

## GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL MENCIT (*Mus musculus*) TERINFEKSI *Plasmodium berghei* SETELAH DIBERI EKSTRAK METANOL KULIT BATANG *Alstonia scholaris*

Abdul M. Ukratalo<sup>1)</sup>, Maria Nindatu<sup>2\*)</sup>, Nasrul A. Tuarita<sup>3)</sup>, Nunun A. P. S. B. Kaliky<sup>4)</sup>

<sup>1,2\*,3</sup> Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pattimura,  
Ambon

<sup>4</sup> Program Studi Perikanan Tangkap Universitas Muhammadiyah Maluku

<sup>2\*</sup> Corresponding Author e-mail: [marianindatu@yahoo.com](mailto:marianindatu@yahoo.com)

Informasi.	Abstrak.
<b>Kata kunci :</b> <i>Alstonia scholaris</i> , Flavonoid, Ginjal <i>Plasmodium berghei</i>	<i>Alstonia scholaris</i> merupakan salah satu tanaman yang mengandung antioksidan jenis flavonoid, saponin dan polifenol, yang diduga dapat bersifat sebagai antimalaria, menetralkan radikal bebas dan dapat memperbaiki kerusakan ginjal mencit ( <i>Mus musculus</i> ) terinfeksi <i>Plasmodium berghei</i> . Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perubahan histopatologi ginjal mencit ( <i>Mus musculus</i> ) terinfeksi <i>Plasmodium berghei</i> ANKA setelah diberi ekstrak metanol kulit batang <i>Alstonia scholaris</i> . Mencit dengan berat badan 20 – 30 gram di infeksi <i>Plasmodium berghei</i> sebanyak 0,1 ml per ekor dan dibiarkan sampai persen parasitemia mencapai 1-5%. Kemudian mencit ( <i>Mus musculus</i> ) diberi ekstrak metanol kulit batang <i>Alstonia scholaris</i> dengan dosis 1, 10, 100 dan 200 mg/kg BB selama 4 hari berturut-turut. Setelah itu dilakukan pembedahan untuk mengambil darah untuk pengukuran kadar kreatinin dan organ ginjal mencit untuk dilakukan preparasi organ. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak metanol kulit batang <i>Alstonia scholaris</i> dosis 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB dapat meningkatkan kadar kreatinin serta memperbaiki kerusakan ginjal mencit terinfeksi <i>Plasmodium berghei</i> ANKA seperti endapan protein tubuli, nekrosis tubulus distal, atrofi glomerulus dan degenerasi hidrofis tubulus proksima.

Received: 24 Februari 2023

Accepted: 20 Mei 2023

©2023 Jurusan Biologi FMIPA Unpatti, IAIFI Cab. Ambon

### A. PENDAHULUAN

Malaria merupakan masalah kesehatan masyarakat yang utama di dunia, menyebabkan sekitar 0,7-1 juta kematian per tahun. Kira-kira, setengah dari populasi dunia berisiko malaria (World Health Organization, 2019). Menurut Hermanto *et al.*, (2022), malaria dapat menyebabkan disfungsi multi organ seperti gagal ginjal yang dikaitkan oleh respon inflamasi yang dipicu salah satunya produksi mediator inflamasi yang dikeluarkan dari eritrosit terinfeksi yang lisis.

Gagal Ginjal adalah suatu penyakit dimana fungsi organ ginjal mengalami penurunan (Nurani dan Mariyati, 2013). Menurut Indryani *et al.*, (2018) dan Apsari (2019), patogenesis berkaitan dengan sekuestrasi eritrosit yang mengganggu mikrosirkulasi dan metabolisme pada ginjal. Gangguan fungsi ginjal diduga terjadi karena anoksia yang disebabkan sumbatan kapiler aliran darah ke ginjal. Sebagai akibatnya terjadi penurunan penyaringan (filtrasi) pada glomerulus. Secara klinis terjadi oligouria yang bila tidak segera ditangani akan masuk ke tahap (fase) anuria yang berlanjut ke gagal ginjal akut. Pemeriksaan biokimia berperan dalam memperlihatkan adanya disfungsi ginjal antara lain pemeriksaan ureum dan kreatinin serum (Darmawaty *et al.*, 2008).

Komplikasi yang ditimbulkan akibat malaria jika tidak segera diobati, maka akan menyebabkan gangguan pada organ lainnya. Berbagai upaya telah dilakukan dalam

penanganan malaria salah satunya adalah aktivitas riset untuk penemuan obat baru, termasuk riset berbasis pengetahuan serta pengobatan tradisional yang menggunakan bahan alami (Kaihena dan Samson, 2019).

Masyarakat Maluku mengenal kulit batang pohon pule (*Alstonia scholaris*) sebagai obat antimalarial secara turun temurun. Hal ini juga dibuktikan dengan hasil penelitian Kakisina dan Ukratalo (2011) yang menunjukkan bahwa ekstrak metanol kulit batang *Alstonia scholaris* dapat menurunkan tingkat parasitemia mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA. Kulit batang *Alstonia scholaris* mengandung senyawa-senyawa metabolik sekunder antara lain flavonoid, saponin dan polifenol. Flavonoid merupakan golongan senyawa bahan alam dari senyawa fenolik yang banyak merupakan pigmen tumbuhan. Flavonoid telah diteliti memiliki berbagai aktivitas biologis seperti antikanker dan antiviral.

Meningkatnya kasus-kasus malaria di Indonesia dan munculnya berbagai gejala malaria berat yang salah satunya terdapat pada organ ginjal, serta kandungan antioksidan yang terdapat pada kulit batang pohon pule, mendorong peneliti untuk melakukan penelitian untuk membuktikan secara komprehensif efek ekstrak kulit batang *Alstonia scholaris* terhadap ginjal mencit (*Mus musculus*) yang diinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA.

## B. METODE PENELITIAN

### Tipe Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimen laboratorik.

### Alat Dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan adalah 3 buah Erlenmeyer berukuran 1000 ml, 1 buah Erlenmeyer berukuran 500 ml, gelas ukur, kertas saring Whatman No 2, seperangkat alat gelas, timbangan elektronik, pisau, blender (alat penghalus), rotavapor, wadah pengurung mencit, neraca analitik, Alat suntik, wadah kaca objek, slide gores, mikroskop olympus cover 018, sentrifigus tubi, heparing, alat sonde, pipet volum, spatula, tabung reaksi ukuran 25 ml, cawan penguap, spektrofotometer, fotometer, analyzer dan Camera digital.

Bahan-bahan yang digunakan adalah kulit batang *Alstonia scholaris*, metanol absolut 2 L, biakan *Plasmodium berghei* (*Plasmodium berghei* Strain ANKA diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi UNAIR), hewan coba yaitu mencit dengan interval berat badan 20-30 gram dan umur  $\pm$  2 bulan sebanyak 30 ekor, CMC Na 0,5 % (Carboxy Methyl Cellulose natrium), Alceiver, Aluminium foil, tissue, kapas, dan detergen, Formalin 4 %, Aquades, Parafin, Alkohol 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 100%, Xylol dan Hematoxylin Eosin.

### Prosedur Kerja

**Ekstraksi.** Kulit batang pohon pule diperoleh dari desa Poka dengan lingkaran batang pohon *Alstonia scholaris* adalah 45 cm. Setelah itu kulit batang pohon pule dipotong kecil-kecil dengan menggunakan pisau lalu diangin-anginkan di dalam ruangan lab selama 3 minggu. Setelah kering dihaluskan dengan blender (alat penghalus) dan serbuk yang telah halus tersebut ditimbang sehingga di peroleh berat kering dari kulit batang pohon pule sebanyak 348 gram. Selanjutnya dilakukan ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Hasil ekstraksi kemudian di uapkan menggunakan penguap putar (rotavapor) selama 3 jam sehingga diperoleh ekstrak pekat metanol (Kakisina dan Ukratalo, 2011).

**Penyiapan kontrol negatif.** Dalam penelitian ini digunakan kontrol negatif yaitu mencit yang diberikan infeksi *Plasmodium berghei* tapi tidak diberikan ekstrak (tidak diobati).

**Penginfeksian *Plasmodium berghei* pada mencit donor.** Penginfeksian mencit donor dengan simpanan beku *P. berghei* dilakukan secara intraperitoneal. *Plasmodium berghei* sebanyak 200 µl ke dalam tubuh mencit donor. Selanjutnya dilakukan pengamatan parasitemia setiap hari hingga mencapai >20% , kemudian dilakukan pembedahan untuk mengambil darah dari jantung mencit terinfeksi dan di masukkan kedalam tabung darah (botol heparing). Volume darah yang telah di ambil tersebut dilarutkan dengan alceiver sehingga didapatkan persentase parasitemia sebesar 5%. Tiap mencit coba diberi 0,1 ml secara intraperitoneal.

**Pengujian efektivitas anti malaria *in vivo*.** Mencit coba diinfeksi sebanyak 200 µl darah dari mencit donor. Pengamatan tingkat parasitemia dilakukan dengan cara sebagai berikut:

1. Darah diambil dari ekor mencit (ekor mencit dipotong  $\pm$  1 mm), kemudian diletakkan di atas kaca objek. Namun, sebelum dibuat apusan darah tipis, darah tersebut dibiarkan melebar ke kiri dan ke kanan sepanjang tepi gelas objek.
2. Selanjutnya kaca objek digesekkan kearah depan sepanjang permukaan sediaan (preparat) lapisan darah tipis.
3. Setelah dibiarkan kering, preparat darah tersebut di fiksasi dengan metanol absolute selama 3 menit.
4. Preparat darah di warnai dengan larutan giemsa. Preparat ditetesi seluruhnya dengan larutan tersebut dan dibiarkan selama 45 menit.
5. Preparat dicuci dengan air mengalir (sudut 40°) dengan perlahan – lahan dan dikeringkan.
6. Preparat di periksa di bawah mikroskop setelah ditetesi dengan minyak imersi (pembesaran 10 x 100)
7. Dari pemeriksaan preparat apusan darah tipis tersebut akan terlihat darah yang telah terinfeksi parasit malaria.

Setelah diketahui persen parasitemia, maka di lanjutkan dengan pengujian efektifitas malaria dari ekstrak. Mencit uji yang dibagi dalam 6 perlakuan, masing-masing perlakuan I kontrol negatif, perlakuan II Kontrol positif, dosis ekstrak metanol kulit batang pohon pule 1 mg/kg BB, kelompok III dosis ekstrak metanol kulit batang pohon pule 10 mg/kg BB, kelompok IV dosis ekstrak metanol kulit batang pohon pule 100 mg/kg BB dan kelompok V dosis ekstrak metanol kulit batang pohon pule 200 mg/kg BB. Tiap kelompok terdiri dari 3 ekor (3 replikasi). Kelompok II, III, IV dan V diberikan ekstrak secara oral menggunakan alat sonde dengan dosis yang ditentukan. Pemberian ekstrak dilakukan selama 4 hari berturut-turut.

**Pengamatan Kerusakan Ginjal Dengan Menggunakan Uji Kreatinin.** Sampel darah yang telah diambil, disentrifugasi dan dipisahkan plasma-nya. Kemudian pengukuran kadar kreatinin dengan metode kolorimetri menggunakan spektrofotometer, fotometer atau analyzer kimiawi (Ukratalo dan Sangdji, 2023).

**Pembuatan Preparat Histologi Ginjal.** Preparasi jaringan ginjal dilakukan dengan menggunakan pewarnaan Hematoxilyn Eosin (HE).

## Analisis Data

Data kadar kreatinin akan dianalisis dengan ANOVA dan dilanjutkan dengan uji BNT apabila terdapat pengaruh yang signifikan. Gambaran histologi ginjal mencit akan dianalisis secara deskriptif dengan menampilkan gambar.

## C. HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengukuran Kadar Kreatinin

Infeksi *Plasmodium berghei* ANKA pada mencit dapat menurunkan kadar kreatinin sebagai indikator kerusakan ginjal. Setelah diberikan ekstrak methanol kulit batang *Alstonia scholaris* dapat meningkatkan kadar kreatinin tersebut. Penurunan dan peningkatan kadar kreatinin dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1 dibawah ini.

Tabel 1. Rata-rata kadar kreatinin mencit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA dan diberi ekstrak methanol kulit batang *Alstonia scholaris*

Perlakuan	Rata-rata Kadar Kreatinin (mg/dl) ± SD
Kontrol (+)	0,65 ± 0,014 <sup>a</sup>
Kontrol (-)	0,89 ± 0,007 <sup>b</sup>
Dosis 1 mg/kg BB	0,70 ± 0,007 <sup>c</sup>
Dosis 10 mg/kg BB	0,72 ± 0,007 <sup>c</sup>
Dosis 100 mg/kg BB	0,78 ± 0,014 <sup>d</sup>
Dosis 200 mg/kg BB	0,83 ± 0,021 <sup>e</sup>

Keterangan : Superskrip dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ).

Hasil pengukuran kadar kreatinin pada Tabel 1 menunjukkan bahwa kadar kreatinin pada kelompok mencit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA (Kontrol positif) sebesar  $0,65 \pm 0,014$ , sedangkan pada kelompok mencit yang tidak terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA (Kontrol negatif) kadar kreatinin sebesar  $0,89 \pm 0,007$ . Setelah terjadi penurunan kadar kreatinin, mencit kemudian diberi ekstrak methanol kulit batang *Alstonia scholaris* selama 4 hari. Pemberian ekstrak methanol kulit batang *Alstonia scholaris* dosis 1 mg/kg BB pada mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA, kadar kreatininnya sebesar  $0,70 \pm 0,007$ . Pemberian ekstrak methanol kulit batang *Alstonia scholaris* dosis 10 mg/kg BB pada mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA, kadar kreatininnya sebesar  $0,72 \pm 0,007$ . Pemberian ekstrak methanol kulit batang *Alstonia scholaris* dosis 100 mg/kg BB pada mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA, kadar kreatininnya sebesar  $0,78 \pm 0,014$  dan pemberian ekstrak methanol kulit batang *Alstonia scholaris* dosis 200 mg/kg BB pada mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA, kadar kreatininnya sebesar  $0,83 \pm 0,021$ .

Berdasarkan hasil *Analisis Of Varian* (ANOVA) satu jalur dengan menggunakan program SPSS 16,0 menunjukkan bahwa F hitung  $>$  F tabel, yang berarti bahwa ekstrak metanol kuli batang *Alstonia scholaris* berpengaruh nyata terhadap kadar kreatinin ( $P > 0,05$ ). Hasil uji lanjut dengan menggunakan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) menunjukkan bahwa antara kelompok kontrol negatif, positif, dosis 100 mg/kg BB dan dosis 200 mg/kg BB saling berbeda nyata, akan tetapi antara dosis 1 mg/kg BB dan dosis 10 mg/kg BB tidak saling berbeda nyata.

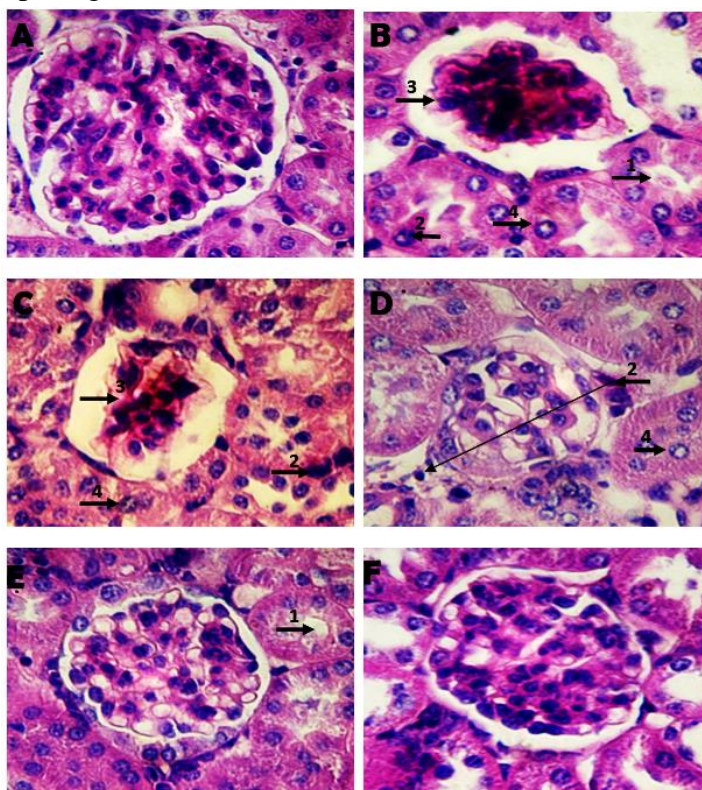
Infeksi *Plasmodium beghei* ANKA pada mencit dalam penelitian ini dapat menurunkan kadar kreatinin. Hal ini disebabkan infeksi *Plasmodium berghei* ANKA dapat

menurunkan laju filtrasi pada glomerulus. Hal ini sesuai dengan pendapat dengan Panjaitan *et al.*, (2007) yang menyatakan bahwa kadar kreatinin menurun menjadi indikasi rusaknya proses filtrasi yang disebabkan oleh gangguan *Glomerular Filtration Rate* (GFR). Penurunan kadar kreatinin mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA berkaitan dengan bertambah luas dan beratnya kerusakan ginjal sehingga kemampuan ginjal dalam mensintesis kreatin terganggu.

Pemberian ekstrak metanol kuli batang *Alstonia scholaris* dapat meningkatkan kadar kreatinin mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA. Hal ini disebabkan karena adanya kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak metanol kuli batang *Alstonia scholaris* seperti flavonoid, saponin dan polifenol. Menurut Rumondor *et al.*, (2019), flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Senyawa flavonoid yang dapat berfungsi sebagai anti inflamasi adalah toksifolin, biazilin, haematoksin, gosipin, prosianidin, dan nepritin. Hasil penelitian menyatakan bahwa pemberian flavonoid dapat meningkatkan glomerular filtration rate (GFR). Peningkatan glomerular filtration rate pada ginjal akan mengakibatkan ekskresi terhadap ureum dan kreatinin juga meningkat (Jouad *et al.*, 2001).

### Histologi Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA

Hasil analisis histology ginjal mencit dengan menggunakan pewarnaan Hematoxylin-Eosin dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Histologi ginjal mencit (Pembesaran 1000x). (A) Kelompok mencit yang hanya diberi aquades, (B) Kelompok mencit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA, (C) Kelompok mencit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA dan diberi ekstrak methanol kulit batang *Alstonia scholaris* dosis 1 mg/kg BB, (D) Kelompok mencit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA dan diberi ekstrak methanol kulit batang *Alstonia scholaris* dosis 10 mg/kg BB, (E) Kelompok mencit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA dan diberi ekstrak methanol kulit batang *Alstonia scholaris* dosis 100

mg/kg BB, dan (F) Kelompok mencit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA dan diberi ekstrak methanol kulit batang *Alstonia scholaris* dosis 200 mg/kg BB.

Keterangan : (1) Endapan protein tubuli, (2) Nekrosis, (3) Atrofi Glomerulus, (4) Degenerasi Hidropis

Hasil analisis histologi ginjal mencit dengan menggunakan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) menunjukkan pada kelompok mencit yang hanya diberi aquades (Gambar 1B), glomerulus dan tubulus ginjal mencit dalam keadaan normal. Kelompok mencit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA (Gambar 1B) menunjukkan bahwa terjadi kerusakan pada ginjal mencit. Hal ini dapat dilihat dengan adanya endapan protein tubuli, nekrosis tubulus distal, atrofi glomerulus dan degenerasi hidropis pada tubulus proksimal.

Terjadi kerusakan pada glomerulus menyebabkan daya filtrasi akan terganggu (Ressang, 1984). Kerusakan glomerulus yang parah dapat mengganggu sistem vaskular peritubular dan berpotensi untuk mengalirkan zat racun ke tubuli. Sebaliknya kerusakan yang parah pada tubuli akibat peningkatan tekanan intra glomerulus dapat menyebabkan terjadinya atrofi glomerulus (Cotran *et al.* 1989).

Menurut Cotran *et al.* (1989) atrofi glomerulus ditandai dengan mengecilnya glomerulus dalam ruang Bowman sehingga ruang di antara glomerulus dan kapsula Bowman makin melebar. Hal ini terlihat pada histology mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA (Gambar 1B) dan Histologi mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA dan diberi ekstrak methanol kulit batang pohon pule (Gambar 1C). Atrofi glomerulus kemungkinan juga terjadi karena permeabilitas kapiler bertambah. Menurut Saleh (1979) endotel kapiler merupakan suatu membran semi permeabel yang dapat dilalui oleh air dan elektrolit secara bebas, sedangkan protein plasma hanya dapat melaluinya sedikit atau terbatas. Daya atau kesanggupan permeabilitas ini bergantung kepada substansi yang mengikat sel-sel endotel tersebut. Pada beberapa keadaan tertentu, misalnya akibat pengaruh toksin atau bahan-bahan tertentu yang bekerja terhadap endotel, permeabilitas bertambah, akibatnya protein plasma keluar dari kapiler, sehingga tekanan osmotik koloid darah menurun dan sebaliknya tekanan osmotik cairan interstitium bertambah. Hal ini menyebabkan makin banyak cairan yang meninggalkan kapiler dan menimbulkan edema.

Glomerulus sebagai filter darah pada dasarnya akan menghasilkan filtrat yang bebas protein. Adanya akumulasi massa protein berwarna eosinofilik di mesangium maupun dalam ruang Bowman menunjukkan adanya peningkatan permeabilitas kapiler sehingga molekul protein yang berukuran besar dapat menembus filter. Kerusakan glomerulus cenderung diikuti oleh kerusakan epitel tubulus berupa degenerasi ataupun adanya endapan protein dalam sitoplasma (Ressang 1984). Kerusakan tubuli yang semakin parah akan mempengaruhi fungsi tubuli sebagai tempat reabsorpsi. Hal ini mengakibatkan selektifitas tubuli menurun sehingga akan mempengaruhi homeostasis pada tubuh. Kerusakan tubuli ginjal dalam penelitian ini disebabkan oleh bahan yang bersifat nefrotoksik yang terkandung dalam *Plasmodium berghei* ANKA yaitu toksin malaria berupa GPI (*Glucose Phosphate Isomerase*). Derajat perubahan tergantung pada sifat dan jumlah bahan yang masuk ke dalam aliran darah, karena efektifitas toksin sangat bergantung pada tiga faktor yaitu jenis bahan toksin, konsentrasi dan target organ (Hock dan Elstner, 2005).

Ginjal menerima darah sebesar 20% dari curah jantung melalui arteri renalis. Tingginya aliran darah yang menuju ginjal inilah yang menyebabkan berbagai macam obat

dan bahan kimia dalam sirkulasi sistemik dikirim ke ginjal dalam jumlah yang besar. Jika suatu zat kimia disekresi secara aktif dari darah ke urin, zat kimia terlebih dahulu diakumulasi dalam tubulus proksimal atau jika substansi kimia ini direabsorpsi dari urin maka akan melalui sel epitel tubulus dengan konsentrasi tinggi. Sebagai akibat dari proses pemekatan tersebut zat-zat toksik ini akan terakumulasi di ginjal dan menyebabkan kerusakan bagi ginjal (MacSween *et al.*, 1992; Hodgson *et al.*, 2001).

Adanya endapan protein di lumen tubulus dalam penelitian ini dipengaruhi berbagai faktor diantaranya peningkatan permeabilitas kapiler glomerulus sehingga protein tidak dapat lolos. Selain itu, menurunnya kemampuan absorpsi tubulus yang dikarenakan epitel tubulus telah mengalami degenerasi hingga nekrosis juga menjadi faktor adanya endapan protein (Carlton and McGavine 1995).

Degenerasi hidropis merupakan suatu keadaan dimana sitoplasma sel mengandung air. Secara mikroskopis dalam sitoplasma sel terdapat air sehingga terlihat sitoplasma membengkak dan mengandung ruangan-ruangan jernih mengelilingi inti tetapi tidak sejernih glikogen dan lemak. Degenerasi hidropis merupakan perubahan yang bersifat sementara ditandai dengan kehadiran vakuola- vakuola di sitoplasma. Infeksi akut sel akan menyebabkan air dan protein tetap berada dalam sitoplasma. Pompa lapisan membrane akan memindahkan ion dan air ke dalam retikulum endoplasma, hal ini akan menyebabkan pembengkakan sel yang disebut degenerasi hidropis (Cheville, 1999). Kondisi ini dapat dilihat pada histologi ginjal mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA (Gambar 5B).

Nekrosis sebagai bentuk lanjutan dari degenerasi terjadi karena kurangnya ATP sebagai sumber energi. Kekurangan ATP disebabkan oleh perubahan tekanan, pH yang rendah (asidosis), peningkatan laju metabolisme dan hipoksia yang terjadi selama perjalanan dari degenerasi sel (Cheville, 1999). Nekrosis pada tubuli juga merupakan akibat dari keadaan ischemia atau karena zat toksik yang masuk ke epitel tubuli. Wardener (1967) menambahkan bahwa adanya nekrosis tersebut karena adanya kontak langsung antara racun yang diekskresi dalam urin dengan epitel-epitel sel tubulus ginjal. Menurut Price & Wilson (1995), kematian sel yang disebabkan oleh nekrosis tubulus dapat ditandai dengan menyusutnya inti sel atau ketidakaktifan inti sel tubulus. Inti sel tubulus yang tidak aktif dengan pewarnaan Hematoksin Eosin akan terlihat lebih padat dan gelap bila dibandingkan dengan inti sel tubulus yang normal.

Pemberian ekstrak methanol kulit batang *Alstonia scholaris* dosis 1 mg/kg BB (Gambar 1C) dan dosis 10 mg/kg BB (Gambar 1D) pada kelompok mencit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA menunjukkan bahwa masih terjadi kerusakan pada ginjal mencit. Hal ini dapat dilihat dengan adanya nekrosis, atrofi glomerulus dan degenerasi hidropis. Hal ini disebabkan karena kecilnya dosis yang diberikan sehingga antioksidan yang terdapat didalam ekstrak methanol kulit batang *Alstonia scholaris* tidak dapat menetralkan radikal bebas yang disebabkan oleh *Plasmodium berghei* ANKA.

Pemberian ekstrak methanol kulit batang *Alstonia scholaris* dosis 100 mg/kg BB (Gambar 1E) dan dosis 200 mg/kg BB (Gambar 1F) menunjukkan bahwa mulai terjadi perbaikan pada ginjal mencit. Pada (Gambar 1E) menunjukkan masih terjadi endapan pada tubuli, sedangkan tidak terjadi nekrosis, atrofi pada tubuli dan degenerasi hidropis. Pada Gambar 1F menunjukkan bahwa ginjal mencit sudah mulai kembali normal. Salah satu toksin utama yang terdapat pada membrane *Plasmodium berghei* adalah GPI (*Glucose Phosphate*



*Isomerase*). *Glucose Phosphate Isomerase* ini akan mengaktifkan makrofag dan endotelium vaskuler, dalam merangsang TNF- $\alpha$ , IL-1, NO dan ekspresi ICAM (*Inter-Cellular Adhesion Molecule*). Apabila terjadi peningkatan TNF- $\alpha$  maka akan menyebabkan pelepasan radikal bebas dan NO serta meningkatkan fagositosis oleh makrofag dan netrofil. Radikal oksigen bebas berupa superoksida (O<sub>2</sub>), hydrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) dan radikal hidroksi (OH) akan menghancurkan makromolekul seluler dan lipid. Radikal oksida bersama-sama dengan INOS (*Inducible Nitric Oxide Synthase*) dapat melakukan oksidasi fagosit yang dalam fagosom asidik menghasilkan radikal peroksinitrit yang sangat reaktif dan dapat membunuh parasit.

Penurunan tingkat nekrosis epitel tubulus ginjal dalam penelitian ini terbukti dipengaruhi oleh besarnya dosis pemberian ekstrak methanol kulit batang pohon pule yang diberikan. Semakin tinggi dosis yang diberikan maka kandungan zat aktif juga akan semakin tinggi. Zat aktif yang terdapat dalam ekstrak methanol kulit batang pohon pule yaitu flavonoid, saponin dan polifenol. Zat - zat ini berfungsi sebagai antioksidan yang mampu menangkal radikal bebas yang ditimbulkan oleh *Plasmodium berghei* ANKA. Pendapat ini sesuai dengan Umniyah (2007) yang menyatakan bahwa zat yang berfungsi sebagai antioksidan adalah flavonoid, saponin dan polifenol.

Flavonoid merupakan golongan senyawa bahan alam dari senyawa fenolik yang akan berfungsi dalam tubuh sebagai antioksidan. Manfaat flavonoid antara lain adalah untuk melindungi struktur sel, memiliki hubungan sinergis dengan vitamin C (meningkatkan efektivitas vitamin C), antiinflamasi, antibiotik dan induksi apoptosis. Menurut Robbins & Koemar (1992), sel akan mengalami proliferasi dan regenerasi untuk mengganti sel-sel yang lepas atau mati. Disamping itu sel tubulus ginjal termasuk dalam golongan sel yang bersifat stabil, artinya sel tersebut mampu beregenerasi secara aktif bila dalam keadaan rusak, tetapi dalam keadaan normal sel tubulus ginjal tidak bertambah banyak secara aktif (Robbins dan Kumar, 1992). Dengan demikian jika sel-sel pada tubulus (khususnya) dapat beregenerasi kembali, maka akan mempengaruhi keoptimalan fungsi dari tubulus tersebut sebagai saluran pembawa toksikan yang akan dikeluarkan bersama urin.

#### **D. KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil yang telah diperoleh, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak methanol kulit batang *Alstonia scholaris* dosis 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB dapat meningkatkan kadar kreatinin serta memperbaiki kerusakan ginjal mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA seperti endapan protein tubuli, nekrosis tubulus distal, atrofi glomerulus dan degenerasi hidrofis tubulus proksimal.

#### **E. DAFTAR PUSTAKA**

- Apsari P. I. B. 2019. Aspek Molekuler Malaria Berat. *Jurnal Lingkungan & Pembangunan*, 3(1):49-53.
- Cheville N. F. 1999. *Introduction to Veterinary Pathology*. Edisi 2. Iowa State University Press. United States of America.
- Cotran R. S., Kumar V., S. Robbins. 1989. *Pathology Basis of Disease*. Edisi 4. WB Saunders Company. Philadelphia
- Darmawaty, Fitriani M., Pakasi R. D. N., Hardjoeno. 2008. Gambaran Fungsi Hati Dan Ginjal Pada Penderita Malaria. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*. 15(1), 1 - 4



- Hermanto F., Anisa I. N., Wahyuningsih S., Alatas F., Suryani S., Rachmawan R. L., Haq F. A., F. Adhary. 2022. Aktivitas Antiplasmodium dan Pengaruh Resveratrol terhadap Indeks Organ Mencit yang Terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA. *Jurnal Pharmacy*. 19(1).
- Hock B., E. F. Elstner. 2005. Plant Toxicology. Edisi 4. Marce Dekker. New York.
- Indrayani I. A. S., Sudira P. G., Samatra D. P. G. P., Laksmidewi A. A. A. P., Adnyana I. M. O., Susilawathi N. M., Witari N. P., K. Widiasyuti.
- Jouad H. M. A. Lacaille-Dubois B., Lyoussi M., Eddouks. 2001. Effects of The Flavonoids Extracted from *Spergularia purpurea* Pers. on Arterial Blood Pressure and Renal Function in Normal and Hypertensive Rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 72(2), 159-163.
- Kaihena M., E. Samson. 2019. Efektivitas Infusa Daun Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC) Terhadap Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Malaria. *Rumphius Pattimura Biological Journal*. 1(1), 026-033
- Kakisina P., A. M. Ukratalo. 2011. Efek Ekstrak Metanol Kulit Batang Pohon Pule (*Alstonia scholaris* L. R. Br) Terhadap Penurunan Parasitemia Mencit (*Mus musculus*) Terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA Secara *In Vivo*. *Molucca Medica*. 4(1), 49-60.
- Nurani V. M., S, Mariyanti. 2013. Gambaran Makna Hidup Pasien Gagal Ginjal Kronik Yang Menjalani *Hemodialisa*. *Jurnal Psikologi*. 11(2), 1 - 13.
- Panjaitan P. G. R., Handharyani E., Chairul, Masriani, Zakiah Z., W. Manalu. 2007. *Pengaruh Pemberian Karbon Tetraklorida Terhadap Fungsi Hati Dan Ginjal Tikus. Makara, Kesehatan*. 11(1), 11 - 16.
- Rumondor R., Komalig M. R., Kamaluddin. 2019. Efek Pemberian Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum minahasae*) terhadap Kadar Kreatinin, Asam Urat dan Ureum pada Tikus Putih (*Rattus novergicus*). *JBE* 4(3), 108 - 117
- Saleh S. 1979. *Gangguan Peredaran Cairan Tubuh, Elektrolit dan Darah*. Patologi. Bagian Patologi Anatomi. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Ukratalo A. M., J. M. Sangajdi. 2023. Efek Ekstrak Methanol Kulit Batang *Cinnamomum burmannii* Terhadap Penurunan Kadar Kreatinin Sebagai Indikator Perbaikan Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Model Diabetes Mellitus. *Jurnal Ilmu Kesehatan dan Sains Nusantara*. 1(1), 34 - 43
- World Health Organization. 2019. World Malaria Report 2019. Geneva