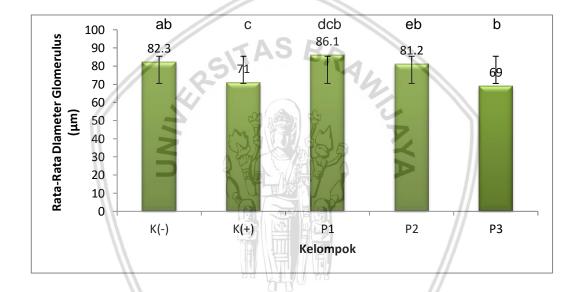
Gambar 5.2 HistoPA Glomerulus pada Ginjal Balb/c dengan Pengecatan H&E

a. K(-) Tanpa Perlakuan, b. K(+) Induksi Pristane, c. P1 (Dosis 10,5 mg/kgBB/hari), d. P2 (Dosis 21 mg/kgBB/hari), e. P3 (Dosis 42 mg/kgBB/hari)

HistoPA ginjal mencit K(-) merupakan ginjal normal yang tidak berikan perlakuan (Gambar 5.2a). HistoPA ginjal mencit K(+), P2, dan P3 menunjukkan gambaran yang berbeda dengan K(-) karena glomerulus K(+), P2, dan P3 tampak mengecil (Gambar 5.2b, d, e). HistoPA ginjal mencit P1 menunjukkan gambaran yang berbeda dengan kelompok lainnya karena glomerulus tampak membesar.

Tabel 5.2 Hasil Pengukuran Diameter Glomerulus

Kelompok					
n	K(-)	K(+)	P1	P2	P3
1	77,04	73,81	87,41	73,75	67,67
2	84,02	68,26	82,21	83,65	72,06
3	80,53	71,04	90,01	78,70	69,86
4	87,51		84,81	88,60	74,26
5					65,48
Rata-Rata (µm)	82,3	71,0	86,1	81,2	69,9
SD	± 4,50	± 2,77	± 3,36	± 6,39	± 7,72



Gambar 5.3 Grafik Rata-Rata Diameter Glomerulus

Berdasarkan tabel 5.2 dan gambar 5.3, didapatkan hasil diameter glomerulus pada masing-masing kelompok. Kelompok K(+), P2, dan P3 dengan rata-rata diameter glomerulus 71,0; 81,2; dan 69,9 μm mengalami penurunan dibandingkan dengan K(-) dengan rata-rata diameter glomerulus 82,3 μm. Sedangkan P1 dengan rata-rata diameter glomerulus 86,1 μm mengalami peningkatan dibandingkan dengan K(-).

ZAWIJAYA ZAWIJAYA

5.2 Analisis Data

Pengujian efek ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) terhadap perbaikan jaringan pada ginjal mencit Balb/c model lupus induksi pristane dilakukan dengan SPSS versi 16. Variabel penelitian merupakan diameter glomerulus yang terdiri dari 5 kelompok.

5.2.1 Uji Normalitas Data Shapiro-Wilk

Tabel 5.3 Hasil Uji Normalitas Data Shapiro-Wilk

Kelompok		Sig.
K(-)		0,972
K(+)		0,972 0,999
P1	M B 1 1 1 1 1	0,972
P2		0,972
P3		0,967

Uji normalitas yang digunakan adalah Shapiro-Wilk karena jumlah sampel penelitian yang kurang dari 50. Hasil uji normalitas diameter glomerulus menunjukkan bahwa nilai signifikansi untuk semua kelompok > 0,05 (Tabel 5.3). Hal ini menunjukkan bahwa keseluruhan data berdistribusi normal.

5.2.2 Uji Homogenitas Data

Tabel 5.4 Hasil Uji Homogenitas Data

Levene Statistic	1,269
Nilai signifikansi (Sig.)	0,325

Uji homogenitas data merupakan uji untuk melihat apakah varians kelima kelompok tersebut sama atau tidak. Levene Statistic hitung sebesar 1,269 dengan probabilitas atau signifikansi (Sig.) 0,325 (Tabel 5.4). Nilai signifikansi tersebut menunjukkan bahwa varians kelima kelompok yang dibandingkan sama atau homogen secara bermakna karena nilai signifikansinya > 0,05.

5.2.3 Uji One-Way ANOVA

Tabel 5.5 Hasil One-Way ANOVA

// 4/	Sig.
Between Groups	0,000
Within Groups	D
Total	2 1

Berdasarkan hasil uji One-way ANOVA diameter glomerulus (Tabel 5.5), didapatkan nilai probabilitas (Sig.) 0,000. Karena 0,000 < 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa rata-rata diameter glomerulus kelima kelompok berbeda.

5.2.4 Uji Post Hoc Multiple Comparisons

Tabel 5.6 Hasil Uji Post Hoc Multiple Comparisons

Kelompok	Kelompok	Mean Difference	Sig.
K(-)	K(+)	11,242	0,059
	P1	-3,834	0,811
	P2	1,09918	0,998
	P3	12,41010*	0,013
K(+)	K(-)	-11,24174	0,059
	P1	-15,07627*	0,008
	P2	-10,14257	0,101
	P3	1,16835	0,997
P1	K(-)	3,83452	0,811
	K(+)	15,07627*	0,008
	P2	4,93370	0,635
	P3	16,24462*	0,001
P2	K(-)	-1,09918	0,998
((K(+)	10,14257	0,101
	P1 0 9 1	-4,93370	0,635
- \\	P3	11,31092*	0,025
P3	K(-)	-12,41010*	0,013
- 11	K(+)	-1,16835	0,997
//	P1 📵 💝	-16,24462*	0,001
- 11	P2 1	-11,31092*	0,025

Berdasarkan hasil uji Post-Hoc diameter glomerulus dengan teknik scheffe (Tabel 5.6) didapatkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara K(-) dan P3 (p = 0,013), K(+) dan P1 (p = 0,008), P1 dan P3 (p = 0,001), serta P2 dan P3 (p= 0,025). Dengan begitu, dapat disimpulkan bahwa rata-rata diameter glomerulus berbeda antara K(-) dengan P3, K(+) dengan P1, P1 dengan P3, serta P2 dengan P3. Perbedaan signifikan dapat juga dilihat dengan adanya tanda * (bintang) pada kolom Mean Difference. Jika angka perbedaan ditandai "*", artinya perbedaan antar kelompok yang dibandingkan signifikan.

5.2.5 Uji Korelasi Pearson

Tabel 5.7 Hasil Uji Korelasi Pearson

		Kelompok	Diameter Glomerulus
Kelompok	Pearson Correlation	1	-0,374
	Sig. (2-tailed)		0,105
Diameter Glomerulus	Pearson Correlation	-0,374	1
	Sig. (2-tailed)	0,105	

Berdasarkan hasil uji korelasi Pearson diameter glomerulus, didapatkan hubungan antara variabel kelompok dan diameter glomerulus dengan angka koefisien korelasi Pearson sebesar -0,374 (Tabel 5.7). Angka tersebut menunjukkan korelasi yang cukup atau moderat antara kelompok dengan diameter glomerulus, tetapi tidak searah karena menunjukkan nilai negatif. Signifikansi kedua variabel sebesar 0,105 (α < 0,05) pada keterangan Sig. (2tailed) yang berarti hubungan kedua variabel tidak signifikan. Dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi dosis pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek (Bryophyllum pinnatum), diameter glomerulus semakin kecil.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pengaruh Pristane terhadap Diameter Glomerulus Ginjal Mencit Balb/c Betina dalam Menginduksi Lupus

Dalam melakukan penelitian, peneliti menginjeksi 2,6,10,14-tetrametylpentadecane (pristane) single dose intraperitoneal sebesar 500 µL untuk menginduksi lupus (Brand et al., 2015). Induksi pristane bertujuan untuk memperoleh fenotip sel B yang menyerupai lupus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kelompok K(+), yaitu mencit Balb/c betina model lupus dengan induksi pristane tanpa pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek (Bryophyllum pinnatum) mengalami penurunan diameter glomerulus dibandingkan dengan K(-) meskipun tidak signifikan. Hal ini karena pristane menginduksi autoantibodi lupus (anti-Sm, RNP, dsDNA, chromatin, ribosomal P, dan Su) terhadap kolagen tipe II dan faktor reumatoid (Reeves et al, 2009). Injeksi pristane secara intraperitoneal juga akan menyebabkan tersekresinya autoantibodi yang selanjutnya akan membentuk kompleks antigen-autoantibodi (Ag-autoAb). Akibat disposisi kompleks Ag-autoAb, glomerulus akan mengalami glomerulosklerosis atau bahkan fibrosis, sehingga diameter glomerulus akan menurun (Kuhn dan Landmann, 2014). Kompleks Ag-autoAb akan bersirkulasi ke seluruh tubuh dan pada saat mencapai sel target (sel mesangial, podosit, sel tubulus, dan sel endotel di glomerulus), kompleks Ag-autoAb tersebut akan terdisposisi, sehingga menyebabkan terjadinya glomerulosklerosis dan fibrosis pada interstisial ginjal (Loeffler and Wolf, 2014).

BRAWIJAYA

6.2 Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (*Bryophyllum pinnatum*) terhadap Diameter Glomerulus Ginjal Mencit Balb/c Model Lupus Induksi Pristane

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk membuktikan efek ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) dalam memperbaiki jaringan pada glomerulus ginjal mencit Balb/c betina model lupus dengan induksi pristane. Berdasarkan uji One-Way ANOVA, didapatkan nilai probabilitas 0,000 yang berarti pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) pada dosis tertentu dapat mencegah penurunan diameter glomerulus pada ginjal mencit Balb/c betina model lupus dengan induksi pristane.

Pada kelompok P1, yaitu mencit Balb/c betina model lupus dengan induksi pristane dan diberi ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) dosis 10,5 mg/kgBB/hari menunjukkan nilai rata-rata diameter glomerulus yang paling tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa glomerulus masih dalam tahap merespons sistem imun mencit akibat induksi pristane, yaitu dengan proliferasi mesangium yang terdiri dari sel mesangial dan matriks mesangial. Akumulasi matriks ekstraseluler yang berlebihan, proliferasi sel, diferensiasi, apoptosis, adhesi, dan migrasi dimodulasi oleh peningkatan ekspresi *Transforming Growth Factor-β1* (TGF-β1) dan reseptor TGF-β1 pada glomerulus dan tubulus (Luo *et al.* 2017).

Pada kelompok P2, yaitu mencit Balb/c betina model lupus dengan induksi pristane dan diberikan ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) dosis 21 mg/kgBB/hari menunjukkan nilai rata-rata diameter glomerulus paling mendekati diameter kelompok K(-), meskipun lebih rendah dari K(-) dan P1, serta lebih tinggi dari K(+). Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis

Pada kelompok P3, yaitu mencit Balb/c betina model lupus dengan induksi pristane dan diberikan ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) dosis 42 mg/kgBB/hari menunjukkan nilai rata-rata diameter glomerulus paling rendah, bahkan lebih rendah dari K(+). Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis 42 mg/kgBB/hari, ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) sudah tidak memiliki efek perbaikan jaringan atau memiliki efek negatif. Penurunan diameter glomerulus dapat disebabkan oleh terjadinya glomerulosklerosis akibat peningkatan produksi *growth factor*, termasuk TGF-β1 secara terus-menerus, sehingga mengaktivasi sel mesangial untuk mengekspresikan kolagen tipe-IV (Loeffler and Wolf, 2014).

Proliferasi sel mesangial dapat menyebabkan disfungsi ginjal permanen yang menyebabkan berkurangnya kemampuan filtrasi glomerulus, hilangnya kapiler glomerulus dan insterstisial, atrofi tubuler, dan fibrosis tubulointerstisial (Loeffler and Wolf, 2014). Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) dosis 21 mg/kgBB/hari menunjukkan efek yang paling optimal terhadap diameter glomerulus daripada dosis 10,5 mg/kgBB/hari dan 42 mg/kgBB/hari. Penelitian sebelumnya yang dilakukan secara *in silico*, *in vitro*, dan *in vivo* berhasil menemukan senyawa aktif pada *B. pinnatum* yang berpotensi untuk menjadi terapi biosimilar karena mengandung bufadienolide, yaitu *Bryophyllin A, Bryophyllin B,* dan lain-lain, serta mengandung *Bryotoxin A, Bryotoxin B*, dan *Bryotoxin C* (Czepas *et al*, 2017). Hal tersebut diduga disebabkan oleh senyawa aktif pada *B. pinnatum* ekstrak etanol daun

cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) dosis 21 mg/kgBB/hari merupakan dosis yang sesuai terhadap kemampuan *docking* dengan afinitas energi yang besar pada *B cell-stimulating molecules*, *B cell activating factor* (BAFF) dan *a ploriferation inducing ligand* (APRIL) yang terlibat dalam beberapa penyakit autoimun dengan keterlibatan *autoreactive B cell*, termasuk SLE, IgA nefropati (IgAN), *Sjörgen's syndrome*, dan *rheumatoid arthritis* (Samy *et al*, 2017). BAFF dan APRIL merupakan ligan utama yang berperan dalam peningkatan maturasi sel B dan produksi autoantibodi pada SLE. Selain itu, senyawa-senyawa aktif pada *B. pinnatum* tersebut juga mampu berikatan dengan reseptor BAFF dan APRIL pada tempat yang sama kedua ligan tersebut berikatan dengan reseptornya, sehingga tanaman *B. pinnatum* berpotensi sebagai obat kompetitif inhibitor untuk mencegah ikatan ligan BAFF dan APRIL pada ikatannya.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan, antara lain peneliti tidak menghitung jumlah sel mesangial sebagai penilaian perubahan histologi ginjal, karena sediaan preparat yang terlalu tebal. Penghitungan sel mesangial bertujuan untuk menilai fungsi ginjal, tetapi karena keterbatasan penelitian maka digunakan metode analisis morfometri yang bertujuan untuk mengetahui seberapa besar kerusakan ginjal. Faktor-faktor tersebut mungkin dapat berpengaruh terhadap hasil penelitian, sehingga perlu dipertimbangkan pada penelitian berikutnya.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Hipotesis penelitian terjawab berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan. Penelitian mengenai uji efek ekstrak etanol daun cocor bebek ($Bryophyllum\ pinnatum$) yang diberikan secara oral dengan dosis 10,5 mg/kgBB/hari, 21 mg/kgBB/hari, dan 42 mg/kgBB/hari memberikan pengaruh yang nyata (α < 0,05) terhadap diameter glomerulus. Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopik, dosis yang cukup baik dalam perbaikan jaringan ginjal mencit Balb/c model lupus induksi pristane adalah dosis 21 mg/kgBB/hari, karena pada dosis tersebut diameter glomerulus paling mendekati kelompok Kontrol (-).

7.2 Saran

Saran pada penelitian selanjutnya yaitu perlu dilakukan penelitian kembali terkait dosis ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) yang dihubungkan dengan derajat keparahan lupus pada jaringan ginjal dengan jumlah sampel yang lebih besar. Selain itu, ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) dengan dosis lebih dari sama dengan 42 mg/kgBB/hari diketahui tidak memberikan efek positif terhadap perbaikan jaringan ginjal mencit Balb/c betina model lupus dengan induksi pristane. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis ekstrak etanol daun cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) yang dapat ditoleransi oleh tubuh dalam waktu tertentu.

BRAWIJAY

DAFTAR PUSTAKA

- Afzal, M., Kazmi, I., et al. Bryophyllum pinnatum: A Review. International Journal of Research in Biological Sciences, 2012, 2 (4): 143-149.
- Bai, Y., Tong, Y., Liu, Y., Hu, H. Self-dsDNA in the Pathogenesis of Systemic Lupus Erythematosus. *Clin Exp Immunol.*, 2018, 191(1):1-10.
- Brand, C., da Costa, T.P., Bernardes, E.S., *et al.* Differential Development of Oil Granulomas Induced by Pristane Injection in Galectin-3 Deficient Mice. *BMC Immunology*, 2015, 16:68.
- Chibli, L.A., Rodrigues, K.C.M., *et al.* Anti-inflammatory Effects of *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken Ethanol Extract in Acute and Chronic Cutaneous Inflammation. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014, 154: 330-338.
- Czepas, J.K., Sieradzka, M., Szajwaj, B., Pecio, L., Ponczek, M.B., Nowak, P., Stochmal, A. Bufadienolides from *Kalanchoe daigremontiana* as Thrombin Inhibitors-*In Vitro* and *In Silico* Study. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 99: 141-150.
- Dasilva Santos, I., Wilson, H., Turner-Stokes, T., Cairns, T., Lightstone, L. AB1308 Factors Associated with The Development of ESRD in a Recent Single Centre Cohort of Patients with Lupus Nephritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2018, 77:1745-1746.
- Der, E.B., Suryawanshi, H., Ranabothu, S., et al. Single-cell RNA Sequencing of Skin and Kidney Cells in Lupus Nephritis Provides Insights into Pathogenesis and Indicates Novel Potential Biomarkers. The Journal of Immunology, 2018, 200 (1): 45,3.
- Dorland, W.A.N. *Kamus Saku Kedokteran Dorland*, 28th Ed., EGC, Jakarta, 2012. p. 637-638.
- Hadaschik, E.N., Wei, X., Leiss, H., Heckmann, B., Niederreiter, B., Steiner, G., Ulrich, W., Enk, A.H., Smolen, J.S., Stummvoll, G.H. Regulatory T Cell-Deficient Scurfy Mice Develop Systemic Autoimmune Features Resembling Lupus-Like Disease. *Arthritis Research & Therapy*, 2015, 17: 35.
- Hahn, B., Kono, D. Animal Models of SLE, in Wallace, DJ. *Dubois' Systemic Lupus Erythematosus and Related Diseases*, 2013, 190-236.
- Hahn, B.H., McMahon, M.A., et al. American College of Rheumatology Guidelines for Screening, Treatment, and Management of Lupus Nephritis. American College of Rheumatology, 2012, 64 (6): 797-808.
- Heuer, S.E., Catalina, M., Robl, R., Geraci, N., Lipsky P., Grammer, A. Common Patterns of Gene Expression in Tissues of Patients with Systemic Lupus Erythematosus Imply Similar Pathways of Molecular Pathogenesis. *The Journal of Immunology*, 2017, 198 (1): 224.

- Hu, W., Niu, G., Lin, Y., Chen, X., Lin, L. Impact of The Polymorphism in Vitamin D Receptor Gene Bsml and The Risk of Systemic Lupus Erythematosus: An Updated Meta-Analysis. *Clin Rheumatol*, 2016, 35 (4): 927-34.
- Isselbacher, et al. Harrison Prinsip-Prinsip Ilmu Penyakit Dalam, 13th Ed., EGC, Jakarta, 2012.
- Jakes, R.W., Bae, S.C., Louthrenoo, W., Mok, C.C., Navarra, S.V., Kwon, N. Systematic Review of The Epidemiology of Systemic Lupus Erythematosus in The Asia-Pacific Region: Prevalence, Incidence, Clinical Features, and Mortality. Arthritis Care Res (Hoboken), 2012, 64(2):159-68.
- Järvinen, T.M., Hellquist, A., Zucchelli, M., et al. Replication of GWAS-Identified Systemic Lupus Erythematosus Susceptibility Genes Affirms B-Cell Receptor Pathway Signalling and Strengthens The Role of IRF5 in Disease Susceptibility in a Northern European Population. Rheumatology (Oxford), 2012, 51(1):87-92.
- Kalsum, U., Nurdiana, N., Pratama, M.Z., Kalim, H., Handono, K. Potential Novel Natural B Cell Depleting and Immunosuppression Agent in Lupus Treatment Using *Bryophyllum pinnatum* in silico and in Pristane Induced Lupus Mice. *Lupus Sci Med*, 2017, 4 (Suppl 1): A1-A227.
- Kemenkes RI, Infodatin: Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI, Situasi Lupus di Indonesia, Jakarta, 2017.
- Kuhn, A., Landmann, A. The Classification and Diagnosis of Cutaneous Lupus Erythematosus. *Journal of Autoimmunity*, 2014, 48-49: 14-19.
- Leiss, H., Niederreiter, B., Bandur, T., Schwarzecker, B., Blüml, S., Steiner, G., Ulrich, W., Smolen, J.S., Stummvoll, G.H. Pristane-Induced Lupus as s Model of Humas Lupus Arthritis: evolvement of Autoantibodies, Internal Organ and Joint Inflammation. *Lupus*, 2013, 22 (8): 778-792.
- Lisnevskaia, L., Murphy, G., Isenberg, D. Systemic Lupus Erythematosus. *Lancet*, 2014, 384 (9957):1878-1888.
- Loeffler, I., Wolf, G. Transforming Growth Factor-β and The Progression of Renal Disease. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 2014, 29 (1): i37-i45.
- Luo, D., Guan, Q., Wang, K., Nguan, C.Y.C., Du, C. TGF-β1 Stimulates Movement of Renal Proximal Tubular Epithelial Cells in a Three-Dimensional Cell Culture Via an Autocrine TGF-β2 Production. *Experimental Cell Research*, 2017, 350 (1): 132-139.
- Masuda, T., Maeda, K., Sato, W., Kosugi, T., Sato, T., Kojima, H., Kato, N., Ishimoto, T., Tsuboi, N., Uchimura, K., Yuzawa, Y., Maruyama, S., Kadomatsu, K. Growth Factor Midkine Promotes T-Cell Activation through Nuclear Factor of Activated T Cells Signaling and Th1 Cell Differentiation in Lupus Nephritis. *The American Journal of Pathology*, 2017, 187 (4): 740-751.

BRAWIĴAY

- Metawie, S.A., ElRefai, R.M., ElAdle, S.S., Shahin, R.M.H. Transforming Growth Factor-β1 in Systemic Lupus Erythematosus Patients and Its Relation to Organ Damage and Disease Activity. *Egyptian Society for Joint Diseases and Arthritis*, 2015, 37 (4): S49-S54.
- Miyagawa, F., Asada, H. Essential Requirement for Interferon Regulatory Factor 7 in Autoantibody Production but Not Development of Nephritis in Murine Lupus. *Journal of Dermatological Science*, 2017, 86 (2): e3.
- Moulton, V.R., Fueyo, A.S., Meidan, E., Li, H., Muzui, M., Tsokos, G., C. Pathogenesis of Human Systemic Lupus Erythematosus: A Cellular Perspective. *Trends in Molecular Medicine*, 2017, 23 (5): 615-635.
- Nagaratna, A., Hegde, P.L. A Comprehensive Review on Parnabeeja [Bryophyllum pinnatum (lam.) Oken]. Journal of Medicine Plants Studies, 2015, 3 (5): 166-171.
- Nawata, T., Kubo, M., *et al.* Treatment of Class IV Lupus Nephritis with Mycophenolate Mofetil Monotherapy: A Case Report. *Internal Medicine*, 2018, 57 (14): 2067-2070.
- Novo, M.P.D.L., Álvarez, R.P., Kostov, B., Zerón, B., Gandia, M., Almirall, A.S., Superville, D., Shoenfeld, Y., Casals, M.R., Khamashta, M.A. The Association Between World Development Indicators Per Country and Gender Ratio in Patients with Systemic Lupus Erythematosus: A Big Data Approach Analysis. *Lupus Sci Med*, 2017, 4: A195.
- Novo, M.P.D.L., Gandia, M., Álvarez, R.P., Zerón, B., Kostov, B., Almirall, A.S., Superville, D., Shoenfels, Y., Casals, M.R., Khamashta, M.A. Big Data in Systemic Lupus Erythematosus: Phenotypic Disease Expression of 171,000 Adult Patients. *Lupus Sci Med*, 2017, 4: A195.
- Nwali, B.U., Okaka, A.N.C., Ibiam, U.A., Aja, P.M. Phytochemical Composition of Bryophyllum pinnatum Leaves. International Journal of Advanced Biological Research, 2012, 2 (4): 614-616.
- Olson, S.W., Lee, J.J., Prince, L.K., et al. Elevated Subclinical Double-Stranded DNA Antibodies and Future Proliferative Lupus Nephritis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2013, 8(10): 1702-1708.
- Orduno, N.M., Menard, L., Carman, J., Suchard, S., Casano, F., Lee, D., Daouti, S., Habte, S., Kansal, S., Bandyopadhyay, S., Hu, Y., Furie, R., Steven, N. High Frequency of Circulating Terminally Differentiated CD8+ T Cells Characterise Systemic Lupus Erythematosus Patients With Renal Involvement. *Lupus Sci Med*, 2017, 4: A133.
- Parks, C.G., D'Aloisio, A.A., Sandler, D.P. Early Life Factors Associated with Adult-Onset Systemic Lupus Erythematosus in Women. *Front Immunol*, 2016, 7:103.
- Raj, A., Gururaja, M.P., Joshi, H., et al. Kalanchoe pinnatum in Treatment of Gallstones: An Ethnopharmacological Revie. Int.J.PharmTech Res, 2014, 6 (1): 252-261.

- Reeves, W.H., Lee, P.Y., Weinstein, J.S., Satoh, M., Lu, L. Induction of Autoimmunity by Pristane and Other Naturally-Occuring Hydrocarbons. *Trends Immunol.*, 2009, 30(9): 455-464.
- Richards, H.B., Satoh, M., Shaw, M. Interleukin 6 Dependence of Anti-DNA Antibody Production: Evidence for Two Pathways of Autoantibody Formation in Pristane-induced Lupus. *J Exp Med.*, 1998, 188(5): 985-990.
- Samy, E., Wax, S., Huard, B., Hess, H., Schneider, P. Targeting BAFF and APRIL in Systemic Lupus Erythematosus and Other Antibody-Associated Diseases. *International Reviews of Immunology*, 2017, 36 (1): 3-19.
- Somers, E.C., Marder, W., Cagnoli, P., Lewis, E.E., DeGuire, P., Gordon, C., el. Population-Based Incidence and Prevalence of Systemic Lupus Erythematosus: The Michigan Lupus Epidemiology and Surveillance Program. *Arthritis Rheumatol*, 2014, 66 (2):369-78.
- Soto, A., Marina, S.H., Cardeno, A., Rosillo, M.A., Fidalgo, S.S. Dietary Extra Virgin Olive Oil Attenuates Kidney Injury in Pristane-Induced SLE Model via Activation of HO-1/Nrf-2 Antioxidant Pathway and Suppression of JAK-STAT, NF-kB, and MAPK Activation. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2016, 276:288.
- Stevens, P.E., Levin, A. Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease: Synopsis of The Kidney Disease: Improving Global Outcomes 2012 Clinical Practice Guideline. *Ann Intern Med*, 2013, 158 (11): 825-830.
- Sujoko, Kesowo, Suntoko, Bantar, Radityo, S., Nur, A. *Hubungan Antara Karakteristik Klinik dengan Manifestasi Ginjal pada Pasien LES di RSUP dr. Kariadi Semarang*, Undergraduate Thesis Fakultas Kedokteran, Semarang, 2012.
- Tatsimo, S.J.N., Tomokou, J.D.D., Havyawimana, L., Csupor, S., Forgo, P., Hohmann, J., Kuiate, J.R., Tane, P. Antimicrobial and Antioxidant Activity of Kaempferol Rhamnoside Derivativs from *Bryophyllum pinnatum*. *BMC Research Notes*, 2012, 5: 158.
- Tortora, Gerard, J., Derrickson, B. *Principle of Anatomy and Physiology*, 13th Ed., Jakarta, 2017.
- Tunnicliffe, D.J., Palmer, S.C., *et al.* Immunosuppressive Treatment for Proliferative Lupus Nephritis. *Cochrane Library*, 2018 Jun 29.
- Young, K.A., Munroe, M.E., Guthridge, J.M., Kamen, D.L., Niewold, T.B., Gilkeson, G.S., et al. Combined Role of .Vitamin D Status and CYP24A1 in The Transition to Systemic Lupus Erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 2016 Jun 9.
- Zhuang, H., Szeto, C., Han, S., Yang, L., Reeves, W.H. Animal Models of Interferon Signature Positive Lupus. *Front Immunol*, 2015, 6: 291.