

**Pengaruh Terapi Ekstrak Etanol Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) terhadap Ekspresi Interleukin-1 Beta dan Jumlah Sel Radang Organ Ginjal Pada Hewan Model Glomerulonefritis Akut Induksi Streptokinase**

**SKRIPSI**

**Oleh:**  
**AULIA FADIL PAMUNGKAS**  
**155130107111008**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN**  
**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**  
**MALANG**  
**2019**

**Pengaruh Terapi Ekstrak Etanol Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) terhadap Ekspresi Interleukin-1 Beta dan Jumlah Sel Radang Organ Ginjal Pada Hewan Model Glomerulonefritis Akut Induksi Streptokinase**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:

**AULIA FADIL PAMUNGKAS**

**155130107111008**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2019**

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**

**Pengaruh Terapi Ekstrak Etanol Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) terhadap Ekspresi Interleukin-1 Beta dan Jumlah Sel Radang Organ Ginjal Pada Hewan Model Glomerulonefritis Akut Induksi Streptokinase**

**Oleh:**

**AULIA FADIL PAMUNGKAS  
155130107111008**

Pembimbing I

Pembimbing II

**Edwin Widodo, S.Si., M.Sc., Ph.D**

NIP. 198105042 00501 1 001

**drh. Ahmad Fauzi, M.Sc**

NIP. 2011068 40607 1 001

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Brawijaya

**Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc**

NIP. 19631216 198803 1 002

## LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Aulia Fadil Pamungkas

NIM : 155130107111008

Program Studi : Kedokteran Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

Pengaruh Terapi Ekstrak Etanol Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) terhadap Ekspresi Interleukin-1 Beta dan Jumlah Sel Radang Pada Hewan Model Glomerulonefritis Akut Induksi Streptokinase

Dengan ini menyatakan bahwa:

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

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 15 Juli 2019  
Yang menyatakan,

**Aulia Fadil Pamungkas**

NIM. 155130107111008

**Pengaruh Terapi Ekstrak Etanol Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) terhadap Ekspresi Interleukin-1 Beta dan Jumlah Sel Radang Organ Ginjal Pada Hewan Model Glomerulonefritis Akut Hasil Induksi Streptokinase**

**ABSTRAK**

Glomerulonefritis merupakan penyakit ginjal karena adanya inflamasi dan proliferasi sel glomerulus, ditandai oleh peningkatan ekspresi Interleukin 1 beta (IL-1 $\beta$ ) dan peningkatan jumlah sel radang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol Blueberry pada kasus Glomerulonefritis Akut (GNA) terhadap ekspresi Interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ) dan jumlah sel radang. 20 ekor tikus jantan strain wistar yang berumur 6-8 minggu dengan berat badan 150-250 gram dibagi dalam 5 kelompok perlakuan yang terdiri dari kontrol negatif, kontrol positif (diinduksi streptokinase sebanyak 3 kali dosis 6000 IU/ekor dengan interval 5 hari secara IV), perlakuan 1,2,3 diinduksi streptokinase sebanyak 3 kali dosis 6000 IU/ekor dengan interval 5 hari secara IV dan pemberian terapi ekstrak etanol Blueberry dengan dosis masing-masing 500 mg/kg BB, 1000 mg/kg BB, 1500 mg/kg BB selama 14 hari. Setelah 30 hari, ginjal tikus diambil untuk pemeriksaan ekspresi IL-1 $\beta$  menggunakan pewarnaan imunohistokimia dan jumlah sel radang menggunakan pewarnaan hematoksin eosin, kemudian dianalisa secara statistic menggunakan *One Way ANOVA* dengan taraf kepercayaan sebesar 95% atau  $\alpha = 0,05$ . Hasil penelitian menunjukkan pemberian ekstrak etanol Blueberry dapat menurunkan ekspresi IL-1 $\beta$  dan jumlah sel radang pada organ ginjal dengan dosis terbaik yaitu 1500 mg/kg BB. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak etanol Blueberry memiliki efek terapi terhadap glomerulonefritis akut pada tikus putih yang diinduksi streptokinase berdasarkan ekspresi IL-1 $\beta$  dan jumlah sel radang.

Kata Kunci : Blueberry, Glomerulonefritis Akut, Streptokinase, Interleukin 1 beta, Sel Radang

repository.ub.ac.id

**Therapeutic Effect of Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) Ethanol Extract  
on the Interleukin-1 Beta Expression and Total of Inflammatory Cells  
on Kidney in Animals Model Acute Glomerulonephritis  
Induced by Streptokinase**

**ABSTRACT**

Glomerulonephritis is a kidney disease which is indicated by inflammation and proliferation glomerular cell characterized by an increase in the expression of Interleukin 1 beta (IL-1 $\beta$ ) and number of inflammatory cells. The aim of this study is to ascertain the effect of Blueberry ethanol extract on cases of Acute Glomerulonephritis (GNA) on Interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ) expression and increasing of total inflammatory cells. 20 wistar male rats aged 6-8 weeks with weight of 150-250 grams were divided into 5 treatment groups consisting of negative control, positive control (induced by streptokinase 3 times with dose 6000 IU/each with interval 5 days, IV), three groups of treatments induced by streptokinase 3 times with dose 6000 IU/each with interval 5 days and treatments of Blueberry ethanol extract with dose 500 mg/kg BW, 1000 mg/kg BW, 1500 mg/kg BW for 14 days, respectively. After 30 days, rat kidneys were taken for examination of IL-1 $\beta$  expression was using immunohistochemistry and total of inflammatory cells with Hematoxilin-Eosin staining, then analyzed statistically using One Way ANOVA with a confidence level of 95% or  $\alpha = 0.05$ . The results showed that the administration of Blueberry ethanol extract as therapy could reduce IL-1 $\beta$  expression and number of inflammatory cells of kidney organ with the best dose of 1500 mg/kg BW. The conclusion of this research is that Blueberry ethanol extract has a therapeutic effect on acute glomerulonephritis that cause by streptokinase based on levels of IL-1 $\beta$  expression and increasing of total inflammatory cells.

Keywords : Blueberry, Acute Glomerulonephritis, Streptokinase, Interleukin 1 beta, Inflammatory Cells.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa karena telah memberikan rahmat dan pertolongan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “**Pengaruh Terapi Ekstrak Etanol Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) terhadap Ekspresi Interleukin-1 Beta dan Jumlah Sel Radang Pada Hewan Model Glomerulonefritis Akut Hasil Induksi Streptokinase**”. Penelitian ini merupakan payung penelitian hewan model glomerulonefritis yang diketuai oleh drh. Ahmad Fauzi, M.Sc. Serta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Strata Satu Kedokteran Hewan (S.KH). Dalam penulisan laporan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Edwin Widodo, S.Si., M.Sc., Ph.D sebagai Pembimbing I yang telah membantu penulis dalam mengarahkan, memberi bimbingan, kesabaran, fasilitas, dan waktu yang telah diberikan serta dukungan kepada penulis dalam penyusunan dan penyempurnaan skripsi ini.
2. Drh. Ahmad Fauzi, M.Sc. sebagai Pembimbing II yang telah membantu penulis dalam mengarahkan, memberi bimbingan, kesabaran, fasilitas, dan waktu yang telah diberikan serta dukungan kepada penulis dalam penyusunan dan penyempurnaan skripsi ini.
3. Drh. Aldila Noviatri, M. Biomed sebagai Penguji I yang telah bersedia meluangkan waktu dan memberikan masukan serta arahan kepada penulis dalam penyempurnaan skripsi ini.
4. Drh. Tiara Widyaputri, M.Si sebagai Penguji II yang telah bersedia meluangkan waktu dan memberikan masukan serta arahan kepada penulis dalam penyempurnaan skripsi ini.
5. Drh. Yudit Oktanella, M.Si sebagai Dosen Pembimbing Akademik yang telah bersedia membimbing dan memberikan masukan serta arahan dalam kegiatan perkuliahan.
6. Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya (FKH UB).



7. Seluruh staf dan karyawan FKH yang telah membantu proses administrasi dalam membuat tugas akhir.
8. Bapak Sri Haryoko, SE dan Ibu Ir. Tri Bastuti P selaku orang tua penulis yang telah mencurahkan segala kasih sayang, kesabaran, nasihat, pengorbanan, dukungan material dan moral serta doa restu yang diberikan kepada penulis.
9. Tim penelitian Blueberry “Rizky Ayu, Sari Murni dan Nurul Insyirah” atas semangat dan kerjasama yang diberikan sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan lancar dan terselesaikan.
10. Teman penulis “Rahmi Elfira, Tiara Anggraeni, Anatasha Reza, Olfivesen Purba, Nufritriyana Firsty, Anris Alfani, Syasya Yusrina, Annisa Larasati, Gusti Aulia, Bayu Hendra, Dini Aprilia, Kurnia Indah, Nila Ayu” atas segala dukungan, motivasi, dan doa yang diberikan kepada penulis.
11. Seluruh teman seperjuangan di Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya angkatan 2015 khususnya Kabinet Asique yang telah menjadi keluarga selama proses pendidikan dan menjadi pendorong untuk meraih kesuksesan.

Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan dan skripsi ini dapat memberikan manfaat dan menambah pengetahuan tidak hanya bagi penulis tetapi juga bagi pembaca.

Malang, 15 Juli 2019,

Penulis



## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI .....</b>	<b>iii</b>
<b>LEMBAR PERNYATAAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>v</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG.....</b>	<b>xiv</b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1    Latar Belakang.....	1
1.2    Rumusan Masalah.....	3
1.3    Batasan Masalah .....	4
1.4    Tujuan Penelitian .....	4
1.5    Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
2.1    Ginjal.....	6
2.2    Glomerulonefritis Akut.....	8
2.2.1    Etiologi Glomerulonefritis Akut .....	8
2.2.2    Patofisiologi .....	8
2.2.3    Diagnosa .....	10
2.2.4    Pengobatan.....	11
2.3    Streptokinase.....	12
2.4    Interleukin-1 Beta (IL-1 $\beta$ ).....	12
2.5    Sel Radang .....	13
2.6    Tikus Putih ( <i>Rattus novergicus</i> ).....	14
2.7    Blueberry ( <i>Vaccinium corymbosum</i> ) .....	16
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN .....</b>	<b>19</b>
3.1    Kerangka Konseptual.....	19



3.2	Hipotesis Penelitian .....	22
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN.....</b>		<b>23</b>
4.1	Tempat dan Waktu Penelitian .....	23
4.2	Alat dan Bahan.....	24
4.3	Tahapan Penelitian.....	24
4.3.1	Penetapan Sampel Penelitian .....	24
4.3.2	Rancangan Penelitian.....	25
4.3.3	Variabel Penelitian.....	26
4.4	Prosedur Penelitian .....	27
4.4.1	Persiapan Hewan Coba .....	27
4.4.2	Preparasi Streptokinase 6000 IU .....	27
4.4.3	Pembuatan Ekstrak Blueberry.....	28
4.4.4	Pembuatan Hewan Model Glomerulonefritis Akut pada Tikus .....	28
4.4.5	Pengukuran Kadar BUN dan Kreatinin Serum Darah .....	29
4.4.6	Terapi Ekstrak Etanol Blueberry.....	29
4.4.7	Euthanasia dan Pengambilan Spesimen Organ Ginjal .....	30
4.4.8	Pembuatan Preparat Histopatologi Ginjal.....	30
4.4.9	Perhitungan Jumlah Sel Radang .....	31
4.4.10	Pengamatan Ekspresi IL-1 $\beta$ Imunohistokimia.....	32
4.5	Analisis Data.....	33
<b>BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>		<b>34</b>
5.1.	Hewan Model Glomerulonefritis Akut Hasil Induksi Streptokinase .....	34
5.2.	Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Blueberry ( <i>Vaccinium corymbosum</i> ) Terhadap Ekspresi Interleukin 1 Beta pada Ginjal Tikus Induksi Streptokinase.....	36
5.3.	Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Blueberry ( <i>Vaccinium corymbosum</i> ) Terhadap Jumlah Sel Radang pada Ginjal Tikus Induksi Streptokinase .....	41
<b>BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>		<b>47</b>
6.1.	Kesimpulan .....	47
6.2.	Saran .....	47
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>		<b>48</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>		<b>54</b>

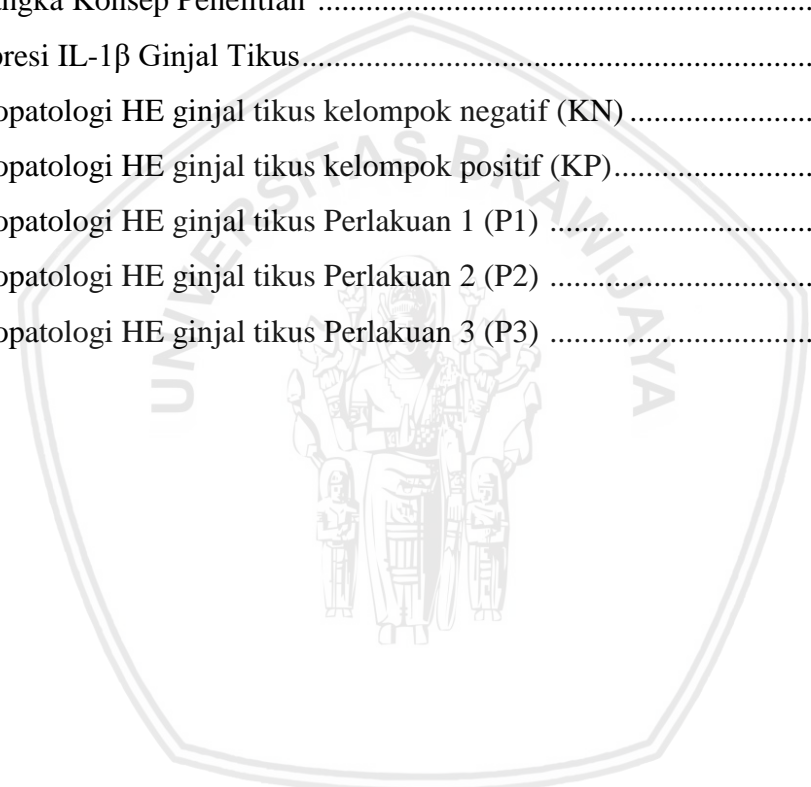
## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Rancangan Penelitian .....	26
5.1 Nilai Kadar Rata-rata BUN dan Kreatinin Serum Tikus .....	34
5.2 Rata-Rata Ekspresi IL-1 $\beta$ Ginjal Tikus.....	39
5.3 Rata-Rata Jumlah Sel Radang Histopatologi Ginjal Tikus.....	44



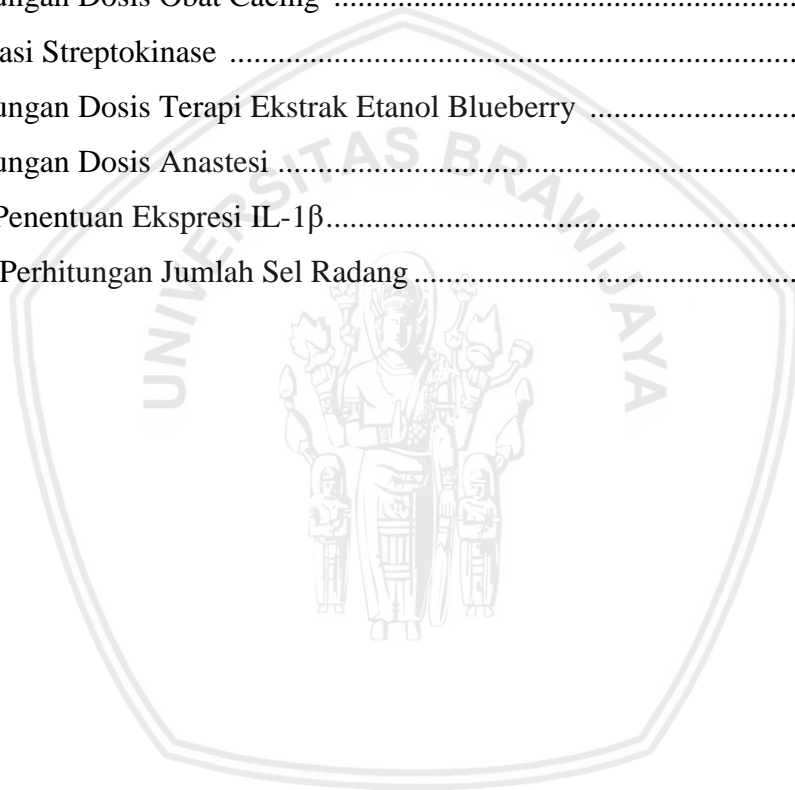
## DAFTAR GAMBAR

Tabel	Halaman
2.1 Histologi Ginjal .....	6
2.2 Sel Radang .....	13
2.3 Tikus ( <i>Rattus novergicus</i> ) .....	15
2.4 Buah Blueberry ( <i>Vaccinium corymbosum</i> ) .....	17
3.1 Kerangka Konsep Penelitian .....	19
5.1 Ekspresi IL-1 $\beta$ Ginjal Tikus.....	37
5.2 Histopatologi HE ginjal tikus kelompok negatif (KN) .....	41
5.3 Histopatologi HE ginjal tikus kelompok positif (KP).....	42
5.4 Histopatologi HE ginjal tikus Perlakuan 1 (P1) .....	42
5.5 Histopatologi HE ginjal tikus Perlakuan 2 (P2) .....	42
5.6 Histopatologi HE ginjal tikus Perlakuan 3 (P3) .....	43



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Laik Etik .....	54
2. Uji Determinasi Buah Blueberry .....	55
3. Skema Perlakuan .....	59
4. Kerangka Operasional .....	60
5. Perhitungan Dosis Obat Cacing .....	61
6. Preparasi Streptokinase .....	62
7. Perhitungan Dosis Terapi Ekstrak Etanol Blueberry .....	63
8. Perhitungan Dosis Anastesi .....	65
9. Hasil Penentuan Ekspresi IL-1 $\beta$ .....	66
10. Hasil Perhitungan Jumlah Sel Radang .....	69



## DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

Simbol/Singkatan	Keterangan
%	: Persen
°C	: Derajat Celcius
μL	: Microliter
ACE	: Angotensin Converting Enzyme
ANOVA	: Analysis of Varian
BUN	: Blood Urea Nitrogen
cm	: Centimeter
g	: Gram
GNA	: Glomerulonephritis Akut
GNAPS	: Glomerulonephritis Akut Poststreptococcal
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography
HE	: Hematoksilin Eosin
IL	: Interleukin
IL-1β	: Interleukin 1 Beta
IU	: International Unit
kg BB	: Kilogram Berat Badan
MAC	: Membrane Attack Complex
mg	: Miligram
mL	: Mililiter
MMP	: Matrix Matelloproteinase
nm	: Nanometer
PBS	: Phospat Buffer Saline
pH	: Pangkat Hidrogen
ROS	: Reactive Oxygen Species
Rpm	: Rad per Minute
TNFα	: Tumor Necrosis Factor Alfa

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Glomerulonefritis merupakan gangguan pada ginjal yang ditandai dengan peradangan pada kapiler glomerulus yang fungsinya sebagai filtrasi airan tubuh dan sisa-sisa pembuangan (Khasanah, 2013). Penyebab dari glomerulonefritis akut adalah bakteri, virus, parasit, dan proses imunologis lainnya (Hidayah, 2013). Salah satu jenis dari glomerulonefritis akut adalah glomerulonefritis akut pasca streptokokus (GNAPS). Glomerulonefritis akut pasca streptokokus adalah infeksi yang disebabkan oleh streptokokus  $\beta$ -hemolitik strain nefritogenik kelompok A yang menyerang bagian kulit, tenggorokan dan ginjal (Bhimma, 2015).

Kejadian glomerulonefritis akut pascastreptokokus pada hewan lebih banyak terjadi pada anjing dan kucing, yaitu sekitar 55% pada anjing jantan dengan usia rentan 4-8 tahun. Kucing menunjukkan kejadian penyakit tersebut sebesar 75% dengan rata-rata usia kucing yang rentan terhadap glomerulonefritis akut sekitar 3-4 tahun. Beberapa ras anjing yang lebih rentan terhadap GNAPS antara lain Bernese Mountain Dogs, English Cocker Spaniels, English Springer Spaniels, Doberman Pinschers, Greyhounds, Lhasa Apsos, Poodles, Rottweilers, Samoyeds, Shih Tzu, dan Soft-coated wheaten Terriers (Brown, 2013).

Glomerulonefritis akut pasca streptokokus terjadi karena suatu proses kompleks imun dimana antibodi dari tubuh akan bereaksi dengan antigen yang



beredar dalam darah dan komplemen untuk membentuk suatu kompleks imun (Geetha, 2005). Streptokinase merupakan protein ekstrasellular yang berasal dari *Streptococcus β-hemolyticus* (Pardede, 2009). Streptokinase mengubah plasminogen bebas menjadi plasmin (enzim aktif) dengan memutus rantai peptida. Plasmin akan mengikat didalam pembuluh darah dan mendegradasi polimer fibrin menjadi fragmen kecil. Produk degradasi fibrin dapat meningkatkan permeabilitas vaskuler. Peristiwa ini menyebabkan kerusakan ginjal dan mengaktivasi komplemen (C3a dan C5a) (Mentari, 2016).

Aktivasi komplemen C3 dan C5a tersebut akan meningkatkan permeabilitas kapiler ginjal dan memicu kenaikan IL-1 $\beta$ . IL-1 $\beta$  merupakan sitokin proinflamasi yang terlibat dalam melawan infeksi. Adanya IL -1 $\beta$  yang berperan sebagai kemotaktik neutrofil akan mengakibatkan keluarnya neutrofil yang diikuti migrasi dari eosonofil, basofil dan makrofag atau infiltrasi sel radang ke tempat aktivasi komplemen (Behrman dan Bratawijaya, 2000).

Pengobatan glomerulonefritis dapat dilakukan dengan pemberian obat immunosupresif (cyclophosphamie atau cyclosporine), pemberian obat diuretik dapat digunakan untuk mengurangi proteinuria, pemberian Angotensin Converting Enzyme (ACE) inhibitor contohnya benazepril, enalapril, ramipil dan pemberian antiinflamasi (Brown, 2013). Pengobatan kimiawi secara umum masih menimbulkan efek samping yang memperparah kerusakan ginjal. Efek samping tersebut dapat dihindari dengan pemberian obat herbal sebagai

sebuah alternatif pengobatan, yaitu menggunakan buah Blueberry (*Vaccinium corymbosum*).

Buah blueberry (*Vaccinium corymbosum*) mempunyai kandungan air 86%, karbohidrat 9,7%, protein 0,6%, dan lemak 0,4%. Selain itu kandungan yang dimiliki blueberry yang berfungsi sebagai antioksidan seperti asam askorbat, polifenol, dan antosianin. Kandungan antosianin pada blueberry dilaporkan dapat mencapai 495mg/100g yang termasuk alvidin, delphinidin, petunidin, cyanidin and peonidin (Michalska, 2015). Kandungan antioksidan tersebut berperan melindungi sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas dengan cara mengikat radikal bebas sehingga mencegah proses inflamasi dan peradangan pada sel tubuh (Muray *et al.*, 2009).

Berdasarkan data tersebut, tujuan penelitian ini difokuskan pada efek antioksidan dari buah Blueberry terhadap penurunan ekspresi *interleukin 1 beta* (IL-1 $\beta$ ) dan jumlah sel radang pada hewan coba model glomerulonefritis akut hasil induksi streptokinase.

## 1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

- 1) Apakah ekstrak blueberry memiliki efek terhadap glomerulonefritis dengan menurunkan ekspresi *interleukin-1 beta* (IL-1 $\beta$ ) pada organ ginjal tikus (*Rattus novergicus*) pasca induksi streptokinase?
- 2) Apakah ekstrak blueberry (*Vaccinium corymbosum*) memiliki efek terhadap glomerulonefritis dengan menurunkan jumlah sel radang pada organ ginjal tikus (*Rattus novergicus*) pasca induksi streptokinase?

### 1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini yaitu:

1. Hewan model yang digunakan adalah tikus (*Rattus novergicus*) jantan strain Wistar dengan berat 150-200 gram berusia 10 minggu. Penggunaan hewan coba dalam penelitian ini sudah mendapatkan laik etik oleh komite etik Universitas Brawijaya dengan nomor 1025-KEP-UB.
2. Pembuatan keadaan glomerulonefritis pada hewan model tikus dilakukan dengan cara induksi streptokinase. Streptokinase yang digunakan diinduksi secara intravena pada *vena coccygea* dengan dosis 6000 IU yang diinduksikan pada hari pertama, keenam, dan kesebelas.
3. Ekstrak etanol blueberry diberikan pada kelompok perlakuan I, perlakuan II, dan perlakuan III dengan dosis ekstrak etanol blueberry yaitu 500, 1000, dan 1500 mg/kg BB.
4. Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah ekspresi IL-1 $\beta$  dengan metode pewarnaan imunohistokimia dan jumlah sel radang dengan metode pewarnaan *Haematoksin Eosin*, pada tikus (*Rattus novergicus*) model glomerulonefritis akut hasil induksi streptokinase yang diberi terapi ekstrak blueberry (*Vaccinium corymbosum*).

### 1.4 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dalam penelitian ini adalah:

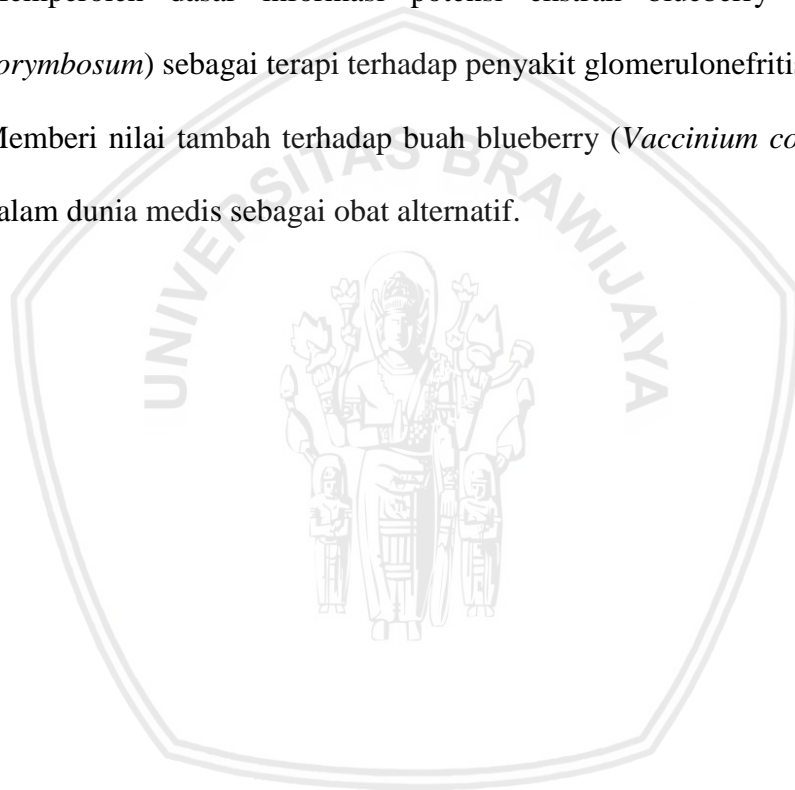
- 1) Mengetahui efek ekstrak blueberry (*Vaccinium corymbosum*) pada hewan model glomerulonefritis induksi streptokinase berdasarkan ekspresi *interleukin-1 beta* (IL-1 $\beta$ );

- 2) Mengetahui efek ekstrak blueberry (*Vaccinium corymbosum*) pada hewan model glomerulonefritis induksi streptokinase berdasarkan jumlah sel radang.

### 1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah:

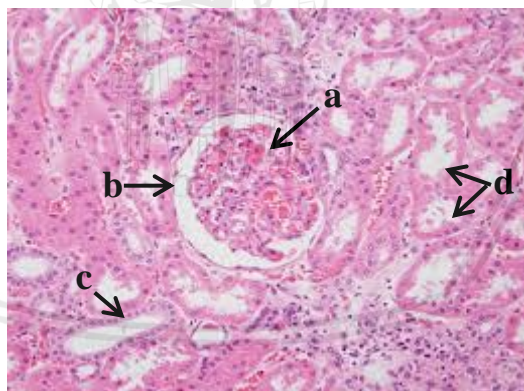
- 1) Memperoleh dasar informasi potensi ekstrak blueberry (*Vaccinium corymbosum*) sebagai terapi terhadap penyakit glomerulonefritis;
- 2) Memberi nilai tambah terhadap buah blueberry (*Vaccinium corymbosum*) dalam dunia medis sebagai obat alternatif.



## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Ginjal

Ginjal merupakan suatu organ berbentuk seperti kacang, berwarna kemerahan yang terletak menempel pada dinding abdomen posterior di kedua sisi kolumna vertebralis dan dikelilingi jaringan adiposa. Ginjal kanan terletak sedikit lebih rendah daripada ginjal kiri karena tertekan oleh hepar (Anshar, 2015). Ginjal dibungkus oleh tiga lapis jaringan. Jaringan yang terdalam adalah kapsula renalis, jaringan pada lapisan kedua adalah adiposa, dan jaringan terluar adalah fascia renal. Ketiga jaringan ini berfungsi sebagai pelindung dari trauma dan memfiksasi ginjal (Tortora, 2014).



**Gambar 2.1** Histologi ginjal: a) Glomerulus; b) Kapsula Bowman; c) Tubulus Kontortus Distal; d) Tubulus Kontortus Proximal (Eurell, 2008)

Ginjal terdiri dari berbagai macam struktur yang dapat dilihat secara mikroskopik (**Gambar 2.1**). Bagian fungsional dari ginjal adalah nefron. Nefron merupakan struktur yang terdiri dari glomerulus tempat dimana darah disaring dan tubulus ginjal yang mengolah air dan garam

dalam filtrat untuk diserap atau dilepaskan dan ditambah senyawa tertentu. Glomerulus terdiri dari arteriol aferen dan eferen yang menumpuk dan dibungkus oleh suatu lapisan sel epitel yang disebut sebagai kapsula bowman. Ruang antara kapiler dalam glomerulus diebut ruang bowman. Tubulus proximal memiliki peran dalam reabsorpsi air dan elektrolit hingga 80%, selanjutnya yaitu *loop henle*, tubulus distal dan tubulus kolektikus, tempat dimana urin dipekatkan dan ditambah dengan elektrolit tertentu (Musyahida, 2016).

Ginjal adalah organ vital yang berperan sangat penting dalam mempertahankan keseimbangan lingkungan tubuh. Ginjal berfungsi dalam mengatur keseimbangan cairan tubuh, elektrolit, dan asam basa dengan cara menyaring darah yang melalui ginjal, reabsorpsi selektif air, elektrolit dan non-elektrolit serta mengekskresi kelebihannya sebagai urin. Fungsi ginjal juga mensekresi bentuk aktif vitamin D dalam pengaturan kalsium, serta eritropoietin untuk sintesis darah (Adila, 2015). Ginjal juga mengatur tekanan darah yang disebut RAAS (*renin angiotensin aldosterone system*). Renin, suatu protease yang dibentuk di sel sel juxtaglomerular memecah angiotensinogen dalam sirkulasi menjadi angiotensin I yang kemudian dirubah oleh ACE (*angiotension-converting enzyme*) menjadi angiotensin II. Angiotensin II merupakan salah satu vasokonstriktor kuat, menyebabkan kontriksi arteriol dan bekerja pada korteks adrenal meningkatkan produksi aldosteron. Aldosteron menyebabkan retensi natrium dan air, meningkatkan cairan intravascular (Barrette *et al.*, 2012)

## 2.2 Glomerulonefritis Akut

### 2.2.1 Etiologi Glomerulonefritis Akut

Glomerulonefritis Akut (GNA) merupakan suatu istilah untuk menunjukkan gambaran klinis akibat perubahan struktur dan faal dari peradangan akut glomerulus. Gambaran klinis yang menonjol adalah kelainan dari urin seperti proteinuria, hematuria, silinder eritrosit; penurunan laju filtrasi glomerulus disertai oligouria, bendungan sirkulasi, dan hipertensi. Penyebab dari glomerulonefritis akut adalah bakteri, virus, parasit, dan proses imunologis lainnya (Hidayah, 2013). Salah satu jenis dari glomerulonefritis akut adalah glomerulonefritis akut pasca streptokokus (GNAPS). Glomerulonefritis akut pasca streptokokus adalah infeksi yang disebabkan oleh streptokokus  $\beta$ -hemolitik strain nefritogenik kelompok A yang menyerang bagian kulit, tenggorokan dan ginjal (Bhimma, 2015).

### 2.2.2 Patofisiologi

Glomerulonefritis akut pasca streptokokus terjadi karena suatu proses kompleks imun dimana antibodi dari tubuh akan bereaksi dengan antigen yang beredar dalam darah dan komplemen untuk membentuk suatu kompleks imun. Kompleks imun yang beredar dalam jumlah banyak dalam darah akan melekat pada kapiler-kapiler glomerulus dan terjadi kerusakan mekanis melalui aktivasi sistem komplemen dan reaksi inflamasi (Geetha, 2005).



Mekanisme terjadinya inflamasi yang mengakibatkan kerusakan ginjal diawali dari terbentuknya plasmin. Plasmin adalah enzim aktif dari hasil pemecahan plasminogen (proenzim inaktif) oleh streptokinase. Plasmin mengaktivasi reaksi kaskade komplemen C3 pada glomerulus sehingga memicu aktivasi monosit yang masuk ke jaringan ginjal berkembang menjadi makrofag (Vinen and Oliveira, 2003). Komplemen C5a akan teraktivasi juga dan merangsang pelepasan basofil yang akan berperan meningkatkan permeabilitas kapiler ginjal dan memicu kenaikan IL-1 yang akan menginduksi TNF-  $\alpha$ . Adanya IL -1 yang berperan sebagai kemotaktik neutrofil akan mengakibatkan keluarnya neutrofil yang diikuti migrasi dari eosinofil, basofil dan makrofag ke tempat aktivasi komplemen (Behrman, 2000).

Bersama dengan makrofag, neutrofil melakukan proses fagositosis dan pelepasan enzim lisosom yang merusak endothel dan membran basalis glomerulus diakibatkan hasil samping berupa ROS. Terjadinya peroksidasi lipid oleh ROS akan mengakibatkan hilangnya integritas dan permabilitas membran dan peningkatan kalsium intraseluler. Kalsium intraseluler berlebih akan mengaktifkan enzim fosfolipase yang menguraikan fosfolipid membran yang akan memicu produksi enzim protease yang memecah protein membran sehingga menyebabkan kerusakan seluler dan kondisi patologis (Kumar dan Abbas, 2006). Sebagai respon terhadap lesi yang terjadi, timbul

proliferasi sel-sel endotel yang diikuti sel-sel mesangium dan selanjutnya sel-sel epitel. Semakin meningkatnya kebocoran kapiler gromelurus menyebabkan protein dan sel darah merah dapat keluar ke dalam urine yang sedang dibentuk oleh ginjal, mengakibatkan proteinuria dan hematuria (Sekarwana, 2001). Hipertensi ringan sampai sedang terlihat pada 60-80% pasien yang biasanya sudah muncul sejak awal penyakit. Tingkat hipertensi beragam dan tidak proporsional. Bila terdapat kerusakan jaringan ginjal, maka tekanan darah akan tetap tinggi selama beberapa minggu dan menjadi permanen bila keadaan penyakitnya menjadi kronis. Hipertensi terjadi akibat ekspansi volume cairan ekstrasel (ECF) atau akibat vasospasme (Lumenbatu, 2003).

### **2.2.3 Diagnosa**

Pemeriksaan urinalisis merupakan metode yang paling umum dilakukan dalam mendiagnosa adanya penyakit ginjal. Warna urin gelap, berat jenis urin meningkat, adanya eritrosit pada urin, dan proteinuria pada pemeriksaan urinalisis (Rachmadi, 2010). Meningkatnya kadar urea darah BUN (Blood Urea Nitrate) dan kreatinin merupakan salah satu indikasi kerusakan pada ginjal. Kadar ureum normal pada tikus adalah 12,3 - 24,6 mg/dl dan kadar kreatinin normal pada tikus yaitu 0,2 - 0,8 mg/dl (Clifford, 2008). Pemeriksaan mikroskopis sedimen urin ditemukan eritrosit dismorfik, cast eritrosit, dan hialin., serta dapat ditemukan leukosit. Ultrasonografi ginjal untuk

mengevaluasi ukuran ginjal, dan mengetahui adanya fibrosis (Sekarwana, 2001).

Pemeriksaan serologi respon imun terhadap antigen streptokokus didapatkan peningkatan titer antibodi terhadap Streptolisin-O (ASTO) yang terjadi 10-14 hari setelah infeksi streptokokus. Titer antibodi lain seperti Antihialuronidase (Ahase) dan anti Deoksiribonuklease B (DNase B) umumnya meningkat. Pengukuran titer antibodi yang terbaik pada keadaan ini adalah terhadap antigen DNase B yang meningkat pada 90-95% kasus. Pemeriksaan gabungan titer ASTO, Ahase dan ADNase B dapat mendeteksi infeksi streptokokus sebelumnya pada hampir 100% kasus (Pardede, 2009).

#### **2.2.4 Pengobatan**

Pengobatan GNA ditentukan dengan mengidentifikasi adanya infeksi atau glomerulonefritis akut yang mempengaruhi sistem imun tubuh (Hilmanto, 2007). Tatalaksana penanganan terhadap glomerulonefritis dilakukan dengan cara terapi kausatif antibiotika. Pemberian obat immunosupresif (cyclophosphamide atau cyclosporine) untuk menekan pembentukan kompleks imun. Pada beberapa kasus hewan yang mengalami glomerulonefritis diharuskan mengkonsumsi diet protein dan pemberian fosfor dengan dosis rendah. Pemberian obat diuretik dapat digunakan untuk mengurangi proteinuria, pemberian *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE) inhibitor contohnya

benazepril, enalapril, ramipil untuk mengurangi kerusakan glomerulus, dan pemberian antiinflamasi (Brown, 2013).

### 2.3 Streptokinase

Streptokinase merupakan obat trombolitik yang biasa digunakan untuk mengobati infark jantung akut dengan cara melarutkan bekuan darah yang terbentuk pada arteri koronaria. Streptokinase berasal dari *Streptococcus β-hemolyticus*. Streptokinase merupakan protein ekstrasellular dengan berat molekul 46-kDa, yang terbentuk dari 414 asam amino (Pardede, 2009).

Streptokinase memiliki efek samping negatif terhadap tubuh, yaitu dapat menyebabkan efek toksik pada ginjal. Streptokinase yang terdapat dalam plasma akan membentuk ikatan dengan plasminogen. Ikatan ini akan mengaktifasi molekul plasminogen menjadi plasmin (Youhua, 2008). Kompleks streptokinase-plasminogen tersebut mengubah plasminogen bebas menjadi plasmin (enzim aktif) dengan memutus rantai peptida. Plasmin akan mengikat didalam pembuluh darah dan mendegradasi polimer fibrin menjadi fragmen kecil. Produk degradasi fibrin dapat meningkatkan permeabilitas vaskuler. Peristiwa ini menyebabkan kerusakan ginjal dan mengaktivasi komplemen (C3a dan C5a) (Mentari, 2016).

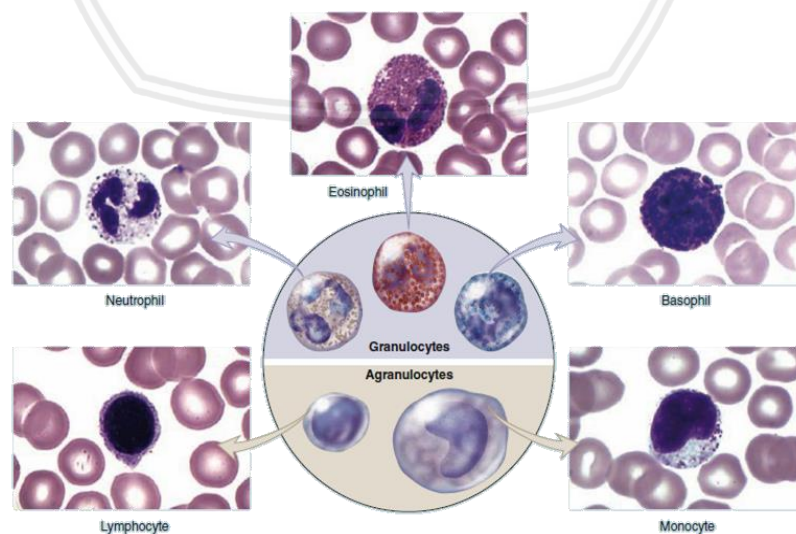
### 2.4 Interleukin-1 Beta (IL-1β)

Interleukin-1 adalah salah satu sitokin yang pertama kali ditemukan pada tahun pada tahun 1980-an, merupakan mediator yang kuat pada demam, nyeri dan inflamasi. Sumber utama IL-1 adalah monosit dan

makrofag. Sel jenis lain seperti keratosit (sel epidermis), sel dendritic, astrosit, mikroglia, limfosit B dan fibroblast dapat menghasilkan sedikit IL-1 setelah mendapatkan rangsangan. IL-1 terdiri dari dua protein yang terpisah yaitu interleukin 1 alfa (IL-1 $\alpha$ ) dan interleukin 1 beta (IL-1 $\beta$ ). IL-1 $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  merupakan sitokin proinflamasi yang terlibat dalam melawan infeksi. (Bratawijaya, 2000).

Pengaruh IL-1 $\beta$  sangat luas dan dianggap sebagai mediator pada proses radang, misalnya memberikan efek respon yang mencakup percepatan pertumbuhan sel sasaran (limfosit), menginduksi ekspresi molekul pada permukaan sel (ICAM-1 pada sel endotel), dan pelepasan mediator sekunder seperti prostaglandin dari sel makrofag dan sitokin lain (IL-2) oleh limfosit T, TNF- $\alpha$ , dan GM-CSF dari sel-sel makrofag dan IL-6 dari fibroblast (Subowo, 2009)

## 2.5 Sel Radang



**Gambar 2.2** Sel Radang (Mescher, 2016).

Sel radang muncul akibat adanya respon pertahanan tubuh dari agen infeksi seperti mikroorganisme maupun agen penyebab racun eksternal. Radang atau inflamasi merupakan usaha tubuh untuk menginaktivasi atau merusak organisme yang menyerang, menghilangkan zat iritan dan mengatur derajat perbaikan jaringan. Sel radang yang sering terlihat adalah polimorfonuklear yaitu eosinofil, basofil dan neutrophil serta mononuklear yaitu limfosit dan makrofag (Jaeschke, 2011).

Infiltrasi sel inflamasi di lokasi kerusakan jaringan awal biasanya berlangsung secara teratur. Prosesnya dimulai dengan pelepasan kemokin dan mediator terlarut dari sel residen, termasuk fibroblast interstitial, sel mast, dan sel endotel vaskular. Pemberian sinyal dari peristiwa-peristiwa ini mengubah profil molekul adhesi lokal dan menciptakan gradien kemotaksis yang merekrut sel-sel dari aliran darah. Sel mast, khususnya, bertindak sebagai sentinel dan dapat berdegranulasi dalam beberapa detik untuk melepaskan amina vasoaktif. Pada sebagian besar respons akut, leukosit polimorfonuklear (PMN) adalah sel-sel inflamasi pertama yang ekstravasasi dari sirkulasi dan tiba di lokasi cedera, diikuti kemudian oleh sel mononuklear di bawah pengaruh sinyal terpisah (Firestein, 2012).

## **2.6 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) atau yang dikenal sebagai Norway rat merupakan hewan percobaan yang sering digunakan pada penelitian biomedis, pengujian, dan pendidikan. Tikus galur Wistar merupakan salah satu galur tikus yang sering digunakan untuk penelitian laboratorium yaitu

sebagai model dalam penelitian biomedik selain Sprague Dawley (SD), dan Long Evans. Karakteristik tikus Wistar antara lain mempunyai rambut berwarna putih, mata berwarna merah, kepala tikus yang lebar, telinga panjang, dan memiliki panjang ekor yang kurang dari panjang tubuhnya (Sirois, 2005).

Klasifikasi tikus putih menurut Sharp and Villano (2013) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia

Subordo : Sciurognathi

Famili : Muridae

Subfamili : Murinae

Genus : Rattus

Spesies : *Rattus norvegicus*



**Gambar 2.3** Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar (Sharma *et al.*, 2015).



Tikus putih (*Rattus norvegicus*) sering digunakan sebagai hewan percobaan atau digunakan untuk penelitian, dikarenakan tikus merupakan hewan yang mewakili hewan mamalia. Sehingga kelengkapan organ, kebutuhan nutrisi, metabolisme biokimianya, sistem reproduksi, pernafasan, peredaran darah dan ekskresi menyerupai mamalia lainnya. Tikus yang digunakan dalam penelitian adalah galur wistar berjenis kelamin jantan. Tikus betina tidak digunakan karena kondisi hormonal yang sangat berfluktuasi pada saat mulai beranjak dewasa, sehingga dikhawatirkan akan memberikan respon yang berbeda dan dapat mempengaruhi hasil penelitian (Bredo, 2011).

Penelitian terhadap glomerulonefritis yang dilakukan pada hewan coba tikus sebelumnya pernah dilakukan seperti pada penelitian Nurjannah (2016) dan Handayani (2018) yang menggunakan tikus untuk mengetahui efek streptokinase sebagai hewan coba model glomerulonefritis akut.

## **2.7 Blueberry (*Vaccinium corymbosum*)**

Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) merupakan tanaman berbunga termasuk genus *Vaccinium* yang berupa semak dengan ukuran mulai dari 10 cm hingga 4 meter. Buah blueberry berwarna kebiruan gelap dan berbentuk bulat dengan diameter 6,4 – 12,7 mm. Blueberry merupakan tanaman asli Kanada dan Amerika Utara dan dinaturalisasi di tempat lain seperti Eropa, Jepang, Selandia Baru (Hancock, 2012).



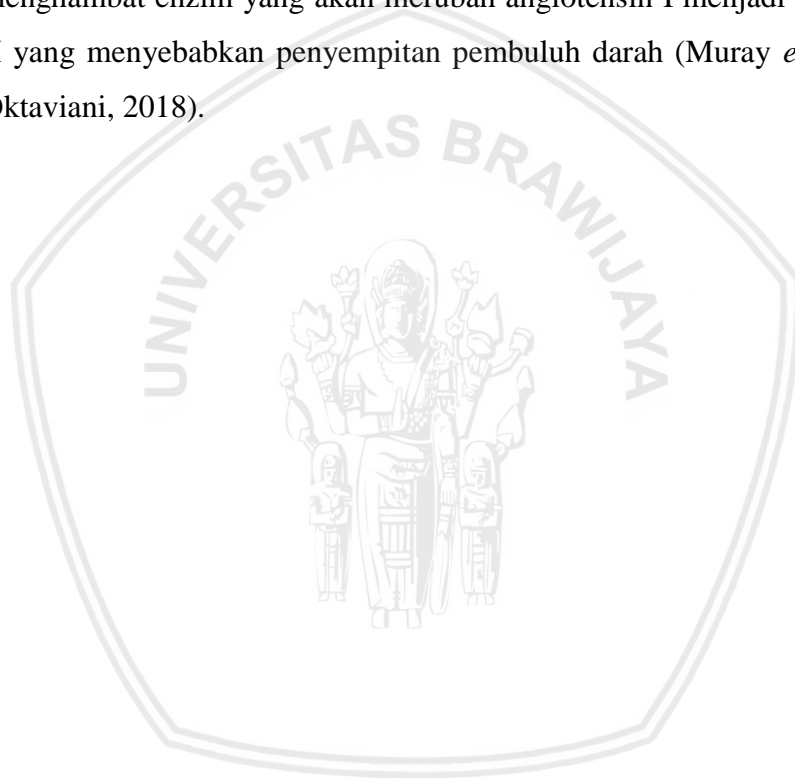
**Gambar 2.4** Buah Blueberry (*Vaccinium corymbosum*)  
(Hancock, 2012)

Menurut Hu (2016), klasifikasi dari tanaman blueberry adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Ericales
Famili	: Ericaceae
Genus	: <i>Vaccinium</i>
Spesies	: <i>Vaccinium corymbosum</i>

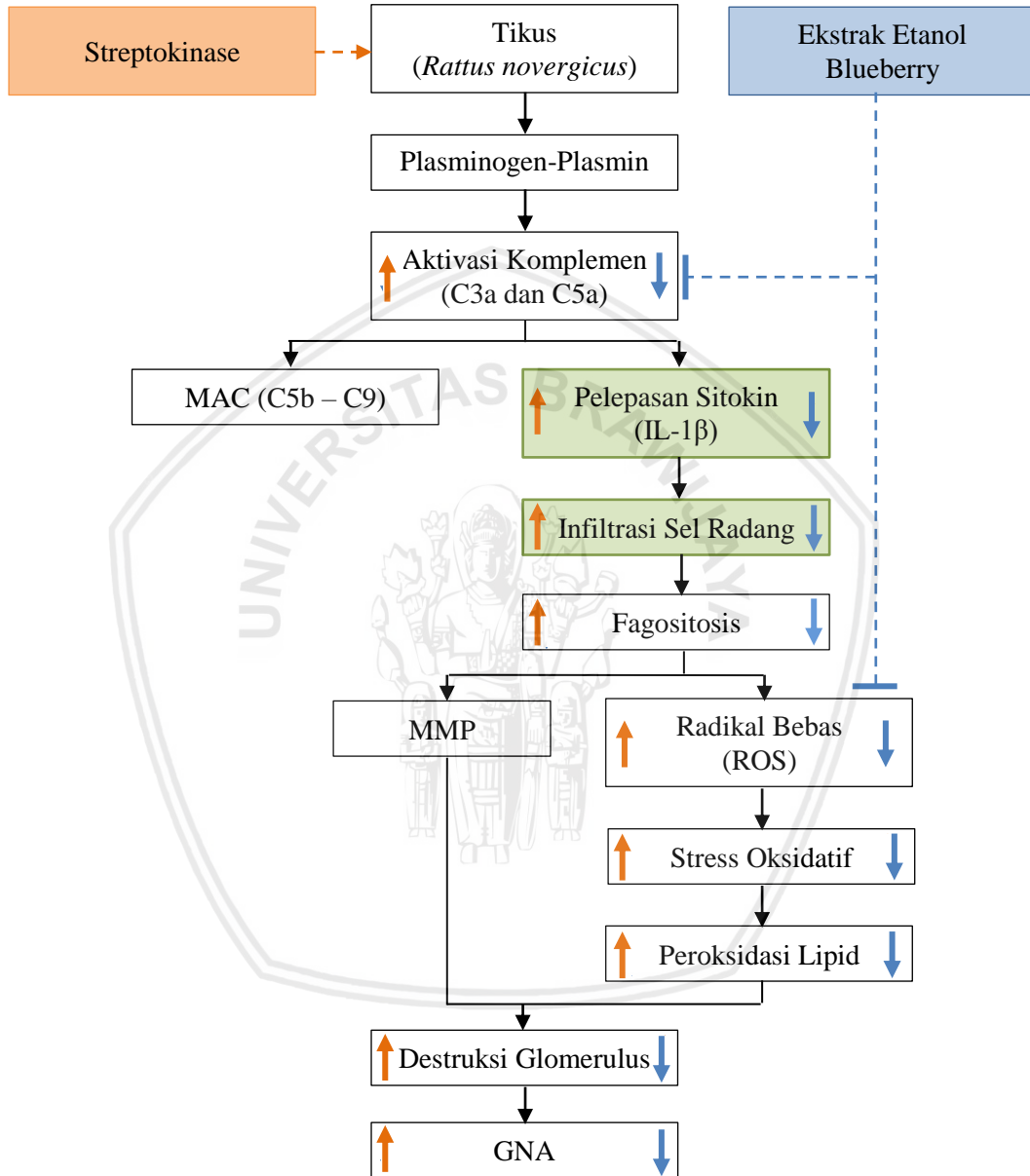
Secara umum, buah blueberry dalam bentuk segar mempunyai kandungan air 86%, karbohidrat 9,7%, protein 0,6%, dan lemak 0,4%. Selain itu kandungan yang dimiliki blueberry yang berfungsi sebagai antioksidan seperti asam askorbat, polifenol, dan antosianin. Kandungan asam askorbat pada buah blueberry adalah 10mg/100g. Total polifenol dapat mencapai 304mg/100g, dimana polifenol yang terkandung pada blueberry termasuk flavonoid, procyanidin, flavonol (kaempferol, quercetin, myricetin), dan asam fenolik. Kandungan antosianin pada blueberry dilaporkan dapat mencapai 495mg/100g yang termasuk alvidin,

delphinidin, petunidin, cyanidin and peonidin (Michalska, 2015). Kandungan antosianin ini lebih tinggi dibandingkan dengan strawberry 97mg/100g, kol ungu 355mg/100g, blackberry 317mg/100g, raspberry 365mg/100g (Saftitri, 2012). Kandungan antosianin tersebut berperan melindungi sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas dengan cara mengikat radikal bebas sehingga mencegah proses inflamasi dan peradangan pada sel tubuh serta antihipertensi dengan mekanisme menghambat enzim yang akan merubah angiotensin I menjadi angiotensin II yang menyebabkan penyempitan pembuluh darah (Muray *et al.*, 2009; Oktaviani, 2018).



### BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

#### 3.1 Kerangka Konseptual



Keterangan:

- = Induksi
- = Terapi
- = Proses
- = Variabel yang diteliti
- ↑ = Pengaruh Induksi
- ↓ = Pengaruh Terapi
- |- = Menghambat
- > = Jalur Induksi

Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Streptokinase merupakan protein ekstrasellular yang berasal dari *Streptococcus β-hemolyticus*. Streptokinase mengubah plasminogen bebas menjadi plasmin (enzim aktif) dengan memutus rantai peptida. Plasmin mengaktivasi reaksi kaskade komplemen C3 pada glomerulus sehingga memicu aktivasi monosit yang masuk ke jaringan ginjal berkembang menjadi makrofag. Komplemen C5a akan teraktivasi juga dan merangsang pelepasan basofil yang akan berperan meningkatkan permeabilitas kapiler ginjal dan memicu kenaikan IL-1 yang akan menginduksi TNF- $\alpha$ . Adanya IL-1 yang berperan sebagai kemotaktik sel radang akan mengakibatkan infiltrasi sel radang yaitu migrasi dari neutrophil, eosinofil, basofil dan makrofag ke tempat aktivasi komplemen.

Aktivasi komplemen C3a dan C5a juga akan menyebabkan terbentuknya *membrane attack complex* (MAC) C5b – C9. MAC adalah *lipophilic membrane insert* yang membentuk pori-pori pada membran di permukaan sel atau mikroba sehingga menyebabkan terjadinya lisis. Aktivitas fagositosis menyebabkan terbentuknya radikal bebas, dan teraktivasinya Matrix Metalloproteinase (MMP). MMP merupakan enzim yang dapat merusak dinding sel glomerulus sehingga menyebabkan kerusakan matriks ekstraseluler yang dapat mempengaruhi aliran darah dalam tubuh, sehingga dapat menyebabkan distruksi glomerulus yang dapat menyebabkan terjadinya glomerulonephritis akut (GNA). Aktivitas fagositosis mempunyai hasil samping radikal bebas berupa *Reactive Oxygen Species* (ROS). Adanya ROS yang meningkat akan menyebabkan

reaksi antar molekul yang semakin reaktif, sehingga akan menyebabkan terjadinya stres oksidatif serta memicu pelepasan sitokin proinflamasi seperti IL-1 $\beta$ . Stres oksidatif akan menyebabkan proses peroksidasi menjadi peroksida lipid sehingga menyebabkan destruksi glomerulus dan hasil akhirnya terjadi GNA. Hipertensi dapat terjadi akibat ekspansi volume cairan ekstrasel (ECF) atau akibat vasospasme dan jika terdapat kerusakan jaringan ginjal, maka tekanan darah akan tetap tinggi selama beberapa minggu dan menjadi permanen bila keadaan penyakitnya menjadi kronis.

Kandungan anthosianin pada buah blueberry bertindak sebagai antioksidan yang dapat menghambat proses inflamasi, dan kemampuan untuk menghambat proinflamasi sitokin seperti IL - 1 beta, IL - 2, IL - 3, IL - 6, IFN -  $\gamma$ , dan TNF -  $\alpha$ . Mekanisme antiinflamasi yaitu dengan penghambatan perubahan *arachidonic acid* menjadi prostaglandin (PG)E<sub>2</sub> melalui sintesis enzim cyclooxygenase (COX) dan juga menekan pembentukan kompleks antigen-antibodi yang terjadi di glomerulus sehingga dapat menekan aktivasi komplemen dan pelepasan sitokin. Penghambatan pelepasan sitokin tersebut membuat infiltrasi sel radang pada sehingga respon inflamasi yang berkurang membuat sel dapat kembali berfungsi. Anthosianin tersebut juga dapat menghambat mekanisme pembentukan radikal bebas (ROS) dengan bertindak sebagai antioksidan langsung yaitu menyumbang elektron ke ROS sehingga menghambat terjadinya stres oksidatif yang dapat menurunkan kerusakan

sel glomerulus sehingga dapat menekan pelepasan sitokin proinflamasi seperti IL-1 $\beta$ . Selain itu, antosianin juga dapat menjadi anti hipertensi dengan mekanisme menghambat enzim yang akan merubah angiotensin I menjadi angiotensin II yang menyebabkan penyempitan pembuluh darah yang akan meningkatkan aliran darah dan laju filtrasi ginjal yang berlebihan

### 3.2 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) dapat memberikan efek terapi pada kasus Glomerulonefritis Akut (GNA) yang diinduksi streptokinase, ditandai dengan penurunan kadar interleukin 1 beta (IL 1 $\beta$ ) dan penurunan jumlah sel radang dalam ginjal.



## BAB 4 METODE PENELITIAN

### 4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei sampai dengan Oktober 2018 dan dilakukan di beberapa laboratorium yaitu:

1. Pemeliharaan hewan coba dan pemberian perlakuan hewan coba dilakukan di Laboratorium Hewan Coba Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
2. Preparasi Streptokinase 6000 IU dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang.
3. Pembuatan ekstrak blueberry dilakukan di Laboratorium Balai Materia Medica Batu Malang.
4. Pengukuran BUN dan Kreatinin pada serum darah dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
5. Pembuatan preparat histopatologi ginjal dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
6. Uji imunohistokimia untuk pengamatan ekspresi IL-1 $\beta$  dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

## 4.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kandang tikus, *dissecting set*, mikroskop, glove, masker, spuit, jarum sonde, pot sampel, *object & cover glass*, *water bath*, *rotary vacuum evaporator*, *Autoanalyzer Biosystem*, oven, tabung falcon, pipet, *microtome*, dan mikroskop.

Bahan yang dipersiapkan dalam penelitian ini antara lain tikus (*Rattus novergicus*) jantan dengan berat rata-rata 150-250 gram, pakan, sekam, air minum, buah blueberry, Streptokinase, Aqua Pro Injection, Urease, Asam Pikrat, PBS, Formalin 10%, Xylol I, Xylol II, alkohol bertingkat (100%, 90%, 80%, 70%), Parafin cair, Hematoxylin Eosin, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Anti rat IL-1 $\beta$ , Anti Rabbit IgG biotin labeled, larutan DAB, SA-HRP, dan entellan.

## 4.3 Tahapan Penelitian

### 4.3.1 Penetapan Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus (*Rattus novergicus*) jantan strain wistar dengan umur 6-8 minggu. Berat badan tikus rata-rata 150-250 gram. Penentuan jumlah sampel dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan rumus  $P(n-1) \geq 15$  dimana (P) adalah banyak perlakuan dan (n) adalah banyaknya ulangan (Kusriningrum, 2008). Perhitungan banyaknya ulangan adalah seperti berikut:

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

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

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Penelitian ini menggunakan hewan coba berupa tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar sebanyak 20 ekor yang dikandangan berkelompok, setiap kandang berisi 4 ekor tikus.

#### 4.3.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental control design only menggunakan model Rancangan Acak Lengkap (RAL). Metode control design only yaitu dilakukan uji parameter (Ekspresi IL-1 $\beta$  dan jumlah sel radang) setelah diberi perlakuan. Menurut Kusrieningrum (2008) Rancangan Acak Lengkap (RAL) digunakan pada penelitian yang bersifat eksperimental, yaitu pada penelitian sama atau dianggap seragam. Kelompok hewan coba dalam penelitian ini dibagi menjadi lima kelompok perlakuan sebagai berikut:

**Tabel 4.1** Rancangan Penelitian

Kelompok	Induksi Streptokinase	Ekstrak Etanol Blueberry	Keterangan
KN	-	-	Kontrol negatif, tanpa induksi streptokinase, dan tanpa terapi
KP	6000 IU	-	Kontrol positif, induksi streptokinase, dan tanpa terapi
P1	6000 IU	500 mg/kg BB	Perlakuan 1, induksi streptokinase, dan terapi ekstrak etanol blueberry dosis I
P2	6000 IU	1000 mg/kg BB	Perlakuan 2, induksi streptokinase, dan terapi ekstrak etanol blueberry dosis II
P3	6000 IU	1500 mg/kg BB	Perlakuan 3, induksi streptokinase, dan terapi ekstrak etanol blueberry dosis III

### 4.3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah

- a. Variabel bebas : dosis terapi ekstrak blueberry (*Vaccinium corymbosum*),
- b. Variabel terikat : jumlah sel radang dan ekspresi IL-1 $\beta$
- c. Variabel kontrol: homogenitas tikus meliputi jenis kelamin, berat badan, umur, pakan, dan kandang serta perlakuan induksi streptokinase

## 4.4 Prosedur Penelitian

### 4.4.1 Persiapan Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus (*Rattus novergicus*) jantan strain wistar dengan umur 6-8 minggu. Berat badan tikus rata-rata 150-250 gram. Sebanyak 20 ekor yang dikandangkan berkelompok, setiap kandang berisi 4 ekor tikus. Kandang tikus diletakan pada tempat yang bebas dari keramaian, terhindar dari polutan, dan ditempatkan pada suhu ruang. Tikus diberikan pakan berupa ransum dan diberi minum ad libitum. Hewan coba diaklimatisasi selama tujuh hari yang bertujuan untuk menyesuaikan dengan kondisi di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Hewan coba dikandangkan pada kandang kotak plastik dan ditutup dengan anyaman kawat. Pada kandang tersebut disediakan tempat pakan, minum dan lantai kandang diberi serbuk kayu agar mudah dibersihkan (Widiartini *et al.*, 2014).

### 4.4.2 Preparasi Streptokinase 6000 IU

Fibrion Streptokinase diperoleh dari Rumah Sakit Islam Aisyah (RSIA) Malang yang berjumlah 1.500.000 IU (500 mg) berbentuk serbuk dalam vial. Dibuat dosis 6.000 IU untuk diberikan hewan coba dengan cara menimbang 32,5 mg sebanyak 3 kali untuk 3 kali induksi. Dilakukan pengenceran pada hari induksi untuk meminimalisir kerusakan streptokinase dengan cara memasukan 32,5

mg streptokinase ke dalam tabung falcon dan ditambahkan larutan pengencer aqua pro injection sebanyak 1,6 mL. Dihomogenkan selama 5-6 menit menggunakan *vortex mixer* kemudian diinjeksikan pada tikus 0,1 mL yang mengandung 6.000 IU. Perhitungan pengenceran dapat dilihat pada **Lampiran 6**

#### 4.4.3 Pembuatan Ekstrak Blueberry

Buah blueberry yang didapatkan dari sebuah toko di Malang dibawa ke Balai Materia Medica Batu untuk dilakukan uji determinasi, fitokimia dan ekstraksi menggunakan metode maserasi. Buah blueberry dikeringkan menggunakan oven 40°C kemudian dihaluskan menggunakan blender. Hasil yang didapat sebanyak 500g buah blueberry yang telah halus direndam dengan pelarut etanol 70% dan dikocok sampai tercampur ( $\pm 30$  menit), diamkan 1 malam sampai mengendap, kemudian disaring dan filtrat ditampung, proses perendaman ini dilakukan sampai 3 kali. Filtrat tersebut diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* hingga larutan etanol berhenti menetes pada labu penampung lalu didapatkan ekstrak kental etanol (Widianingsih, 2016).

#### 4.4.4 Pembuatan Hewan Model Glomerulonefritis Akut pada Tikus

Pembuatan hewan model glomerulonefritis akut dilakukan dengan cara injeksi streptokinase 6000 IU/ekor diberikan melalui vena coccygea. Induksi streptokinase diberikan pada kelompok perlakuan kontrol positif, kelompok perlakuan I, kelompok perlakuan

II, dan kelompok perlakuan III, sedangkan kelompok perlakuan negative tidak diinduksi streptokinase. Injeksi streptokinase pada 16 ekor tikus tersebut dilakukan dengan interval lima hari yaitu pada hari pertama, hari keenam, dan hari kesebelas.

#### 4.4.5 Pengukuran Kadar BUN dan Kreatinin Serum Darah

Pengukuran kadar BUN dan Kreatinin dalam serum darah dilakukan setelah induksi streptokinase yang terakhir dan setelah terapi terakhir yang bertujuan untuk menentukan status GNA. Sampel yang digunakan merupakan serum yang dikoleksi dari masing masing kelompok perlakuan. Pengukuran kadar BUN dilakukan dengan metode *urease-salicylate* menggunakan alat *Autoanalyzer Biosystem* yang mempunyai prinsip kerja yaitu urea dalam sampel akan bereaksi dengan urease dan *salicylate* terukur secara otomatis dengan spektrofotometer (Biosystem, 2014). Pengukuran kadar kreatinin dilakukan dengan alat *Autoanalyzer Biosystem* dengan metode Jaffe yang prinsip kerjanya yaitu reaksi antar kreatinin dengan asam pikrat dalam suasana basa, membentuk kompleks kreatinin pikrat berwarna jingga (Haribi *et al.*, 2009).

#### 4.4.6 Terapi Ekstrak Etanol Blueberry

Terapi ekstrak etanol blueberry diberikan pada kelompok perlakuan I, perlakuan II, dan perlakuan III dengan dosis ekstrak etanol blueberry yaitu 500, 1000, dan 1500 mg/kg BB. Dosis bertingkat ini mengacu pada penelitian sebelumnya yang dilakukan



oleh Jha and Paul (2017). Perhitungan dosis dapat dilihat pada **Lampiran 7** Pemberian terapi ekstrak etanol blueberry dilakukan setelah induksi streptokinase terakhir yaitu pada hari ke- 16 dengan pemberian satu kali sehari selama 14 hari. Pemberian terapi ekstrak etanol Blueberry dilakukan dengan cara sonde peroral menggunakan spuit dengan jarum sonde ujung tumpul yang dimasukkan kedalam lambung.

#### **4.4.7 Euthanasia dan Pengambilan Spesimen Organ Ginjal**

Proses *euthanasia* dan pengambilan jaringan ginjal pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) dilakukan pada hari ke-30 setelah perlakuan. Tikus dimatikan dengan cara dislokasi leher dan diletakan diatas papan bedah secara rebah dorsal. Pembedahan dilakukan pada bagian abdomen dilanjutkan dengan pengambilan organ ginjal. Sampel ginjal yang diperoleh dicuci dengan PBS bertujuan untuk menghilangkan darah. Setelah organ diambil kemudian dilakukan insisi secara melintang lalu disimpan pada pot organ yang telah diisi formalin 10% (Sofia *et al.*, 2013).

#### **4.4.8 Pembuatan Preparat Histopatologi Ginjal**

Organ ginjal difiksasi menggunakan formalin 10%, kemudian didehidrasi menggunakan alkohol bertingkat dari konsentrasi 70% selama 24 jam, etanol 80% selama 2 jam, etanol 90%, 95%, dan etanol absolut selama 20 menit. Selanjutnya dilakukan penjernihan dengan cara merendam jaringan dalam larutan Xylol I selama 20

menit dan Xylol II selama 30 menit. Infiltrasi dan embedding dengan menggunakan parafin cair pada inkubator bersuhu 58°C – 60°C. Trimming dilakukan dengan cara menjepit cetakan dalam mikrotom dan jaringan dipotong dengan ketebalan 5 µm. Sediaan disimpan dalam inkubator suhu 38°C – 40°C selama 24 jam untuk selanjutnya diwarnai dengan pewarna Haematoxylin dan Eosin (Ahada, 2018).

#### 4.4.9 Perhitungan Jumlah Sel Radang

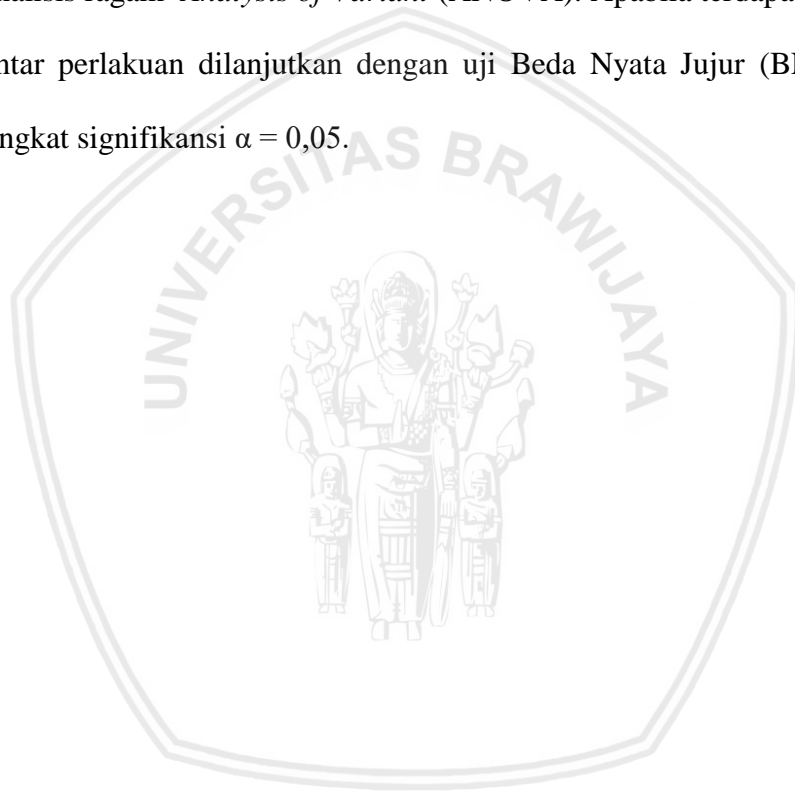
Perhitungan jumlah sel radang dilakukan pada preparat histopatologi yang dibuat sebelumnya, dengan pengamatan dilakukan pada lapisan korteks ginjal yang terdapat nefron. Preparat ginjal diwarnai dengan pewarnaan HE, dan menghitung sel radang mononuklear (MN) dan polimorfonuklear (PMN). Sel MN terdiri dari limfosit memiliki 1 inti besar dengan sitoplasma yang sedikit dan makrofag memiliki 1 inti besar dan marginasi tidak merata pada makrofag yang mature. Sel PMN merupakan leukosit granular yang memiliki nukleus dengan 3-5 lobus yang dihubungkan dengan benang kromatin dan sitoplasma yang mengandung granula yang sangat halus berwarna ungu sedangkan sitoplasma berwarna merah muda (Vykoukal *et al.*, 2009). Pengamatan histologi mengacu pada Ysebaert *et al* (2000) dengan modifikasi yaitu menghitung sel radang pada 5 lapang pandang 0,18 mm x 0,25 mm yang hasilnya akan dihitung sebagai sel/ mm<sup>2</sup>.

#### 4.4.10 Pengamatan Ekspresi IL-1 $\beta$ Imunohistokimia

Pengamatan ekspresi IL-1 $\beta$  dengan menggunakan metode imunohistokimia indirect. Preparat jaringan ginjal dimasukan secara berurutan pada Xylol I, Xylol II, alkohol bertingkat (100%, 90%, 80%, 70%), kemudian dicuci dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali. Ditetesi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% selama 20 menit, dicuci dengan PBS selama 5 menit sebanyak 3 kali. Direndam dalam 5% BSA, dalam PBS selama 30 menit dan dicuci dalam PBS selama 5 menit sebanyak 3 kali. Preparat direaksikan dengan antibodi primer (Anti rat IL-1 $\beta$ ) selama 24 jam dengan suhu 4°C, dilakukan pencucian dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali. Direaksikan dengan antibodi sekunder berlabel biotin (Anti Rabbit IgG biotin labeled) selama 1 jam suhu ruang. Dicuci dengan PBS selama 5 menit sebanyak 3 kali. Ditambahkan SA-HRP selama 40 menit, dicuci dengan PBS selama 5 menit sebanyak 3 kali. Ditetesi larutan DAB+substrate, diinkubasi selama 10 menit lalu dicuci dengan PBS selama 5 menit sebanyak 3 kali. *Counterstaining* dilakukan dengan *Hematoxylen* selama 5 menit pada suhu ruang, dicuci dengan air, dikeringkan dan dilakukan *mounting* dengan entellan. Pengamatan dilakukan dengan pemetretan pada 5 lapang pandang dengan perbesaran 400x, preparat yang terwarnai coklat akan dihitung persentase (%) area ekspresi menggunakan program *Imunoratio* (Sayuti, 2015).

#### 4.5 Analisis Data

Analisa data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan analisa kuantitatif untuk ekspresi IL-1 $\beta$  dan jumlah sel radang. Data statistika dianalisis menggunakan *SPSS for Windows* dengan analisis ragam *Analysis of Variant* (ANOVA). Apabila terdapat perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan tingkat signifikansi  $\alpha = 0,05$ .



## BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1. Hewan Model Glomerulonefritis Akut Hasil Induksi Streptokinase

Pada penelitian glomerulonefritis akut hasil induksi streptokinase ini menggunakan dosis pemberian 6000 IU. Pada penelitian Handayani (2018), pemberian streptokinase dosis 6000 IU dapat meningkatkan kadar BUN dan kreatinin sebagai akibat dari penurunan laju filtrasi glomerulus sehingga menyebabkan glomerulonefritis akut. Gejala klinis yang tampak dari kelompok tikus yang diinduksi streptokinase pada penelitian ini adalah hewan lemah dan rambut kusam. Menurut Lumbanbatu (2003) lebih dari 50 % kasus GNAPS adalah asimtomatik. Gejala klinis seperti hematuria dan variasi lain yang tidak spesifik bisa dijumpai seperti demam, nyeri, nafsu makan menurun, hipertensi atau lesu. Penetapan diagnosa tikus glomerulonefritis akut (GNA) tidak dapat dilakukan secara patognomonis tetapi dapat dilakukan pemeriksaan pendukung seperti pemeriksaan laboratorium (Brown, 2013). Salah satunya dengan pemeriksaan kadar BUN dan kreatinin serum untuk mengetahui apakah ada gangguan fungsi ginjal. Berikut ini adalah hasil pemeriksaan BUN dan kreatinin serum pasca induksi streptokinase **Tabel 5.1**.

**Tabel 5.1** Nilai Kadar Rata-rata BUN dan Kreatinin Serum Tikus

Nilai Rata-rata	Kelompok Negatif (mg/dL)	Kelompok Positif (mg/dL)	Peningkatan terhadap kontrol negatif (%)
BUN	16,15	17,28	6,99
Kreatinin	0,7	0,73	4,28

Berdasarkan nilai rata-rata diatas, terjadi Peningkatan nilai persentase rataaan BUN 6,99 % dan kreatinin sebesar 4,28% pada kelompok positif dibandingkan kelompok kontrol. Namun peningkatan BUN dan kreatinin masih dalam batas normal karena kadar ureum normal pada tikus adalah 12,3 - 24,6 mg/dl dan kadar kreatinin normal pada tikus yaitu 0,2 - 0,8 mg/dl (Clifford, 2008). Ureum merupakan produk akhir katabolisme protein dan asam amino yang diproduksi oleh hati sedangkan kreatinin merupakan produk akhir dari metabolisme otot didalam hati dan ginjal, kemudian difiltrasi oleh glomerulus dan disekresikan serta direabsorpsi melalui tubulus, dan akan dieleminasi dalam urin (Guyton and Hall, 2006). Adanya peningkatan kadar BUN umumnya menunjukkan adanya penurunan pada fungsi ginjal. Beberapa kondisi yang dapat menyebabkan meningkatnya kadar BUN dan kreatinin yaitu dehidrasi, infeksi ginjal, gagal ginjal dan penyakit pada ginjal seperti glomerulonefritis (Vatlearn, 2011).

Kondisi glomerulonefritis akut juga dapat diketahui berdasarkan gambaran histopatologi ginjal pada kelompok tikus kontrol positif terlihat gambaran histopatologi tampak abnormal ditandai dengan hipertrofi glomerulus yang ditandai dengan penyempitan ruang bowman, tampak adanya edema interstitialis disertai hemoragi, sesuai dengan pendapat Bijol (2011), bahwa perubahan yang khas pada glomerulonefritis adalah pembengkakan sel epitel dalam glomerulus sehingga menyebabkan pembesaran glomerulus dan penyempitan ruang Bowman. Streptokinase yang diinduksi akan memecah plasminogen menjadi plasmin, yang kemudian akan mengaktifasi reaksi

kaskade komplemen seperti C3a dan C5a. Aktivasi komplemen ini akan menarik sel-sel neutrofil dan monosit, dan kemudian antigen akan di fagositosis. Reaksi selanjutnya, yaitu pelepasan radikal bebas, menginduksi enzim matrix metalloproteinase (MMP) dalam jumlah besar pada glomerulus, juga melepaskan sitokin yang akan menyebabkan agregasi dari trombosit yang akan membentuk mikrotrombi dan melepaskan amin vasoaktif. Pelepasan vasoaktif oleh sel mast dan trombosit akan menimbulkan peningkatan permeabilitas vaskular, atau inflamasi, sehingga terjadi kerusakan pada glomerulus (Anshar, 2015).

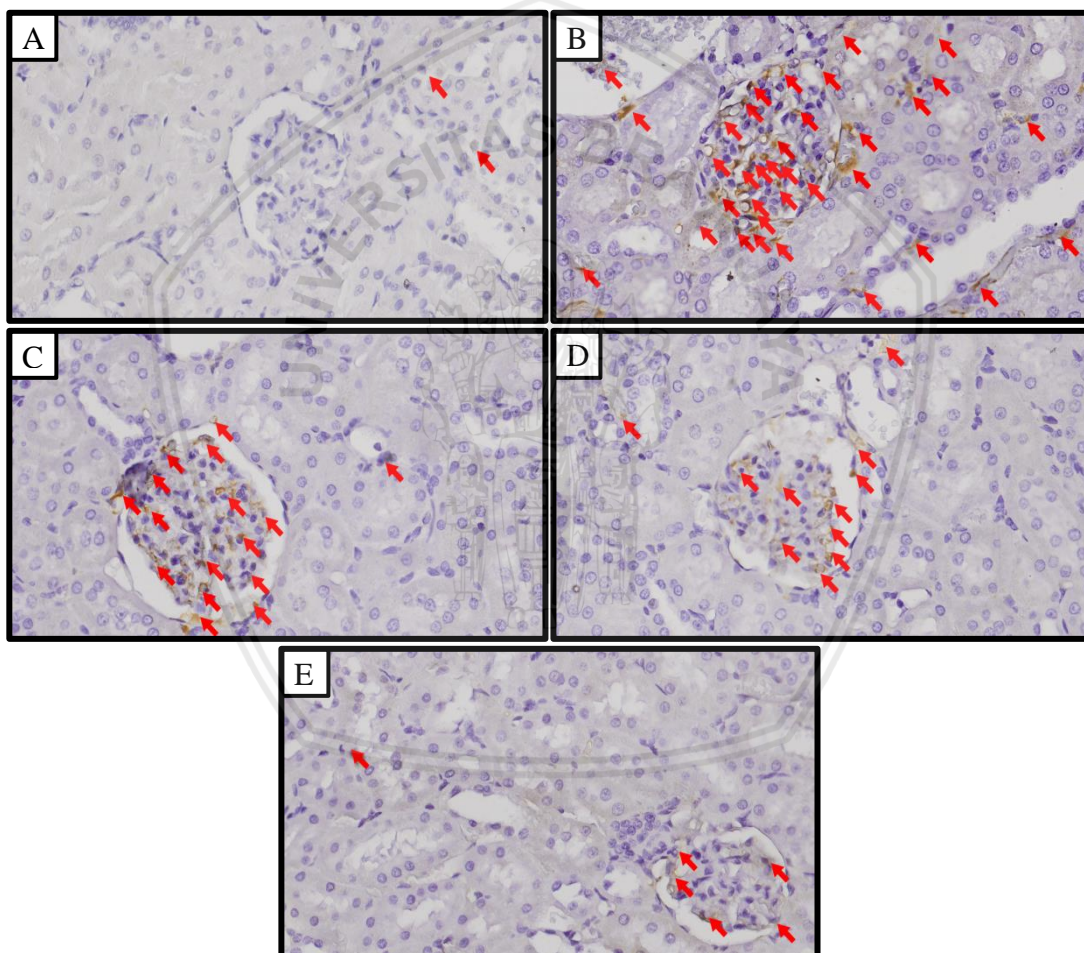
## **5.2. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) Terhadap Ekspresi Interleukin 1 Beta pada Ginjal Tikus Induksi Streptokinase**

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol blueberry (*Vaccinium corymbosum*) terhadap ekspresi IL-1 $\beta$  pada histopat ginjal tikus putih (*Rattus novogicus*) model glomerulonephritis akut induksi streptokinase. Pengukuran ekspresi IL-1 $\beta$  diamati berdasarkan reaksi antigen dan antibodi menggunakan metode immunohistokimia. Ekspresi IL-1 $\beta$  merupakan hasil interaksi antara IL-1 $\beta$  pada jaringan dengan antibodi yang ditambahkan antibodi primer rabbit anti rat IL-1 $\beta$  dan antibodi sekunder, sehingga terbentuk ikatan kompleks antigen-antibodi yang dikenali SA-HRP yang akan terwarnai dengan substrat kromagen DAB sehingga tervisualisasi warna kecokelatan pada preparat. Preparat yang terwarnai coklat akan dihitung persentase (%) area ekspresi menggunakan program *Imunoratio* (Sayuti, 2015). Ekspresi IL-1 $\beta$  pada masing masing kelompok perlakuan



menunjukkan adanya perbedaan yang ditandai dengan perbedaan persentase warna coklat pada area ekspresi yang terbentuk. Hasil penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak etanol blueberry (*Vaccinium corymbosum*) terhadap ekspresi IL-1 $\beta$  pada histopat ginjal tikus putih (*Rattus novogicus*) model glomerulonefritis akut induksi streptokinase dapat dilihat pada

**Gambar 5.1**



**Gambar 5.1** Ekspresi *Interleukin 1 $\beta$*  (IL-1 $\beta$ ) pada ginjal tikus model glomerulonefritis induksi streptokinase (Imunohistokimia: perbesaran 400x)

Keterangan: A= Kelompok kontrol negatif (KN); B= Kelompok kontrol positif (KP); C= Kelompok terapi ekstrak etanol blueberry dosis 500mg/kgBB (P1); D= Kelompok terapi ekstrak etanol blueberry dosis 1000mg/kgBB (P2); E= Kelompok terapi ekstrak etanol blueberry dosis 1500mg/kgBB (P3); Tanda panah merah (  $\rightarrow$  ) menunjukkan ekspresi IL-1 $\beta$  dengan warna coklat pada sel.

Gambaran preparat histopatologi pewarnaan imunohistokimia (IHK) IL-1 $\beta$  dari kelima kelompok perlakuan menunjukkan adanya perbedaan persentase warna coklat (**Gambar 5.1**). Pada kelompok kontrol negatif (tanpa perlakuan), IL-1 $\beta$  muncul dalam jumlah yang lebih sedikit (**Gambar 5.1.A**) dibandingkan kelompok kontrol positif (**Gambar 5.1.B**) maupun kelompok yang diberi perlakuan (**Gambar 5.1. C, D, dan E**) yang lebih banyak terekspresi IL-1 $\beta$  yang teramati warna kecokelatan yang mengindikasikan inflamasi. Hal ini disebabkan karena pada kelompok kontrol negatif dalam keadaan normal (tidak mengalami kerusakan jaringan) sehingga ekspresi IL-1 $\beta$  rendah. Pada kelompok positif dan kelompok perlakuan diinduksi streptokinase menyebabkan kerusakan jaringan ginjal sehingga mempengaruhi reaksi imun dan memberikan respon inflamasi, kemudian mengaktifkan sitokin pro inflamasi IL-1 $\beta$  pada area tersebut dalam mendukung proses penyembuhan luka. Semakin banyaknya ekspresi IL-1 $\beta$  menandakan jika proses inflamasi sedang berlangsung, dan menurunnya ekspresi IL-1 $\beta$  menandakan proses inflamasi akan berakhir.

Perhitungan ekspresi IL-1 $\beta$  dilakukan dengan menghitung persentase area ekspresi menggunakan program *Imunoratio*. Data yang didapat kemudian dianalisis secara statistika menggunakan *software IBM SPSS Statistic 22* dengan *one way ANOVA* dan dilanjutkan uji lanjutan Tukey dengan  $\alpha=0,05$ . Hasil uji statistik terdapat pada **Lampiran 9** dan diperoleh jumlah rata rata ekspresi IL-1 $\beta$  pada **Tabel 5.2**

**Tabel 5.2** Rata rata presentase ekspresi IL-1 $\beta$  pada ginjal tikus

Kelompok	Ekspresi IL-1 $\beta$ (% area)	Penurunan (%)
	Mean $\pm$ SD	
Kontrol Negatif	0,52 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>	-
Kontrol Positif	12,12 $\pm$ 0,37 <sup>e</sup>	-
Terapi 1 (500 mg/kg BB)	8,18 $\pm$ 0,51 <sup>d</sup>	32,50
Terapi 2 (1000 mg/kg BB)	6,00 $\pm$ 0,16 <sup>c</sup>	50,49
Terapi 3 (1500 mg/kg BB)	3,42 $\pm$ 0,26 <sup>b</sup>	71,78

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata antar perlakuan ( $p < 0,05$ ). Penurunan ekspresi IL-1 $\beta$  berdasarkan pada kelompok positif.

Analisis uji *one way ANOVA* dan *Tukey* menunjukkan bahwa ekstrak etanol blueberry (*Vaccinium corymbosum*) mampu menurunkan rata rata ekspresi IL-1 $\beta$  secara signifikan ( $p < 0,05$ ). Rata-rata ekspresi IL-1 $\beta$  pada ginjal kelompok negatif sebesar 0.52  $\pm$  0.11%. IL-1 $\beta$  akan tetap terekspresi dalam jumlah yang rendah meskipun tidak terjadi respon imunologis, dikarenakan sitokin berperan dalam aktifitas diferensiasi, proliferasi, dan kelangsungan sel imun termasuk regulasi produksi aktifitas sitokin lain. Sitokin juga berperan untuk maturasi dan program kematian sel (Tahir, 2013).

Rata rata ekspresi IL-1 $\beta$  kelompok positif (KP) sebesar 12.12  $\pm$  0.37 yang menunjukkan nilai presentase rata rata tertinggi dari seluruh kelompok. Berdasarkan hasil uji *Tukey*, kelompok kontrol positif (KP) memiliki perbedaan nyata terhadap kelompok kontrol negatif (KN). Tingginya ekspresi IL-1 $\beta$  pada kelompok positif diakibatkan adanya inflamasi jaringan pasca induksi streptokinase dan tidak diberi terapi apapun untuk meredakan inflamasi. Streptokinase mengubah plasminogen menjadi plasmin mengaktivasi reaksi komplemen (C3 dan C5a) yang akan berperan

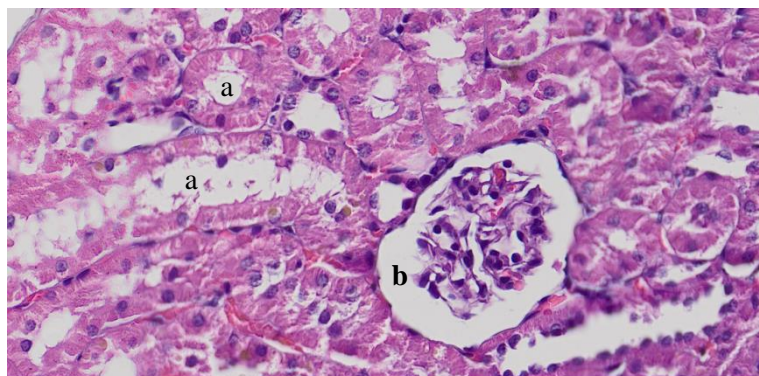
meningkatkan permeabilitas kapiler ginjal dan memicu kenaikan IL-1 $\beta$ . Rusaknya jaringan pada saat inflamasi juga menyebabkan teraktivasi makrofag, terbentuknya ROS yang memicu pelepasan sitokin pro-inflamasi, salah satunya IL-1 $\beta$  (Abbas *et al.*, 2010). Produksi sitokin proinflamasi secara terus menerus dapat mengakibatkan fase inflamasi yang berkepanjangan dan memperpanjang waktu kesembuhan.

Penurunan ekspresi IL-1 $\beta$  pada kelompok perlakuan terapi sebanding dengan peningkatan dosis ekstrak etanol blueberry (*Vaccinium corymbosum*). Rata-rata ekspresi IL-1 $\beta$  pada kelompok perlakuan 1 (dosis 500mg/kgBB) yaitu  $8.18 \pm 0.51\%$  berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan 2 (dosis 1000mg/kgBB) yang memiliki rata-rata lebih rendah yaitu  $6.00 \pm 0.16\%$ . Kelompok perlakuan 3 (dosis 1500mg/kgBB) memiliki rata-rata ekspresi IL-1 $\beta$  yaitu  $3.42 \pm 0.26\%$  lebih rendah dan berbeda signifikan dari kelompok perlakuan 2 (dosis 1000mg/kgBB). Penurunan ekspresi IL-1 $\beta$  disebabkan oleh kandungan anthosianin dari ekstrak etanol blueberry (*Vaccinium corymbosum*) sebagai antiinflamasi yaitu dengan penghambatan perubahan *arachidonic acid* menjadi prostaglandin (PG)E2 melalui sintesis enzim cyclooxygenase (COX) dan juga menekan pembentukan kompleks antigen–antibodi yang terjadi di glomerulus sehingga dapat menekan aktivasi komplemen dan pelepasan sitokin IL-1 $\beta$ . Berdasarkan hasil uji di atas, maka pemberian ekstrak buah blueberry (*Vaccinium corymbosum*) yang terbaik dalam menurunkan ekspresi IL-1 $\beta$  sebagai anti inflamasi adalah ekstrak dengan dosis 1500 mg/kg BB.

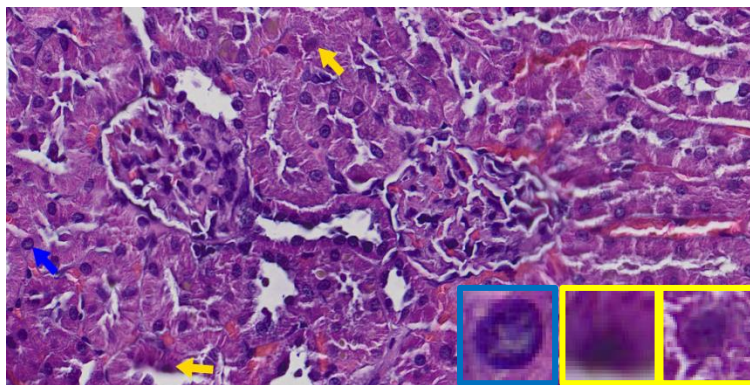


### 5.3. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) Terhadap Jumlah Sel Radang pada Ginjal Tikus Induksi Streptokinase

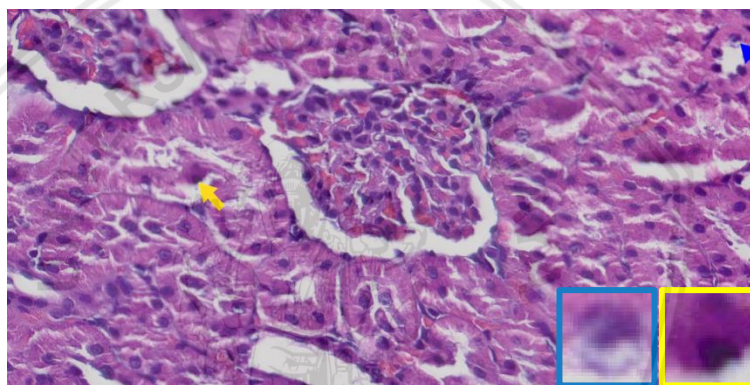
Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol blueberry (*Vaccinium corymbosum*) pada histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus novегicus*) model glomerulonephritis akut induksi streptokinase terhadap adanya sel radang mononuklear (MN) dan polimorfonuklear (PMN). Sel MN terdiri dari limfosit memiliki 1 inti besar dengan sitoplasma yang sedikit dan makrofag memiliki 1 inti besar dan marginasi tidak merata pada makrofag yang mature. Sel PMN merupakan leukosit granular yang memiliki nukleus dengan 3-5 lobus yang dihubungkan dengan benang kromatin dan sitoplasma yang mengandung granula yang sangat halus berwarna ungu sedangkan stoplasma berwarna merah muda (Vykoukal *et al.*, 2009). Berikut merupakan hasil penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak etanol blueberry (*Vaccinium corymbosum*) terhadap jumlah sel radang pada histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus novегicus*) model glomerulonephritis akut induksi streptokinase:



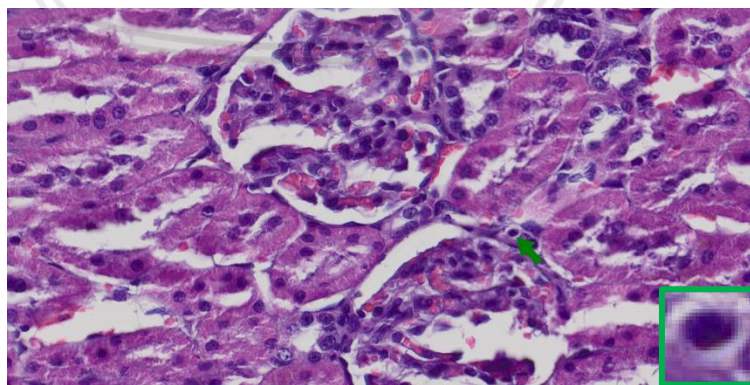
**Gambar 5.2** Histopat ginjal tikus kelompok negatif (KN) terdiri atas (a) tubulus kontortus proximal dan distal yang tersusun atas epitel kuboid simpleks; (b) glomerulus yang dikelilingi oleh kapsula bowman tersusun oleh sel epitel skuamus simpleks (pewarnaan H&E, perbesaran: 10 x40)



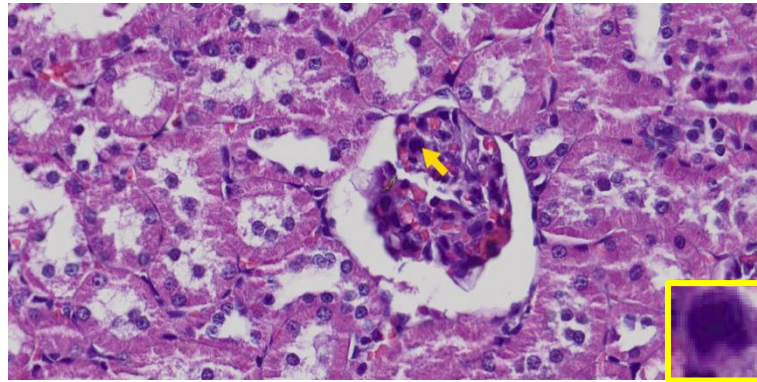
**Gambar 5.3** Histopatologi ginjal tikus kelompok positif (KP). Tanda panah kuning ( → ) menunjukkan sel radang makrofag dan tanda biru ( → ) menunjukkan sel radang neutrofil. Kotak kuning ( □ ) menunjukkan sel radang makrofag dan kotak biru ( □ ) menunjukkan sel radang neutrofil (pewarnaan H&E, perbesaran: 10 x 40 ;10x100).



**Gambar 5.4** Histopatologi ginjal tikus kelompok perlakuan 1 (ekstrak blueberry dosis 500mg/kgBB). Tanda panah kuning ( → ) menunjukkan sel radang makrofag dan tanda panah biru ( → ) menunjukkan sel radang neutrofil. Kotak kuning ( □ ) menunjukkan sel radang makrofag dan kotak biru ( □ ) menunjukkan sel radang neutrofil (pewarnaan H&E, perbesaran: 10 x 40 ;10x100).



**Gambar 5.5** Histopatologi ginjal tikus kelompok perlakuan 2 (ekstrak blueberry dosis 1000mg/kgBB). Tanda panah hijau ( → ) menunjukkan sel radang limfosit. Kotak hijau ( □ ) menunjukkan sel radang limfosit (pewarnaan H&E, perbesaran: 10 x 40 ;10x100).



**Gambar 5.6** Histopatologi ginjal tikus kelompok perlakuan 3 (ekstrak blueberry dosis 1500mg/kgBB). Tanda panah kuning ( → ) menunjukkan sel radang makrofag neutrofil. Kotak kuning ( □ ) menunjukkan sel radang makrofag (pewarnaan H&E, perbesaran: 10 x 40 ;10x100)

Gambaran preparat histopatologi pewarnaan HE dari kelima kelompok perlakuan menunjukkan adanya perbedaan jumlah sel radang. Pada kelompok kontrol negatif (tanpa perlakuan), tidak ditemukan adanya sel radang (**Gambar 5.2**). Pada kelompok kontrol positif paling banyak ditemukan adanya sel radang makrofag dan neutrofil (**Gambar 5.3**) dibandingkan kelompok lain. Pada kelompok perlakuan 1 ditemukan adanya sel radang makrofag dan neutrofil (**Gambar 5.4**). Pada kelompok perlakuan 2 ditemukan adanya sel radang limfosit (**Gambar 5.5**). Pada kelompok perlakuan 3 hanya ditemukan adanya sel radang makrofag (**Gambar 5.6**). Pelepasan sitokin proinflamasi akibat aktivasi komplemen pada penyakit glomerulonefritis biasanya akan menyebabkan proliferasi ringan sampai sedang dari sel mesangial, matriks dan sel radang (Lumenbatu, 2003). Kondisi glomerulonefritis akut juga dapat diketahui berdasarkan gambaran histopatologi ginjal pada kelompok tikus kontrol positif terlihat gambaran histopatologi tampak abnormal ditandai dengan erosi epitel tubulus, hemoragi interstitialis serta hipertrofi glomerulus yang ditandai dengan penyempitan ruang bowman, tampak adanya edema



interstitialis disertai hemoragi, sesuai dengan pendapat Bijol (2011), bahwa perubahan yang khas pada glomerulonefritis adalah bertambahnya sel-sel glomerulus yang disebabkan oleh pembengkakan sel, penambahan sel endotel dan sel epitel dalam glomerulus sehingga menyebabkan pembesaran glomerulus dan penyempitan ruang Bowman.

Data yang didapat kemudian dianalisis secara statistika menggunakan *software IBM SPSS Statistic 22* dengan *one way ANOVA* dan dilanjutkan uji lanjutan Tukey dengan  $\alpha=0,05$ . Hasil uji statistik terdapat pada **Lampiran 10** dan diperoleh jumlah rata rata jumlah sel radang pada preparat histopatologi ginjal tikus perbesaran 400x sebagai berikut:

**Tabel 5.3** Rata-rata jumlah sel radang pada preparat histopatologi ginjal tikus perbesaran 400x

Kelompok	Jumlah Sel Radang	Penurunan (%)
	(sel/mm <sup>2</sup> ) Mean $\pm$ SD	
Kontrol Negatif	2,25 $\pm$ 0,50 <sup>a</sup>	-
Kontrol Positif	7,25 $\pm$ 2,06 <sup>b</sup>	-
Terapi 1 (500 mg/kg BB)	4,25 $\pm$ 0,95 <sup>a</sup>	41,38
Terapi 2 (1000 mg/kg BB)	3,50 $\pm$ 1,29 <sup>a</sup>	51,72
Terapi 3 (1500 mg/kg BB)	3,25 $\pm$ 0,95 <sup>a</sup>	55,17

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata antar perlakuan ( $p<0,05$ ). Penurunan jumlah sel radang berdasarkan pada kelompok positif.

Analisis uji *one way ANOVA* dan *Tukey* menunjukkan bahwa ekstrak etanol blueberry (*Vaccinium corymbosum*) mampu menurunkan rata rata jumlah sel radang secara signifikan ( $p<0,05$ ). Kelompok negatif (KN) memiliki rata-rata jumlah sel radang yaitu 2,25  $\pm$  0,50 sel/mm<sup>2</sup>. Rendahnya jumlah sel radang pada kelompok negatif (KN) disebabkan karena tidak terjadi kerusakan

jaringan sehingga tidak menimbulkan adanya reaksi imunologis. Rata-rata jumlah sel radang pada kelompok positif (KP) yaitu  $7,25 \pm 2,06$  sel/mm<sup>2</sup> merupakan jumlah tertinggi dari seluruh kelompok. Tingginya jumlah sel radang pada kelompok positif (KP) disebabkan oleh adanya aktivasi komplemen akibat streptokinase yang memicu pelepasan sitokin proinflamasi sebagai kemotaktik sel radang akan mengakibatkan infiltrasi sel radang yaitu migrasi dari neutrophil, eosinofil, basofil dan makrofag ke tempat aktivasi komplemen. Rusaknya jaringan pada saat inflamasi juga menyebabkan teraktivasinya makrofag (Abbas *et al.*, 2010).

Penurunan jumlah sel radang pada kelompok perlakuan terapi sebanding dengan peningkatan dosis ekstrak etanol blueberry (*Vaccinium corymbosum*). Kelompok terapi 1,2,3 memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok positif ditandai oleh perbedaan notasi namun memiliki persamaan dengan kelompok negatif yang artinya memiliki efek menyembuhkan. Kelompok perlakuan terapi 1 dosis 500 mg/kg BB memiliki rata-rata jumlah sel radang yaitu  $4,25 \pm 0,95$  sel/ mm<sup>2</sup> dan presentase penurunan terhadap kelompok positif (KP) sebesar 41.38%. Kelompok perlakuan terapi 2 dosis 1000 mg/kg BB memiliki rata-rata jumlah sel radang yaitu  $3,50 \pm 1,29$  sel/ mm<sup>2</sup> dan presentase penurunan terhadap kelompok positif (KP) sebesar 51.72%. Kelompok perlakuan terapi 3 dosis 1500 mg/kg BB memiliki rata-rata jumlah sel radang yaitu  $3,25 \pm 0,95$  sel/ mm<sup>2</sup> dan presentase penurunan terhadap kelompok positif (KP) sebesar 55.17%. Penurunan jumlah sel radang disebabkan oleh kandungan anthosianin dari blueberry (*Vaccinium corymbosum*) sebagai

antiinflamasi yaitu dengan penghambatan perubahan *arachidonic acid* menjadi prostaglandin (PG)E<sub>2</sub> melalui sintesis enzim *cyclooxygenase* (COX) dan juga menekan pembentukan kompleks antigen–antibodi yang terjadi di glomerulus sehingga dapat menekan aktivasi komplemen dan pelepasan sitokin. Penghambatan pelepasan sitokin tersebut membuat infiltrasi sel radang pada sehingga respon inflamasi yang berkurang membuat sel dapat kembali berfungsi. Anthosianin tersebut juga dapat menghambat mekanisme pembentukan radikal bebas (ROS) dengan bertindak sebagai antioksidan langsung yaitu menyumbang elektron ke ROS sehingga menghambat terjadinya stres oksidatif yang dapat menurunkan kerusakan sel glomerulus. Selain itu, antosianin juga dapat menjadi anti hipertensi dengan mekanisme menghambat enzim yang akan merubah angiotensin I menjadi angiotensin II yang menyebabkan penyempitan pembuluh darah yang akan meningkatkan aliran darah dan laju filtrasi ginjal yang berlebihan (Oktaviani, 2018). Namun diantara kelompok perlakuan terapi 1,2,3 tidak ada perbedaan yang signifikan ditandai oleh tidak adanya perbedaan notasi. Berdasarkan presentase penurunan jumlah sel radang terhadap kelompok positif (KP), maka pemberian ekstrak buah blueberry (*Vaccinium corymbosum*) yang terbaik dalam menurunkan ekspresi IL-1 $\beta$  sebagai anti inflamasi adalah ekstrak dengan dosis 1500 mg/kg BB.

## BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Pemberian ekstrak etanol blueberry (*Vaccinium corymbosum*) pada tikus hasil induksi streptokinase dapat menurunkan ekspresi IL-1 $\beta$  dilihat dari imunohistokimia organ ginjal dibandingkan kontrol positif dengan dosis terbaik adalah 1500 mg/kg BB.
2. Pemberian ekstrak etanol blueberry (*Vaccinium corymbosum*) pada tikus hasil induksi streptokinase dapat menurunkan jumlah sel radang dilihat dari histopatologi organ ginjal dibandingkan kontrol positif dengan dosis terbaik adalah 1500 mg/kg BB.

### 6.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan saran yang dapat dilakukan adalah:

Perlu penelitian lebih lanjut untuk menghasilkan data yang lengkap untuk melihat efektifitas dan efek samping dalam penggunaan ekstrak etanol blueberry sebagai terapi penyakit glomerulonefritis akut.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A. K., A. H. Litchman and S. Pillai. 2010. *Cellular and Molecular, Immunology 6th*. W. B. Saunders, Company. Philadelphia
- Adila, Hilda. 2015. Terapi Vitamin E pada Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*) Fibrosis Ginjal Hasil Induksi Streptokinase terhadap Aktivitas Enzim Protease dan Gambaran Histopatologi Glomerulus Ginjal [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.
- Ahada, Atma Hiyal Ulya. 2018. Efek Pemberian Ekstrak Daun Semanggi Air (*Masilea crenata*) Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina Terhadap Kadar SGOT dan SGPT Serta Histopatologi Hepar. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya
- Anshar, Amelia Ramadhani. 2015. Pengaruh Pemberian Jus Buah Alpukat Terhadap Gambaran Kadar Blood Urea Nitrogen (BUN) dan Serum Kreatinin pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Meloxicam Dosis Toksik [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Hasannudin.
- Barrett, K.E., Barman, S.M., Scott, B. 2012. *Ganong's Review of Medical Physiology*. New York: McGraw Hill, pp. 674-680.
- Behrman, A.K. 2000. *Ilmu Kesehatan Anak*. Jakarta : EGC.
- Bhimma, R. 2015. Acute Post Streptococcal Glomerulonephritis. <http://www.emedicine.medscape.com>. [Diakses pada Tanggal 31 December 2018].
- Biosystem. 2014. Urea/BUN-UV; Urease/Glutamate Dehydrogenase. Automated Systems. Biosystems. Costa Brava. Barcelona
- Bratawijaya, K.G. 2000. *Imunologi Dasar*. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

- Bredo R.M. 2011. Anatomy of the Liver In Wistar Rat (*Rattus norvegicus*). *International Journal of Morphology* . Hal 77
- Brown, S.C. 2013. Glomerular Disease in Small Animals; Noninfectious Diseases of the Urinary System in Small Animals. *Review: Merck Veterinary Manual*
- Bijol, V. 2011. *Postinfectious Glomerulonephritis Accute Diffuse Proliferative*. [http://www.renaldigest.com/egi-bin/nephrology/preview?ADD=0&LESION\\_ID=1&POST=toC](http://www.renaldigest.com/egi-bin/nephrology/preview?ADD=0&LESION_ID=1&POST=toC). [10 Desember 2018].
- Clifford. C. B. 2008. Clinical Laboratory Parameters for Crl:WI(Han). Charles rivers, USA.
- Eurell, Jo Ann. 2008. *Delmann's Textbook of Veterinary Histology 6<sup>th</sup> Edition*. Blackwells Publishing, London. 212-214.
- Firestein, G.S. 2012. Mechanisms of Inflammation and Tissue Repair. *Journal Goldman's Cecil Medicine* 1 (24): 230-235
- Geetha, D. 2005. Poststreptococcal Glomerulonephritis. <http://emedicine.medscape.com/artikel/240337-overview#a5>. [Diakses Pada Tanggal 31 Desember 2018]
- Guyton A.C and Hall J.E. 2007. Ginjal dan Cairan Tubuh. Dalam: Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi XI. Jakarta: EGC, pp 307-9.
- Hancock, J.F. 2012. *Blueberries: Volume 21 of Crop Production Science In Horticulture (1st ed.)*. Cambridge: Centre for Agriculture and Bioscience International (CABI). pp. 2 & 39-42.
- Handayani, A.P. 2018. Efek Terapi Ekstrak Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon Stamineus* B.) Terhadap Glomerulonefritis Akut Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Hasil Induksi Streptokinase Berdasarkan Kadar Superoxide Dismutase (Sod) Dan Creatinine Clearance (Ccr)[Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya



- Haribi,R., S., Darmawati, T., dan Hartiti. 2009. *Kelainan Fungsi Hati dan Ginjal Tikus Putih (Rattus novergicus) Akibat Suplementasi Tawas dalam Pakan*. Jurnal Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang 2 (2): 11-19
- Hidayah, S.N. 2013. Studi Penggunaan Obat pada Kasus Glomerulonefritis Akut Anak di Instalasi Rawat Inap Anak RSUD Dr. Soetomo Surabaya [Skripsi]. Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga.
- Hilmanto, D. 2007. Pandangan Baru Pengobatan Glomerulonefritis. *Sari Pediatri*, 9(1).
- Hu, Meng-Han. 2016. Classification And Characterization Of Blueberry Mechanical Damage With Time Evolution Using Reflectance, Transmittance And Interactance Imaging Spectroscopy. *Journal Computers and Electronics in Agriculture* Vol 122 : 19-28
- Jha, A., and S. Paul. 2017. Evaluation of Anti Imflammatory Effect of Blueberry (*Vaccinium*) Fruit Extract in Wistar Rats: An Experimental Study. *Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, 3(11): 156-159.
- Khasanah, U. 2013. Nyeri Akut Pada Glomerulonefritis Akut (GNA) Di Ruang Kanthil RSUD Banyumas. [Thesis], Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
- Kumar, M dan F. Abbas. 2006. *Dasar Patologi Penyakit*. Edisi-7. Jakarta: ECG.
- Kusriningrum. 2008. *Rancangan Percobaan*. Airlangga University Press. Surabaya. Hal 21
- Lumbanbatu, S. M. 2003. Glomerulonefritis Akut Pasca Streptokokus pada Anak. *Sari Pediatri*, Vol.5, No.2, September 2003:58-63
- Mentari, D.U. 2016. Efek Terapi Ekstrak Etanol Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) pada Mencit (*Mus musculus*) Model Glomerulonefritis Akut Hipersensitif Tipe III Terhadap Creatinine Clearance (Ccr) dan



Histopatologi Glomerulus [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.

Mescher, A.L. 2016. *Junqueira's Basic Histology, Text and Atlas, 14th Edition*. New York: McGraw-Hill Education.

Michalska, A. 2015. Bioactive Compounds of Blueberries: Post-Harvest Factors Influencing the Nutritional Value of Products. *International Journal of Molecular Science* 16 (8): 18642–18663

Murray R. K., Granner D.K., Rodwell V.W., 2009. *Biokimia Harper*. Edisi 27. Penerbit Buku Kedokteran, EGC. Jakarta.

Musyahida, Robiatul Ainiyah. 2016. Studi Penggunaan Terapi Furosemid pada Pasien Gagal Ginjal Kronik Stadium V [Skripsi]. Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga

Nurjannah, S. 2016. Pengaruh Terapi Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana*) Terhadap Ekspresi iNOS dan Gambaran Histopatologi Glomerulus Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Glomerulonefritis Hasil Induksi Streptokinase [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya

Oktaviani, Trie. 2018. Review: Aktivitas Farmakologi Ekstrak Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Jurnal Farmaka Suplemen* Volume 16 Nomor 1. Jatinangor.

Pardede, S.O. 2009. Struktur Sel Streptokokus dan Patogenesis Glomerulonefritis Akut Pascastreptokokus. *Sari Pediatri*. Vol. 11, No. 1.

Rahmadi, D. 2010. *Diagnosis dan Penatalaksanaan Glomerulonefritis Akut*. Fakultas Kedokteran. Universitas Padjajaran

Safitri, Debby Endayani. Stabilitas Antosianin Dan Aktivitas Antioksidan Pada Minuman Sari Buah Duwet (*Syzygium cumini*). [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor

- Sayuti, K. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press
- Sekarwana HN. 2001. Rekomendasi Mutahir Tatalaksana Glomerulonefritis Akut Pascastreptokokus. Dalam: Aditiawati, Bahrin D, Herman E, Prambudi R. Buku Naskah Lengkap Simposium Nefrologi VIII dan Simposium Kardiologi V. Ikatan Dokter Anak Indonesia Palembang, 2001:141-62
- Sharma, T. K., R. Singh, and V. K. Yadav. 2015. Toxic Effect of Titanium (Tio<sub>2</sub>) on Wistar Rat (*Rattus novergicus*) Injected by Intravenously. *Journal of Materials Science & Nanotechnology*, 3(1): 1-7.
- Sirois M. 2005. *Laboratory Animal Medicine : Principles and Procedures*. United States of America: Mosby Inc.
- Sofia, V., Aulanni'am dan C. Mahdi. 2013. Studi Pemberian Ekstrak Rumput Laut Coklat Terhadap Kadar MDA dan Gambaran Histopatologi Jaringan Ginjal pada Tikus Diabetes Mellitus Tipe 1. *Kimia Students Journal* 1 (1): 119-125
- Subowo, 2009. *Imunobiologi*. Edisi 2. Sagung Seto, Jakarta.
- Tahir, Z. 2013. Pengaruh Analgesia Multimodal Epidural Bupivakain 0,125% Dan Parecoxib 40Mg Intravena Terhadap Ratio Kadar Antara Interleukin-6 Dengan Interleukin-1 Dan Intensitas Nyeri Pada Pembedahan Laparotomi Ginekologi [Thesis]. Program Pascasarjana Program Biomedik. Universitas Hasanuddin. Makasar
- Tortora, Gerard J. 2014. *Principles of Anatomy and Physiology* 14<sup>th</sup> Edition. John Wiley & Sons Inc, United States of America.
- Vatlearn. 2011. Test and Procedures: BUN and Creatine Levels. Vetstreet. 1-2
- Vinen C.S. and Oliveira, D.B.G. 2003. Acute Glomerulonefritis. *Postgrad Medicine Journal*, 79:206-213

- Vykoukal, D. M., R. C. Peter., J. Vykoukal. 2009. Dielectric Characterization of Complete Mononuclear and Polymorphonuclear Blood Cell Subpopulations For label Free Discrimination. *J.Integr. Biol.* 1 : 477-484
- Widianingsih, Mastuti. 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Naga Merah (*Hylocerus polyrhizus*) Hasil Maserasi dan Dipekatkan dengan Kering Angin. *Jurnal Wiyata* (3): 146-151
- Widiartini,W., Siswati, A., Setiyawati, I.M., Prasetyo, E. 2014. Pengembangan Usaha Produksi Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Tersertifikasi dalam Upaya Memenuhi Kebutuhan Hewan Laboratorium. *Dikti*:1-8
- Youhua, L. 2008. Novel Action of Tissue-Type Plasminogen Activatir in Chronic Kidney disease. *Journal Frontilers in Biosciens*, 13:5174-5186.
- Ysebaert, Dirk., De Greef, Kathleen., Vercauteren, Sven., Ghielli, Manuela., Eyskens, Erik. 2000. Identification and Kinetics of Leukocytes After Severe Ischaemia/ Reperfusion Renal Injury. *Nephrology Dialysis Transplantaion Journal* 15: 1562-1574

LAMPIRAN

Lampiran 1. Laik Etik



**KOMISI ETIK PENELITIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
"ETHICAL CLEARANCE"**

No: 1025-KEP-UB

KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG  
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:

PENELITIAN BERJUDUL : PENGARUH TERAPI EKSTRAK BLUEBERRY  
(*Vaccinium corymbosum*) TERHADAP EKSPRESI TNF- $\alpha$   
GINJAL DAN PROFIL PROTEIN HEPAR PADA  
HEWAN MODEL GLOMERULONEFRITIS HASIL  
INDUKSI STREPTOKINASE

PENELITI : SARI MURNI INDAH AGUSTINI

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 25 Oktober 2018  
Ketua Komisi Etik Penelitian  
Universitas Brawijaya



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



## Lampiran 2. Uji Determinasi Buah Blueberry



**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR  
DINAS KESEHATAN  
UPT MATERIA MEDICA BATU**

Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu  
KOTA BATU

65313

Nomor : 074 / 264 / 102.7 / 2018  
Sifat : Biasa  
Perihal : **Determinasi Tanaman Blueberry**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : NURINA TITISARI  
NIP : 19860122 201504 2 001  
Instansi : FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG

1. Perihal determinasi tanaman blueberry

Kingdom : Plantae  
Divisi : Magnoliophyta (tumbuhan berbunga)  
Class : Magnoliopsida (berkeping dua)  
Ordo : Ericales  
Famili : Vacciniaceae  
Genus : Vaccinium  
Section : *Vaccinium* sect. *Cyanococcus* Rydb.  
Spesies : *Vaccinium corymbosum*  
Nama Umum : Blueberry.  
Kunci determinasi : 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33b-35a-36d-37b-38b-39b-40b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76b-333b-334b-335b-366a-367b-368b-369b-370b-371b-372a-373b-381a-382b-383a-384a-1.

2. Morfologi : Habit: Semak, tinggi 10 cm – 4 m. Daun: Ovata atau lanceolata, 1 – 8 cm x 0,5 – 3,5 cm, hijau. Bunga: Bentuk bel, putih, merah, merah muda atau kehijauan. Buah: Buni, berdaging lunak, tebal, berair, berwarna biru tua. Biji: Kecil, berkumpul lepas, memiliki salut biji, kekuningan. Akar: Tunggang, kecoklatan.

3. Nama Simplisia : *Vaccinium Fructus* / Buah blueberry.

4. Kandungan Kimia : Antosianin, proantosianidin, resveratrol, flavonol, tanin.

5. Penggunaan : Penelitian.

6. Daftar Pustaka

- Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1963. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Vol I. N.V.P. Noordhoff, Groningen.
- Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1965. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Vol. II. N.V.P. Noordhoff, Groningen.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 20 Juli 2017

Kepala UPT Materia Medica Batu

Dr. Husin RM, Apt. M.Kes.  
NIP.19611102 199103 1 003





**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR  
DINAS KESEHATAN  
UPT MATERIA MEDICA BATU**  
Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu  
KOTA BATU

65313

**SURAT KETERANGAN EKSTRAK**  
No. 074 / 116C / 102.7 / 2018

Bersama ini kami sampaikan hasil ekstraksi berikut ini :

**1. Identitas Pemohon**

Nama : NURINA TITISARI  
NIP : 198601222015042001  
Instansi : FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

**2. Identitas Sampel**

Nama daerah sampel : Blueberry  
Nama latin : Vaccinium corymbosum  
Bagian sampel : Buah  
Bentuk sampel : Kering  
Asal sampel : Malang  
Jumlah sampel : 500 gram  
Tanggal penerimaan : -

**3. Hasil**

No.	Parameter	Hasil
1	Proses	
	a. Metode	Maserasi
	b. Jumlah perlakuan	1 Kali
	c. Pelarut	Etanol 70%
	d. Jumlah pelarut	1500 mL
	e. Waktu evaporasi	2Jam
2	Hasil	
	a. Bentuk sediaan	Cair
	b. Bahan tambahan	-
	c. Jumlah bahan tambahan	-
	d. Berat / volume	425 ml

**4. Pustaka**

- Ditjen POM, 1986. "Sediaan Galenik", Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Sudjadi, 1986. "Metode Pemisahan", UGM Press, Yogyakarta.
- Nugroho, Agung. 2017. "Teknologi Bahan Alam". Lambung Mangkurat University Press. Banjarmasin.

Demikian disampaikan untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 26 Juli 2018  
Kepala UPT Materia Medica Batu  
  
UPT MATERIA MEDICA







**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR**  
**DINAS KESEHATAN**  
**UPT MATERIA MEDICA BATU**  
 Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu  
**KOTA BATU**

65313

Nomor : 074 / 67D / 102.7 / 2018  
 Sifat : Biasa  
 Perihal : Surat Keterangan Skrining Fitokimia

Halaman : 1 dari 1

Memenuhi permohonan saudara :  
 Nama : Nurina Titisari  
 NIP : 19860122 2015 04 2001  
 Fakultas : Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya

Kami menerangkan bahwa yang bersangkutan telah melakukan Skrining Fitokimia untuk bahan penelitian dari Ekstrak Blueberry dengan menggunakan pelarut Etanol 70%. Adapun proses skrining dilakukan di Laboratorium Fitokimia UPT Materia Medica Batu dengan rincian sebagai berikut :


**Bahan** : Aquadest  
 HCl 2M

**Alat** : Tabung Reaksi                      Penjepit Tabung Reaksi                      Spatula Stainlesssteel  
 Pipet Tetes                                  Gelas Ukur    Bunsen  
 Corong Gelas                              Beaker Glass

**Cara Kerja :****I. Identifikasi Antosianin**

2 ml sampel ekstrak → Ditambahkan 8 ml aquadest yang telah dipanaskan selama ± 10 menit → Filtrat disaring dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi → Ditambahkan 3 tetes HCl 2M → Dipanaskan selama kurang lebih 5 menit pada suhu 100°C → Hasil Positif: warna merah tidak pudar

**Hasil :**

Nama Sampel	Antosianin
Blueberry	+ 


**Kesimpulan :**

- Uji Antosianin → Hasil Positif (+) mengandung Antosianin, ditunjukkan dengan adanya warna merah pada larutan yang tidak pudar

Demikian keterangan ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 20 Juli 2018

Kepala UPT Materia Medica Batu

  
 UPT MATERIA MEDICA  
 BATU  
 Dr. Husin RM, Drs., Apt., MKes.  
 NIP.19611302 199103 1 003





**LABORATORIUM PENGUJIAN MUTU DAN KEAMANAN PANGAN  
(TESTING LABORATORY OF FOOD QUALITY AND FOOD SAFETY)**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

Jl. Veteran, Malang 65145, Telp. (0341) 573358  
E-mail : labujipangan\_thpub@yahoo.com

**KEPADA : Sari Murni Indah Agustini  
FKH UB  
MALANG**

**LAPORAN HASIL UJI  
REPORT OF ANALYSIS**

Nomor / Number : 0963/THP/LAB/2018  
 Nomor Analisis / Analysis Number : 0963  
 Tanggal penerbitan / Date of issue : 17 Desember 2018  
 Yang bertanda tangan di bawah ini menerangkan, bahwa hasil pengujian  
*The undersigned ratifies that examination*  
 Dari contoh / of the sample (s) of : **EKSTRAK BLUEBERRY**  
 Untuk analisis / For analysis :  
 Keterangan contoh / Description of sample :  
 Diambil dari / Taken from :  
 Oleh / By :  
 Tanggal penerimaan contoh / Received : 06 Desember 2018  
 Tanggal pelaksanaan analisis / Date of analysis : 06 Desember 2018  
 Hasil adalah sebagai berikut / Resulted as follows :

PARAMETER	HASIL
ANTOSIANIN (ppm)	150,98

HASIL PENGUJIAN INI HANYA BERLAKU UNTUK  
CONTOH-CONTOH TERSEBUT DI ATAS. PENGAMBIL  
CONTOH BERTANGGUNG JAWAB ATAS KEBENARAN  
TANDING BARANG

Ketua

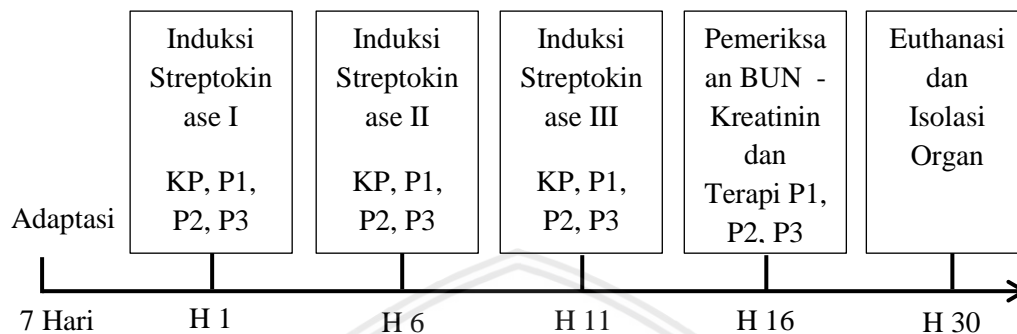


Dr. Widya Dwi Rukmi P., STP, MP  
NIP. 19700504 199903 2 002



### Lampiran 3. Skema Penelitian

Perlakuan:



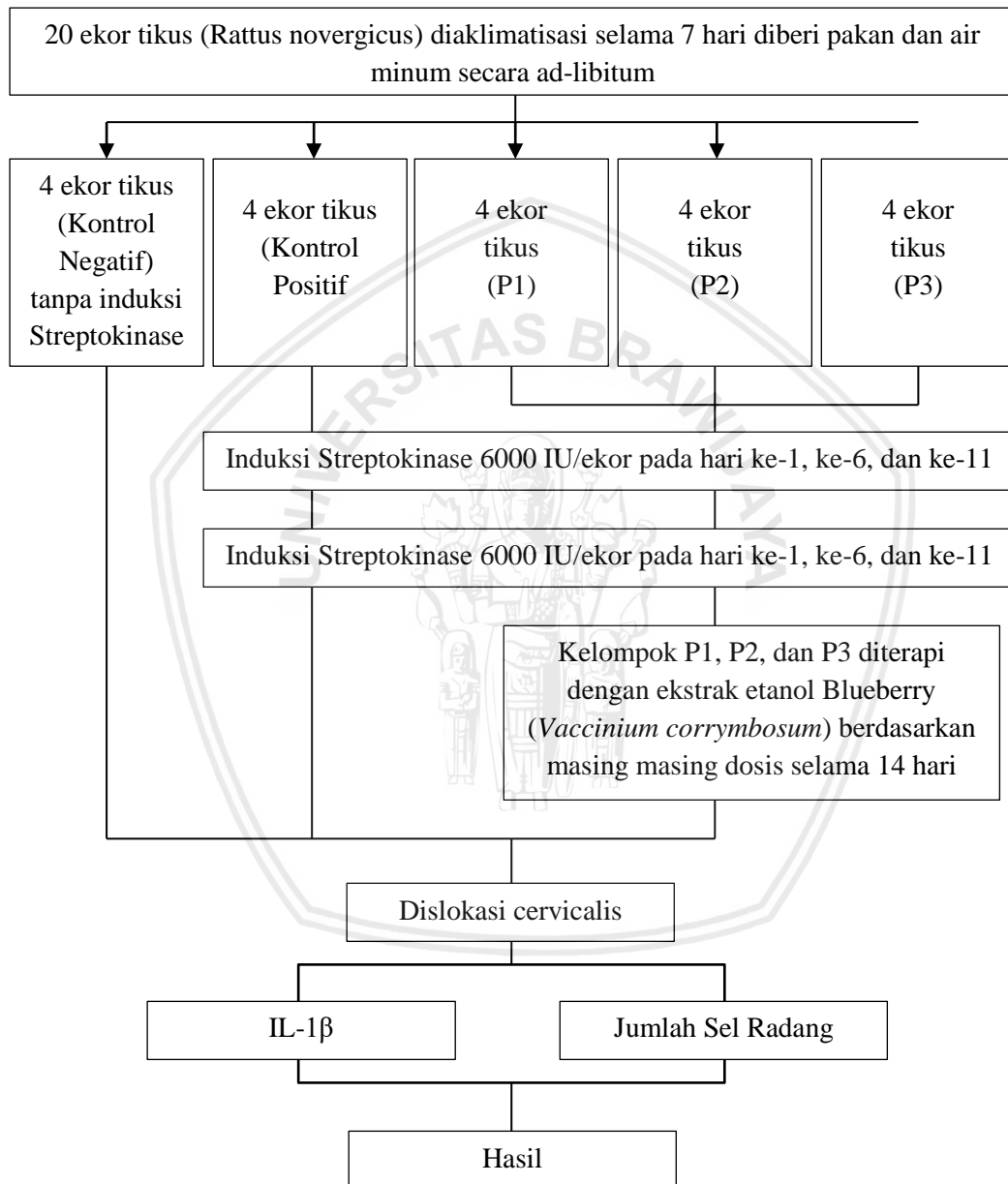
Keterangan:

- KN = Kontrol Negatif
- KP = Kontrol Positif
- P1 = Perlakuan 1 (dosis terapi 500 mg/kg BB)
- P2 = Perlakuan 2 (dosis terapi 1000 mg/kg BB)
- P3 = Perlakuan 3 (dosis terapi 1500 mg/kg BB)

Penjelasan :

1. Hari ke-1 dilakukan induksi Streptokinase pertama pada KP, P1, P2, dan P3 sebanyak 6000 IU secara IV
2. Hari ke-6 dilakukan induksi Streptokinase kedua pada KP, P1, P2, dan P3 sebanyak 6000 IU secara IV
3. Hari ke-11 dilakukan induksi Streptokinase ketiga pada KP, P1, P2, dan P3 sebanyak 6000 IU secara IV
4. Hari ke-16 dilakukan pengambilan darah melalui sinus infraorbitalis untuk pemeriksaan kadar BUN dan Kreatinin darah, serta dilakukan pemberian terapi ekstrak etanol Blueberry dengan masing-masing dosis yaitu 500 mg/kg BB untuk P1, 1000 mg/kg BB untuk P2, dan 1500 mg/kg BB untuk P3
5. Hari ke-30 dilakukan euthanasia dan isolasi organ ginjal untuk pemeriksaan ekspresi IL-1 $\beta$  dan jumlah sel radang.

#### Lampiran 4. Kerangka Operasional



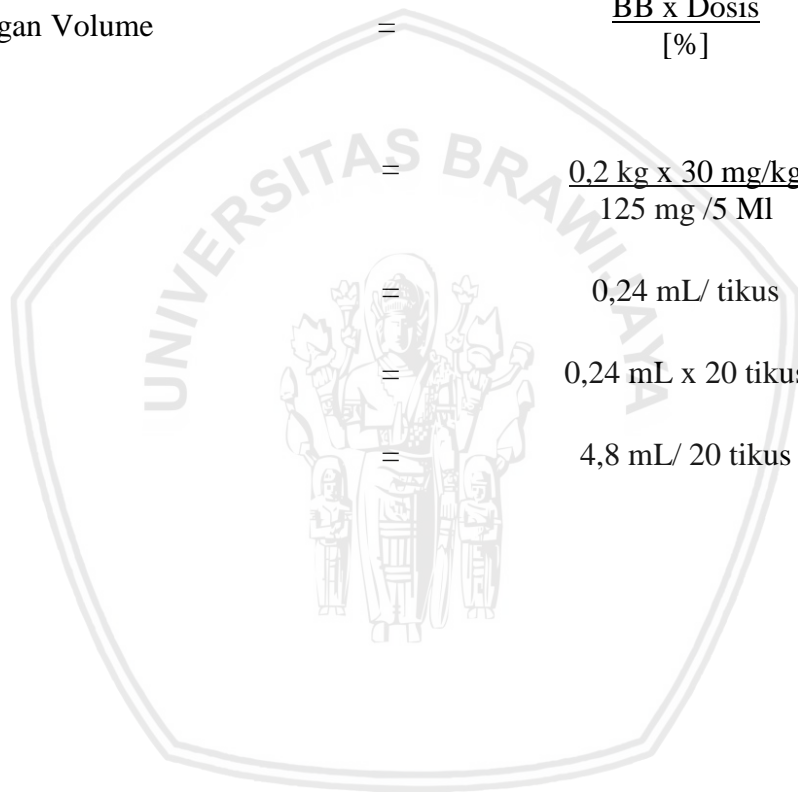
### Lampiran 5. Perhitungan Obat Cacing

Dosis Pirantel pamoat yang diberikan pada tikus penelitian ini mengacu pada Plumb (2008), yaitu sebesar 30 mg/kg BB dengan pemberian secara peroral (PO).

Obat cacing yang diberikan = Combantrin® (Pirantel Pamoat) 125mg dalam 5 mL

Jumlah yang diberikan = 1 botol

$$\begin{aligned}
 \text{Perhitungan Volume} &= \frac{\text{BB} \times \text{Dosis}}{[\%]} \\
 &= \frac{0,2 \text{ kg} \times 30 \text{ mg/kg}}{125 \text{ mg} / 5 \text{ MI}} \\
 &= 0,24 \text{ mL/ tikus} \\
 &= 0,24 \text{ mL} \times 20 \text{ tikus} \\
 &= 4,8 \text{ mL/ 20 tikus}
 \end{aligned}$$



### Lampiran 6. Preparasi Streptokinase

Perhitungan larutan streptokinase yaitu sebesar 6000 IU

- Diketahui
  - Jumlah total streptokinase = 1.500.000 IU
  - Jumlah sediaan streptokinase = 500 mg
  - Dosis yang digunakan = 6000 IU
  - Jumlah tikus yang diinduksi streptokinase = 16 ekor
- Ditanya
  - Berapa jumlah sediaan streptokinase yang diambil?
  - Berapa volume streptokinase yang dibutuhkan dalam sekali induksi?
- Dosis streptokinase yang digunakan (X)
 

X = 6000 IU

  - Jumlah sediaan streptokinase (Y) yang diambil sehingga menjadi dosis 6000 IU

$$\frac{\text{Dosis Total}}{\text{Sediaan Total}} = \frac{\text{Dosis yang dibutuhkan}}{\text{Sediaan yang dibutuhkan}}$$

$$\frac{1.500.000 \text{ IU}}{500 \text{ mg}} = \frac{6000 \text{ IU}}{\text{Sediaan yang dibutuhkan}}$$

$$\text{Sediaan yang dibutuhkan} = \frac{500 \text{ mg} \times 6000 \text{ IU}}{1.500.000 \text{ IU}}$$

$$\begin{aligned} \text{Sediaan yang dibutuhkan} &= 2,2 \text{ mg streptokinase/tikus (6000 IU)} \\ &= 35,2 \text{ mg streptokinase/16 tikus (96000 IU)} \end{aligned}$$

- volume streptokinase (Z) yang dibutuhkan dalam sekali induksi

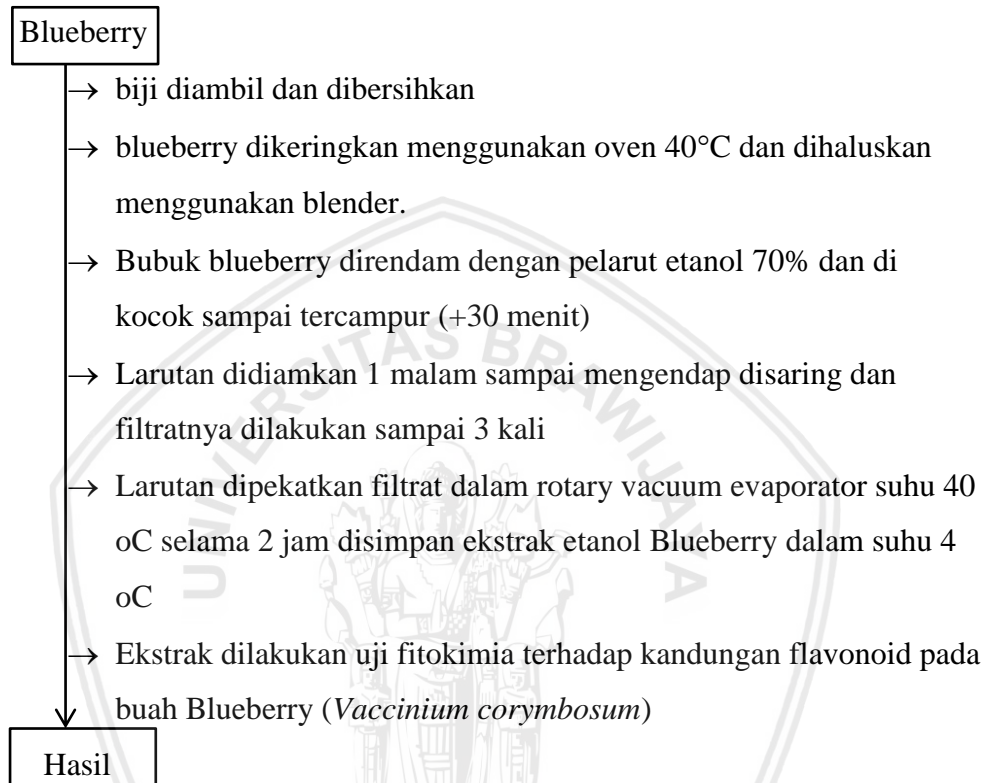
$$35,2 \text{ mg streptokinase (96000 IU)} \xrightarrow{\text{diencerkan}} 1,6 \text{ mL aqua pro injection}$$

$$\begin{aligned} &= 1,6 \text{ mL streptokinase/16 tikus (96000 IU)} \\ &= 0,1 \text{ mL/tikus (6000 IU)} \end{aligned}$$



## Lampiran 7. Perhitungan Dosis Terapi Ekstrak Ethanol Blueberry

### 1. Pembuatan Ekstrak Etanol Blueberry (*Vaccinium corymbosum*)



### 2. Perhitungan Dosis dan Pengenceran

Dosis bertingkat yang digunakan yaitu sebesar 500 mg/kg BB, 1000 mg/kg BB, dan 1500 mg/kg BB dihitung dengan berat rata rata tikus. Pengenceran ekstrak etanol Blueberry dilakukan menggunakan aqua pro injection dengan perbandingan 1 : 4 untuk setiap ekor tikus.

#### a. Perlakuan 1 (500 mg/kg BB)

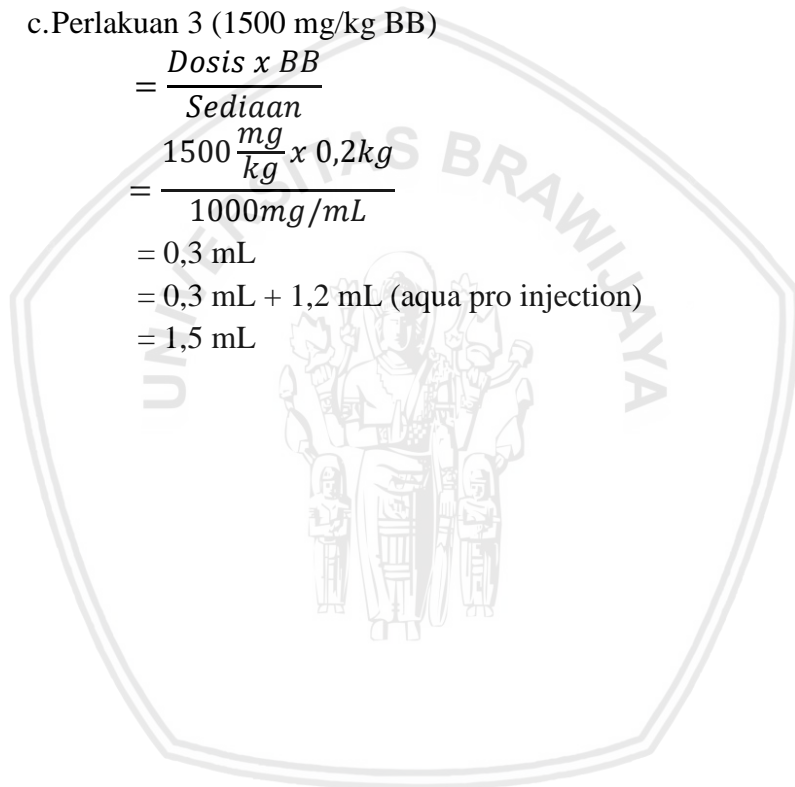
$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{Dosis} \times \text{BB}}{\text{Sediaan}} \\
 &= \frac{500 \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \times 0,2 \text{kg}}{1000 \text{mg/mL}} \\
 &= 0,1 \text{ mL} \\
 &= 0,1 \text{ mL} + 0,4 \text{ mL (aqua pro injection)} \\
 &= 0,5 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

b. Perlakuan Perlakuan 1 (500 mg/kg BB)

$$\begin{aligned} &= \frac{\text{Dosis} \times \text{BB}}{\text{Sediaan}} \\ &= \frac{1000 \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \times 0,2 \text{kg}}{1000 \text{mg/mL}} \\ &= 0,2 \text{ mL} \\ &= 0,2 \text{ mL} + 0,8 \text{ mL (aqua pro injection)} \\ &= 1 \text{ mL} \end{aligned}$$

c. Perlakuan 3 (1500 mg/kg BB)

$$\begin{aligned} &= \frac{\text{Dosis} \times \text{BB}}{\text{Sediaan}} \\ &= \frac{1500 \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \times 0,2 \text{kg}}{1000 \text{mg/mL}} \\ &= 0,3 \text{ mL} \\ &= 0,3 \text{ mL} + 1,2 \text{ mL (aqua pro injection)} \\ &= 1,5 \text{ mL} \end{aligned}$$



### Lampiran 8. Perhitungan Dosis Anestesi

Dosis anestesi Ketamine yang diberikan pada tikus penelitian ini mengacu pada Plumb (2008), yaitu sebesar 50 – 100 mg/kg BB dengan pemberian secara intramuscular (IM).

- Diketahui

Dosis Ketamine (tunggal) = 50 – 100 mg/kg BB

= 100 mg/kg BB (yang digunakan)

Berat Badan Tikus = 150 – 250 g

= 200 g (yang digunakan)

- Ditanya

Berapakah volume Ketamine yang dibutuhkan ?

- Dijawab

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{Dosis} \times \text{BB}}{\text{Sediaan}} \\
 &= \frac{100 \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \times 0,2 \text{kg}}{100 \text{mg/mL}} \\
 &= 0,2 \text{ mL/ tikus} \\
 &= 0,2 \text{ mL} \times 20 \text{ tikus} = 4 \text{ mL/20 tikus}
 \end{aligned}$$

## Lampiran 9. Hasil Penentuan Ekspresi IL-1 $\beta$

### 9.1 Data Ekspresi IL-1 $\beta$

kelompok	1	2	3	4	5	RATA	RATA PERLAKUAN
KN 1	0.6	0.8	1.1	0	0.9	0.68	0.525
KN 2	0	0.7	0	0.7	0.8	0.44	
KN 3	0.7	0	1.5	0	0	0.44	
KN 4	0	0.7	1	0.6	0.4	0.54	
KP 1	11.8	15.1	10.6	10.3	11.5	11.86	12.12
KP2	10.2	13.8	13.1	12.7	13.5	12.66	
KP 3	11.5	10.6	13.4	14	9.9	11.88	
KP 4	10.3	10.3	14.2	13.6	12	12.08	
P1.1	7.7	8.2	8.4	9.3	8.7	8.46	8.18
P1.2	9.2	7.4	7.4	6.1	7.5	7.52	
P1.3	8.5	8.8	7.1	9.7	9.3	8.68	
P1.4	9.1	9.2	8.6	7.6	5.8	8.06	
P2.1	6.8	6.4	6.5	4.4	6.3	6.08	6
P2.2	6.1	5.6	6.9	6.6	5.7	6.18	
P2.3	6.7	5.2	5.8	5.4	6.1	5.84	
P2.4	6.8	5.9	5.6	4.8	6.4	5.9	
P3.1	2.1	4.3	1.3	3.3	5.1	3.22	3.415
P3.2	4.1	1.9	2.2	3.7	4	3.18	
P3.3	3.8	2.5	2.2	5.9	4.3	3.74	
P3.4	2	3.4	4	3.8	4.4	3.52	

### 9.2 Hasil Uji *One Way ANOVA* dan *Posthoc Tukey*

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		IL1B
N		20
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	6.0480
	Std. Deviation	4.08419
	Most Extreme Differences	
	Absolute	.123
	Positive	.114
	Negative	-.123
Test Statistic		.123
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 <sup>c,d</sup>

**Test of Homogeneity of Variances**

IL1B

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.559	4	15	.082

**ANOVA**

IL1B

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	315.413	4	78.853	778.258	.000
Within Groups	1.520	15	.101		
Total	316.932	19			

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: IL1B

Tukey HSD

(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
KN	KP	-11.59500*	.22508	.000	-12.2900	-10.9000
	P1	-7.65500*	.22508	.000	-8.3500	-6.9600
	P2	-5.47500*	.22508	.000	-6.1700	-4.7800
	P3	-2.89000*	.22508	.000	-3.5850	-2.1950
KP	KN	11.59500*	.22508	.000	10.9000	12.2900
	P1	3.94000*	.22508	.000	3.2450	4.6350
	P2	6.12000*	.22508	.000	5.4250	6.8150
	P3	8.70500*	.22508	.000	8.0100	9.4000
P1	KN	7.65500*	.22508	.000	6.9600	8.3500
	KP	-3.94000*	.22508	.000	-4.6350	-3.2450
	P2	2.18000*	.22508	.000	1.4850	2.8750
	P3	4.76500*	.22508	.000	4.0700	5.4600
P2	KN	5.47500*	.22508	.000	4.7800	6.1700
	KP	-6.12000*	.22508	.000	-6.8150	-5.4250
	P1	-2.18000*	.22508	.000	-2.8750	-1.4850
	P3	2.58500*	.22508	.000	1.8900	3.2800
P3	KN	2.89000*	.22508	.000	2.1950	3.5850
	KP	-8.70500*	.22508	.000	-9.4000	-8.0100
	P1	-4.76500*	.22508	.000	-5.4600	-4.0700

P2	-2.58500*	.22508	.000	-3.2800	-1.8900
----	-----------	--------	------	---------	---------

### IL1B

Tukey HSD<sup>a</sup>

KELOMPOK	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
KN	4	.5250				
P3	4		3.4150			
P2	4			6.0000		
P1	4				8.1800	
KP	4					12.1200
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

### 9.3 Perhitungan Presntase Penurunan Ekspresi IL-1 $\beta$

a. Kelompok Perlakuan 1 (dosis 500mg/kg BB)

$$= \frac{\text{Rataan Positif} - \text{Rataan P1}}{\text{Rataan Positif}} \times 100\%$$

$$= \frac{12.12 - 8.18}{12.12} \times 100\%$$

$$= 32.50 \%$$

b. Kelompok Perlakuan 2 (dosis 1000mg/kg BB)

$$= \frac{\text{Rataan Positif} - \text{Rataan P2}}{\text{Rataan Positif}} \times 100\%$$

$$= \frac{12.12 - 6.00}{12.12} \times 100\%$$

$$= 50.49 \%$$

c. Kelompok Perlakuan 3 (dosis 1500mg/kg BB)

$$= \frac{\text{Rataan Positif} - \text{Rataan P3}}{\text{Rataan Positif}} \times 100\%$$

$$= \frac{12.12 - 3.42}{12.12} \times 100\%$$

$$= 71.78 \%$$



### Lampiran 10. Hasil Perhitungan Jumlah Sel Radang

#### 10.1 Data Perhitungan Jumlah Sel Radang

Kelompok	LP	Makrofag	Neutrofil	Limfosit	Jumlah	Jumlah perulangan	Rata-Rata Kelompok
KP1	L1	2	0	0	2	10	7,25
	L2	1	1	0	2		
	L3	2	0	0	2		
	L4	2	0	0	2		
	L5	1	1	0	2		
KP2	L1	1	1	0	2	7	
	L2	0	0	1	1		
	L3	1	0	1	2		
	L4	0	0	0	0		
	L5	1	1	0	2		
KP3	L1	1	0	0	1	5	
	L2	1	1	0	2		
	L3	0	0	1	1		
	L4	0	0	1	1		
	L5	0	0	0	0		
KP4	L1	2	1	0	3	7	
	L2	0	0	1	1		
	L3	1	0	0	1		
	L4	0	0	1	1		
	L5	1	0	0	1		
KN1	L1	0	0	0	0	2	
	L2	0	0	0	0		
	L3	1	0	0	1		
	L4	0	0	0	0		
	L5	0	0	1	1		
KN2	L1	1	0	0	1	2	
	L2	0	0	0	0		
	L3	1	0	0	1		
	L4	0	0	0	0		
	L5	0	0	0	0		
KN3	L1	0	0	1	1	3	
	L2	1	0	0	1		
	L3	1	0	0	1		

	L4	0	0	0	0		
	L5	0	0	0	0		
KN4	L1	0	0	0	0	2	
	L2	1	0	0	1		
	L3	0	0	0	0		
	L4	1	0	0	1		
	L5	0	0	0	0		
P1.1	L1	0	0	0	0	5	
	L2	0	2	0	2		
	L3	0	0	0	0		
	L4	1	1	0	2		
	L5	0	1	0	1		
P1.2	L1	1	0	0	1	4	
	L2	0	0	0	0		
	L3	0	1	0	1		
	L4	1	1	0	2		
	L5	0	0	0	0		
P1.3	L1	0	0	0	0	3	
	L2	0	0	0	0		
	L3	0	0	0	0		
	L4	1	2	0	3		
	L5	0	0	0	0		
P1.4	L1	1	0	0	1	5	
	L2	1	0	0	1		
	L3	1	0	0	1		
	L4	0	0	0	0		
	L5	0	1	1	2		
P2.1	L1	0	1	0	1	4	
	L2	1	0	1	2		
	L3	0	0	0	0		
	L4	1	0	0	1		
	L5	0	0	0	0		
P2.2	L1	0	0	0	0	2	
	L2	0	0	0	0		
	L3	1	0	0	1		
	L4	0	0	0	0		
	L5	1	0	0	1		
P2.3	L1	1	0	1	2	5	
	L2	0	0	0	0		
	L3	0	0	1	1		
	L4	0	0	1	1		
							4,25
							3,50

	L5	1	0	0	1		
P2.4	L1	1	0	0	1	3	
	L2	0	0	0	0		
	L3	0	0	0	0		
	L4	1	0	0	1		
	L5	1	0	0	1		
P3.1	L1	0	0	1	1	4	3,25
	L2	0	0	0	0		
	L3	1	0	0	1		
	L4	0	0	0	0		
	L5	0	1	1	2		
P3.2	L1	0	0	0	0	2	
	L2	0	0	0	0		
	L3	0	0	1	1		
	L4	0	0	0	0		
	L5	0	1	0	1		
P3.3	L1	0	0	0	0	4	
	L2	0	0	2	2		
	L3	1	0	0	1		
	L4	0	0	0	0		
	L5	1	0	0	1		
P3.4	L1	1	0	0	1	3	
	L2	0	0	0	0		
	L3	1	0	0	1		
	L4	1	0	0	1		
	L5	0	0	0	0		

## 10.2 Hasil uji *One Way ANOVA* dan *Posthoc Tukey*

### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Selradang
N		20
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	4.1000
	Std. Deviation	2.07491
Most Extreme Differences	Absolute	.182
	Positive	.182
	Negative	-.156
Test Statistic		.182
Asymp. Sig. (2-tailed)		.080 <sup>c</sup>

a. Test distribution is Normal.

### Test of Homogeneity of Variances

selradang

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.106	4	15	.390

### ANOVA

SELRADANG

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.312	4	.578	9.031	.001
Within Groups	.960	15	.064		
Total	3.272	19			

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: selradang

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
KP	KN	5.00000*	.89443	.000	2.2381	7.7619
	P1	3.00000*	.89443	.030	.2381	5.7619
	P2	3.75000*	.89443	.006	.9881	6.5119
	P3	4.00000*	.89443	.003	1.2381	6.7619
KN	KP	-5.00000*	.89443	.000	-7.7619	-2.2381
	P1	-2.00000	.89443	.219	-4.7619	.7619
	P2	-1.25000	.89443	.638	-4.0119	1.5119
	P3	-1.00000	.89443	.795	-3.7619	1.7619
P1	KP	-3.00000*	.89443	.030	-5.7619	-.2381
	KN	2.00000	.89443	.219	-.7619	4.7619
	P2	.75000	.89443	.914	-2.0119	3.5119
	P3	1.00000	.89443	.795	-1.7619	3.7619
P2	KP	-3.75000*	.89443	.006	-6.5119	-.9881
	KN	1.25000	.89443	.638	-1.5119	4.0119
	P1	-.75000	.89443	.914	-3.5119	2.0119
	P3	.25000	.89443	.999	-2.5119	3.0119
P3	KP	-4.00000*	.89443	.003	-6.7619	-1.2381
	KN	1.00000	.89443	.795	-1.7619	3.7619
	P1	-1.00000	.89443	.795	-3.7619	1.7619
	P2	-.25000	.89443	.999	-3.0119	2.5119

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

### Selradang

Tukey HSD<sup>a</sup>

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
KN	4	2.2500	
P3	4	3.2500	
P2	4	3.5000	
P1	4	4.2500	
KP	4		7.2500
Sig.		.219	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

### 10.3 Perhitungan Presntase Penurunan Jumlah Sel Radang

#### a. Kelompok Perlakuan 1 (dosis 500mg/kg BB)

$$= \frac{\text{Rataan Positif} - \text{Rataan P1}}{\text{Rataan Positif}} \times 100\%$$

$$= \frac{7,25 - 4,25}{7,25} \times 100\%$$

$$= 41.38 \%$$

#### b. Kelompok Perlakuan 2 (dosis 1000mg/kg BB)

$$= \frac{\text{Rataan Positif} - \text{Rataan P2}}{\text{Rataan Positif}} \times 100\%$$

$$= \frac{7,25 - 3,5}{7,25} \times 100\%$$

$$= 51.72 \%$$

#### c. Kelompok Perlakuan 3 (dosis 1500mg/kg BB)

$$= \frac{\text{Rataan Positif} - \text{Rataan P3}}{\text{Rataan Positif}} \times 100\%$$

$$= \frac{7,25 - 3,25}{7,25} \times 100\%$$

$$= 55.17 \%$$

