

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH DELIMA
(*Punica granatum Linn*) TERHADAP NILAI HEMATOKRIT,
ERITROSIT DAN HEMOGLOBIN TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) DALAM PROSES MENGALAMI
GAGAL GINJAL AKUT**



Oleh :

IAN FIRDIANSYAH

NIM 060911225

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2014**

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH DELIMA (*Punica granatum Linn*) TERHADAP NILAI HEMATOKRIT, ERITROSIT DAN HEMOGLOBIN TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) DALAM PROSES GAGAL GINJAL AKUT

Skripsi

sebagai salah satu syarat **untuk** memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

IAN FIRDIANSYAH

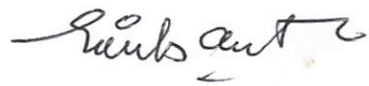
060911225

Menyetujui

Komisi Pembimbing,



(Prof. Dr. Wurlina, drh., MS)
Pembimbing Utama



(Soetji Prawesthirini, drh., SU)
Pembimbing Serta

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH DELIMA (*Punica granatum*
Linn) TERHADAP NILAI HEMATIKRIT, ERITROSIT DAN
HEMOGLOBIN TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) DALAM PROSES
GAGAL GINJAL AKUT**

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, Februari 2014



IAN FIRDIANSYAH
NIM. 060911225

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 15 November 2013

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Prof.Dr. Bambang Sektiari L.,drh.,DEA

Sekretaris : Dr. Tutik Juniastuti., drh, M.Kes.

Anggota : Retno Binjati, drh., MS.

Pembimbing Utama : Prof.Dr.Wurlina, drh., MS.

Pembimbing Serta : Soetji Prawesthirini, drh., SU.

Telah diuji pada

Tanggal : 12 Februari 2014

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Prof.Dr. Bambang Sektiari L.,drh.,DEA

Anggota : Dr. Tutik Juniastuti., drh, M.Kes.

Retno Binjati, drh., MS.

Prof.Dr.Wurlina, drh., MS.

Prof.Dr.Wurlina, drh., MS.

Soetji Prawesthirini, drh., SU.

Surabaya, 12 Februari 2014
Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Dekan,



Prof. Hj. Romziah Sidik, drh., Ph.D.
NIP.195312161978062001

EFFECT OF POMEGRANATE EXTRACT (*Punica granatum Linn*) ON THE VALUE HEMATOCRIT, ERYTHROCYTE AND HEMOGLOBIN OF WHITE RATS (*Rattus norvegicus*) IN THE PROCESS OF ACUTE RENAL FAILURE

Ian Firdiansyah

ABSTRACT

This research was aimed to know the effect of pomegranate extract on the value of hematocrit, erythrocyte and hemoglobin in the blood of white rats (*Rattus norvegicus*) in the process of acute renal failure. 24 male rats 2-3 months old with 150-200 gram body weight were grouped into four different treatment for seven days followed: P0 group as a control group treated with CMC Na 0,3% and saline, P1 group treated with gentamycin and CMC Na 0,3%, P2 group treated with gentamycin and ellagic acid in CMC Na 0,3%, P3 group treated with gentamycin and pomegranate extract in CMC Na 0,3%. After seven days treatment, blood sample taken with intracardiac method. The value hematocrit, erythrocyte and hemoglobin in the blood were than measured using roller mixer with fotometer method. Based on the result of the analysis of variance (ANOVA) and Duncan test, the value hematocrit, erythrocyte and hemoglobin test showed P0 has the significant effect to P1, P2 and P3, but P1, P2 and P3 not showed significant differences among treatmens. The pomegranate extract has no effect on the value hematocrit, erythrocyte and hemoglobin.

Key word : pomegranate extract, acut renal failure, hematocrit, erythrocyte, hemoglobin

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang mana telah melimpahkan rahmat dan hidayahnya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi dengan judul **“Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Delima (*Punica granatum* Linn) Terhadap Nilai Hematokrit, Eritrosit Dan Hemoglobin Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Dalam Proses Gagal Ginjal Akut”**, yang disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Kesempatan kali ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Hj. Romziah Sidik, drh., Ph.D atas segala kesempatan yang diberikan sehingga dapat mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Prof.dr. Wurlina, drh., M.S. selaku dosen pembimbing utama, ibu Soetji Prawesthirini, drh., SU. selaku dosen pembimbing serta. Prof. Dr. Bambang Sektiari L, drh., DEA dan Ibu Dr.Wiwik Misaco Yuniarti, drh., M.Kes. selaku dosen pembimbing penelitian atas segala bimbingan, masukan dan nasehat yang diberikan selama skripsi ini berlangsung hingga selesai.

Prof. Dr. Bambang Sektiari L, drh., DEA. selaku ketua penguji, ibu Dr. Tutik Juniastuti, drh., M.Kes. selaku sekretaris penguji dan ibu Retno Bijanti, drh., MS, selaku anggota penguji yang telah memberikan saran dan kritik yang sangat berharga demi perbaikan skripsi ini.

Seluruh staf pengajar dan karyawan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Dan seluruh pihak yang membantu dalam teknis penelitian ini.

Tak luput saya ucapkan terimah kasih kepada kedua orang tua saya, adik adik saya, keluarga besar saya yang telah mendoakan dan memberikan kasih sayangnya selama ini yang tentunya tidak akan dilupakan seumur hidup.

Alesa Rolita Nibiana atas semangat dan bantuan yang diberikan untuk menyelesaikan skripsi ini. Sahabat-sahabatku tercinta GOMBLOH community, keluarga besar kos Bu Mar, SAED Fc, Urak Urak community, BFC, crew Bumi group, brankid dan psychopath, yang telah memberikan semangat dan dukungan hingga terselesainya skripsi ini, dan teman-teman seperjuangan Fakultas Kedokteran Hewan khususnya angkatan 2009 yang tidak bisa saya sebutkan semuanya.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, kritik dan saran yang membangun diharapkan demi kesempurnaan tulisan ini, walaupun demikian semoga apa yang tertulis dalam skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca sekalian.

surabaya, Februari 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
IDENTITAS	iv
ABSTRAK	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	6
1.3. Landasan Teori.....	6
1.4. Tujuan	7
1.5. Manfaat	8
1.6. Hipotesis Penelitian	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1. Ginjal	9
2.1.1. Makropis Ginjal	9
2.1.2. Fungsi Ginjal	10
2.1.3. Kerusakan Pada Ginjal.....	11
2.2. Gagal Ginjal Akut	12
2.3. Hematokrit, Eritrosit dan Hemoglobin.....	14
2.4. Delima (<i>Punica granatum linn</i>)	17
2.4.1 Klasifikasi dan Tinjauan Umum	17
2.4.2 Bahan Aktif Delima	19
2.4.3 Aktivitas Anti Oksidan.....	21
2.5. Hewan Model	23
2.6. Gentamicin	24
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	27
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	27
3.2. Materi Penelitian	27
3.2.1. Hewan coba.....	27
3.2.2. Alat Penelitian.....	27
3.2.3. Bahan Penelitian	28
3.2.4. Sampel.....	28
3.2.5. Variabel Penelitian.....	29
3.3. Metode Penelitian	29
3.3.1. Persiapan Sediaan Uji	29

3.3.2. Persiapan dan Perlakuan Terhadap Hewan Percobaan	29
3.3.3. Prosedur Pelaksanaan Penelitian.....	30
3.3.4. Pengambilan Sampel.....	31
3.3.5. Pemeriksaan Sampel	31
3.3.6. Analisis Data.	32
3.3.7. Kerangka Oprasional.....	33
BAB IV HASIL PENELITIAN.....	34
4.1 Pemeriksaan Nilai Hematokrit Tikus Putih	34
4.2. Pemeriksaan Nilai Eritrosit Tikus Putih	35
4.2. Pemeriksaan Nilai Hemoglobin Tikus Putih	36
BAB V PEMBAHASAN	37
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	41
RINGKASAN	42
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur umum histologi ginjal	10
2. Buah delima	19

DAFTAR SINGKATAN

GGA	: <i>Gagal Ginjal Akut</i>
ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
PGL	: <i>Punica granatum Linn</i>
EA	: <i>Ellagic acid</i>
BUN	: <i>Blood urea nitrogen</i>
CMC	: <i>Carboxyl methyl cellulose</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
EDTA	: <i>Ethylene diami tetra acid</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1.	Penentuan Dosis <i>Ellagic Acid</i> dan Ekstrak Buah Delima....	49
2.	Cara Pemberian Obat Secara Intraperitoneal	50
3.	Sertifikat Ekstrak Buah Delima	51
4.	Sertifikat Kelaikan Etik.....	52
5.	Analisis Statistik.....	53
6.	Foto Penelitian.....	59

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ginjal adalah organ ekskresi yang berperan penting dalam mempertahankan keseimbangan internal dengan jalan menjaga komposisi cairan tubuh atau ekstraseluler. Ginjal merupakan organ yang berbentuk seperti kacang terletak di belakang peritoneum, di kedua sisi columna vertebralis. Ginjal kanan sedikit lebih rendah dibandingkan ginjal kiri. (Price dan Wilson, 1995). Unit fungsional dari ginjal adalah nefron yang dapat berjumlah lebih dari satu juta. Ukuran ginjal pada berbagai spesies terutama ditentukan oleh jumlah nefron yang dimiliki (Ganong, 2001).

Ginjal memainkan peran utama dalam pengaturan volume darah, volume cairan ekstraselular, sistemik, tekanan darah arteri, hematokrit, asam-basa, konsentrasi elektrolit, mineral, dan mengekskresi hasil metabolisme (Brown, 2011). Gangguan fungsi ginjal menyebabkan ginjal tidak dapat mengekskresikan hasil' metabolisme, oleh karena itu laju filtrasi glomerulus menurun sehingga hasil metabolisme yang tidak berguna terutama urea dan kreatinin akan menumpuk dalam plasma darah dan akan menyebabkan keadaan yang disebut uremia (Bijanti, 2011).

Gagal ginjal dapat diklasifikasikan menjadi dua yaitu akut dan kronis. Gagal ginjal akut (GGA) merupakan penurunan laju filtrasi glomerulus secara mendadak (dalam beberapa jam sampai sampai beberapa hari) umumnya berlangsung reversibel, sehingga terjadi retensi sisa metabolisme seperti urea dan

kreatinin, dengan atau tanpa oliguria (Rinawati dan Aulia, 2011). Tingkat kematian pasien GGA mencapai 25-70% meskipun penggunaan berbagai farmakologis agen, oleh karena itu harus mendapatkan penanganan sedini mungkin (Singh *et al.*, 2012). Terdapat banyak penyebab gagal ginjal akut terutama mencakup nekrosis tubular akut yang menyumbang 85% dari kejadian. Nekrosis tubular akut terjadi baik karena iskemia atau nefrotoksik (Lakshmi *et al.*, 2012).

Salah satu fungsi ginjal adalah menghasilkan hormon eritropoietin yang berguna untuk memproduksi sel-sel darah merah dan menjaga keseimbangan kadar oksigen dalam darah. Pada pasien dengan penurunan fungsi ginjal maka produksi hormon eritropoietin ini menjadi berkurang, selain itu juga terjadi gangguan fungsi sumsum tulang yang mempengaruhi produksi sel-sel darah merah sehingga terjadi anemia (Sherwood, 2001). Pada penderita gangguan fungsi ginjal daya kerja ginjal akan mengalami penurunan atau defisiensi, sehingga akan berpengaruh terhadap fisiologis dari hormon eritropoietin terutama yang disintesis oleh ginjal (Robert, 1996).

Eritrosit (sel darah merah) memiliki fungsi khusus mengangkut O_2 dalam darah. Eritrosit tidak memiliki nucleus, organel, atau ribosom, tetapi dipenuhi oleh hemoglobin, yang molekul mengandung besi yang dapat berikatan dengan O_2 secara reversibel. Karena O_2 larut dalam darah, hemoglobin merupakan pengangkut satu-satunya O_2 dalam darah. Hemoglobin juga berperan dalam transportasi CO_2 dan sebagai penyangga darah dengan berikatan secara reversibel dengan CO_2 dan H^+ (Sherwood, 2001).

Karena tidak mampu menggantikan komponen-komponennya, eritrosit memiliki usia yang terbatas, yaitu sekitar 120 hari. Sel-sel yang belum berdiferensiasi di sumsum tulang membentuk semua unsure sel darah. Produksi eritrosit (eritropoiesis) oleh sumsum tulang dalam keadaan normal seimbang dengan kecepatan lenyapnya eritrosit, sehingga hitung sel darah merah konstan. Eritropoiesis dirangsang oleh eritropoietin, hormon yang dikeluarkan ginjal sebagai respons terhadap penurunan penyaluran O_2 (Sherwood, 2001).

Hematokrit merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan apakah jumlah sel darah merah terlalu tinggi, terlalu rendah atau normal. Hematokrit sejatinya merupakan ukuran yang menentukan seberapa banyak jumlah sel darah merah dalam satu mililiter darah atau dengan kata lain perbandingan antara sel darah merah dengan komponen darah yang lain (Ibrahim, 1992).

Penanganan serta pengobatan gagal ginjal tergantung dari penyebab terjadinya kegagalan fungsi ginjal itu sendiri. Tujuan pengobatan adalah untuk mengendalikan gejala, meminimalkan komplikasi dan memperlambat perkembangan penyakit. Beberapa obat yang diberikan pada penderita gagal ginjal tergolong obat yang relatif mahal, selain itu dapat memberi efek terhadap organ lain dalam tubuh. Untuk mengetahui berbagai kerusakan pada ginjal dapat digunakan pemeriksaan histopatologi untuk pengamatan morfologi ginjal, pemeriksaan fungsi ginjal (kadar *Blood Urea Nitrogen* dan kreatinin), pemeriksaan elektrolit darah, pemeriksaan hematokrit, dan lain – lain. Sampai saat ini pencegahan penyakit ginjal dilakukan dengan cara mengobati penyakit dasar,

mengontrol tekanan darah, gula darah, lemak darah, diet rendah protein, mengobati proteinuria, serta menghindari obat yang dapat mengganggu fungsi ginjal.

Kerusakan pada ginjal dapat bersifat akut (sementara) atau kronis (permanen), Kerusakan dapat menyebabkan berbagai dampak baik secara morfologis maupun fungsional. Secara morfologis kerusakan glomerulus ditandai dengan terjadinya nekrosis dan proliferasi sel membran serta infiltrasi leukosit. Kerusakan pada tubulus secara morfologis ditandai dengan terjadinya degenerasi, nekrosis, deskuamasi sel epitel tubular dan apoptosis (Suyanti, 2008).

Terapi untuk mencegah terjadinya kerusakan ginjal yang lebih parah dan memperbaiki kondisi pasien yaitu berupa terapi suportif seperti *hemodialysis*, *peritoneal dialysis*, *Laser lithotripsy*, *renal transplantation*, dan pemberian antibiotik. Antibiotika yang digunakan pada keadaan ini adalah yang bersifat bakterisidal, dan berspektrum luas, yang secara farmakologis mampu mengadakan penetrasi ke jaringan ginjal. Golongan obat-obatan itu adalah aminoglikosida yang dikombinasikan dengan aminopenisilin (ampisilin atau amoksisilin), aminopenisilin dikombinasi dengan asam klavulanat atau sulbaktam, karboksipenisilin, sefalosporin, atau fluoroquinolone (Bartges dan Polzin, 2010).

Saat ini banyak dilakukan berbagai usaha untuk mencari cara alternatif yang lebih murah dan aman untuk pengobatan ginjal misalnya dengan menggunakan tanaman obat. Tanaman obat berfungsi sebagai sumber senyawa baru yang potensial berguna untuk pengembangan terapi yang efektif untuk menanggulangi berbagai masalah ginjal. Banyak tanaman obat terbukti mujarab

sebagai agen nephroprotective. Obat-obatan herbal memiliki sifat penyembuhan karena adanya komponen kimia yang kompleks (Lakshmi *et al.*, 2012).

Salah satu tanaman obat yang banyak diteliti manfaatnya untuk kesehatan adalah delima atau *Punica granatum Linn* (PGL). Berbagai kondisi yang telah menjadi target penelitian untuk mengetahui manfaat delima adalah penyakit akibat inflamasi baik akut maupun kronis, penuaan, penyakit degeneratif dan berbagai jenis kanker. Bahan utama yang terkandung dalam buah delima adalah *polyphenol* dengan bahan aktif utama *punicalagin* dan *ellagic acid*, serta bahan aktif lain seperti *quercetin*, *anthocyanidins* dan *ellagitanins* dalam buah delima mempunyai fungsi antiproliferatif, antimutagenik, antitumor, antikarsinogenik, antiangiogenik, antiinflamasi dan antioksidan yang baik bagi kesehatan ginjal (Lansky dan Newman, 2007).

Penggunaan ekstrak buah delima terhadap penderita yang mengalami gangguan ginjal dalam waktu tertentu belum diketahui secara pasti sehingga perlu dikaji lebih dalam. Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh ekstrak buah delima terhadap fungsi ginjal dari hewan yang mengalami nefrotoksisitas akibat induksi gentamicin. Langkah awal yang akan dilakukan dalam penelitian ini adalah memberikan ekstrak buah delima kepada hewan percobaan yang telah diinduksi gentamicin 80 mg/kg bb secara intraperitoneal selama 7 hari hingga mengalami gagal ginjal akut (Advagic *et al.*, 2008), kemudian diamati nilai hematokrit, eritrosit dan hemoglobin.

1.2 Perumusan masalah

Berdasarkan uraian latar belakang penelitian yang telah diuraikan di atas, maka dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut :

Apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak buah delima (*Punica granatum Linn*) terstandart terhadap nilai hematokrit, eritrosit, dan hemoglobin tikus putih (*Rattus norvegicus*) dalam proses gagal ginjal akut ?

1.3 Landasan Teori

Penyakit Gagal Ginjal adalah suatu penyakit dimana fungsi organ ginjal mengalami penurunan hingga akhirnya tidak lagi mampu bekerja sama sekali dalam hal penyaringan pembuangan elektrolit tubuh, menjaga keseimbangan cairan dan zat kimia tubuh seperti sodium dan kalium di dalam darah atau produksi urin. Gagal ginjal yang terjadi secara mendadak adalah gagal ginjal akut. Gagal ginjal yang berkaitan dengan menurunnya fungsi ginjal secara *progresif irreversible* disebut gagal ginjal kronik, biasanya timbul beberapa tahun setelah penyakit atau kerusakan ginjal. (Corwin, 2000)

Hematokrit adalah nilai hematokrit merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan apakah jumlah sel darah merah terlalu tinggi, terlalu rendah atau normal. Hematokrit sejatinya merupakan ukuran yang menentukan seberapa banyak jumlah sel darah merah dalam satu mililiter darah atau dengan kata lain perbandingan antara sel darah merah dengan komponen darah yang lain. (Ibrahim 1992)

Berbagai pendapat tentang manfaat delima untuk kesehatan telah banyak di laporkan dalam beberapa tahun terakhir. Delima dikenal memiliki kemampuan antimikrobal dan oleh Karena itu dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri, virus, jamur, dan parasit. Selain itu delima juga diketahui dapat dimanfaatkan untuk melawan berbagai jenis penyakit inflamasi, kanker, penyakit degenerative, gangguan reproduksi dan untuk kosmetika (Lansky and Newman, 2007)

Aktivitas antioksidan dan antiinflamasi yang dimiliki oleh delima disebabkan karena kandungan polifenolnya yang sangat tinggi, seperti *ellagic acid*, *gallotannins*, *antocyanins* dan flavonoid lainnya. Polifenol terbanyak adalah *punicalagin*, yaitu suatu *ellagitannin* yang memiliki aktivitas antioksidan yang cukup kuat. Kombinasi dari berbagai bagian buah delima diduga memiliki efek yang lebih baik, karena gabungan berbagai bahan aktif yang terkandung dalam buah dapat membentuk suatu formulasi yang bersifat sinergis (Seeram et al., 2005).

1.4 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah delima (*Punica granatum Linn*) terhadap gambaran nilai hematokrit, eritrosit dan hemoglobin tikus putih (*Rattus norvegicus*) dalam proses gagal ginjal akut.

1.5 Manfaat

Jika dalam penelitian ini terbukti bahwa ekstrak buah delima dapat memperbaiki atau berpengaruh terhadap nilai hematokrit, eritrosit dan hemoglobin maka ekstrak buah delima terstandart dapat di gunakan sebagai obat alternatif untuk mencegah kerusakan ginjal.

1.6 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah : terdapat pengaruh pemberian Ekstrak buah delima (*Punica granatum Linn*) terhadap gambaran hematokri, eritrosit, dan hemoglobin, pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dalam proses mengalami gagal ginjal akut.

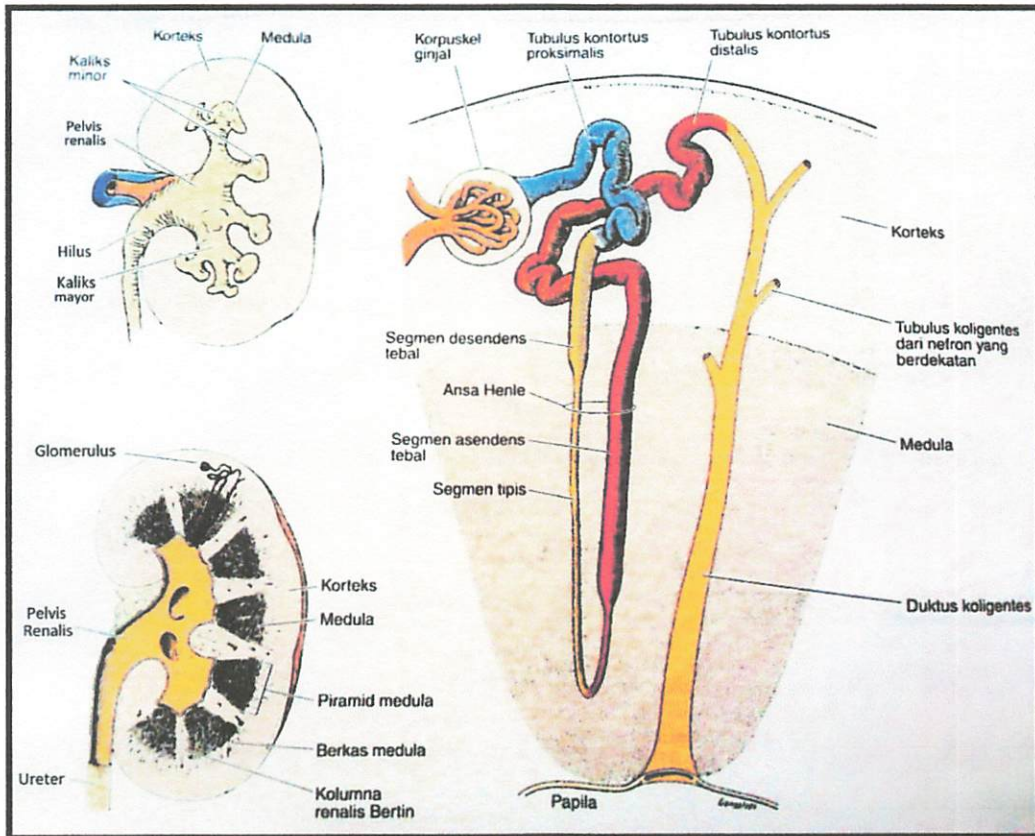
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ginjal

2.1.1 Makroskopis ginjal

Pada tikus, ginjal adalah sepasang organ berbentuk biji kacang merah. Ginjal tikus mempunyai dua daerah yang berbeda, yaitu korteks renal di bagian luar dan medulla renal di bagian dalam. Korteks berwarna lebih gelap dari pada medulla, konsistensi lunak dan bergranula (Dellman dan Brown, 1992). Kedua daerah tersebut terbungkus oleh tubulus ekskresi mikroskopis, yang disebut nefron, dan duktus pengumpul, di mana keduanya berkaitan dengan pembuluh – pembuluh darah kecil. Nefron, yang merupakan unit fungsional ginjal vertebrata, terdiri atas tubulus panjang tunggal dan sebuah bola kapiler yang disebut glomerulus (Campbell, 2004). Pada dasarnya setiap ginjal terbungkus aman, pelindung halus pada jaringan adiposa berfungsi mencegah goncangan yang dapat mengganggu fungsi ginjal normal (Martini, 2006).

Bertempat pada sisi tengah atau sisi cekung dari ginjal yang disebut dengan hilus terdapat arteri dan vena ginjal, serta ureter. Ginjal memiliki sebuah kelenjar yang disebut dengan kelenjar adrenal. Potongan melintang ginjal terbagi menjadi dua bagian, yaitu korteks dan medula. Pada bagian medula ginjal terdapat kumpulan massa berbentuk kerucut yang disebut dengan *renal pyramids* (Guyton dan Hall, 2006).



Gambar 2.1 Struktur Umum Histologis Ginjal
(Junqueira dan Carneiro, 2003)

2.1.2 Fungsi ginjal

Ginjal merupakan organ yang kompleks baik anatomi maupun fisiologik dalam melakukan fungsinya sebagai pengatur volume dan komposisi kimia darah dengan mengekskresikan solut dan air secara selektif. Fungsi ginjal dapat dibedakan menjadi dua, yaitu fungsi ekskresi dan fungsi non ekskresi.

Fungsi ekskresi ginjal yaitu Mengekskresi sisa metabolisme protein, yaitu urea, kalium, fosfat, sulfat anorganik, asam urat dan kreatinin, mengatur keseimbangan cairan dan elektrolit, Menjaga keseimbangan asam dan basa.

Fungsi non ekskresi ginjal yaitu partisipasi dalam eritropoesis dan menghasilkan *eritropoetin* yang berperan dalam pembentukan sel darah merah, menghasilkan renin yang berperan penting dalam pengaturan tekanan darah, merubah vitamin D menjadi metabolit yang aktif yang membantu penyerapan kalsium, memproduksi hormon prostaglandin yang mempengaruhi pengaturan garam dan air serta mempengaruhi tekanan vaskuler.

2.1.3 Kerusakan pada ginjal

Gangguan pada komponen ginjal yang berarti penurunan atau tidak berfungsinya ginjal dapat menyebabkan efek sistemik, meliputi : *uremia*, hilangnya plasma protein, ketidakseimbangan air, elektrolit, dan asam basa serta retensi obat, (McGavin *et al.*, 2001).

Kapiler peritubular endothelium ginjal menghasilkan eritropoietin yang diperlukan untuk menstimulasi sumsum tulang untuk mengeluarkan sel darah merah. Sementara uremia membuat aktivitas pembuatan eritropoietin tertekan, dan kegagalan pada mekanisme ini akan menyebabkan terjadinya anemia normochromik normositer. Uremia juga menyebabkan waktu hidup sel darah merah menjadi pendek. Karena kurangnya penyangga asam dapat menyebabkan keadaan acidosis dan akhirnya terjadilah penurunan kadar hemoglobin (Robert, 1996)

Pada individu yang menderita penyakit ginjal, dapat terjadi penumpukan produk sisa yang menyebabkan terjadinya *uremia*. Apabila filter glomerulus mengalami kebocoran yang hebat, molekul protein yang besar yang akan terbuang

ke urin dan menyebabkan *protenuria*. Apabila terjadi kerusakan yang parah pada glomerulus, eritrosit dapat melewatinya sehingga terjadi *hematuria*.

Kerusakan glomerulus dapat digambarkan secara morfologi berupa proliferasi sel atau membran glomerulus, atau adanya infiltrasi leukosit. Secara fungsional berupa penurunan tekanan darah atau peningkatan permeabilitas pembuluh darah yang ditandai dengan bocornya sebagian besar plasma protein dan molekul besar plasma lainnya ke dalam filtrat glomerulus. Protein yang lolos dari glomerulus tidak dapat diserap sempurna oleh epitel-epitel tubulus sehingga terjadi penumpukan protein di lumen tubulus (Suyanti, 2008).

Kerusakan tubulus proksimal digambarkan lebih dari setengah tubulus proksimal menunjukkan nekrosis tubular akut dan deskuamasi, selain itu dapat berupa degenerasi serta atropi. Kerusakan fungsi tubulus dapat mengakibatkan kegagalan reabsorpsi dan kehilangan kompensasi untuk mengubah volume cairan tubuh, tekanan osmotik dan keadaan asam basa. Keadaan ini dapat mempengaruhi filtrat glomerulus seperti air, elektrolit, protein dan banyak zat-zat yang tidak terionisasi (Binjati, 2011). Gangguan pada interstisium secara umum biasanya berupa odema, hemoragi atau peradangan yang berupa infiltrasi netrofil (McGavin *et al.*, 2001).

2.2 Gagal Ginjal Akut (GGA)

Penyakit Gagal Ginjal adalah suatu penyakit dimana fungsi organ ginjal mengalami penurunan hingga akhirnya tidak lagi mampu bekerja sama sekali dalam hal penyaringan pembuangan elektrolit tubuh, menjaga keseimbangan

cairan dan zat kimia tubuh seperti sodium dan kalium di dalam darah atau produksi urin. Kegagalan ginjal dalam melaksanakan fungsi-fungsi vitalnya akan mengakibatkan keadaan yang disebut uremia atau penyakit ginjal stadium akhir, selain itu gagal ginjal juga menyebabkan ginjal kehilangan kemampuannya untuk mempertahankan volume dan komposisi cairan tubuh (Wilson, 1992 ; Brody *et al.*, 1994).

Gagal ginjal diklasifikasi menjadi dua yaitu kronik dan akut. Gagal ginjal akut (GGA) merupakan penurunan laju filtrasi glomerulus secara mendadak (dalam beberapa jam sampai beberapa hari) umumnya berlangsung reversibel, sehingga terjadi retensi sisa metabolisme seperti urea dan kreatinin, dengan atau tanpa oliguria (Rinawati dan Aulia, 2011).

Gagal ginjal akut adalah suatu keadaan fisiologik dan klinik yang ditandai dengan pengurangan tiba-tiba glomerular filtration rate dan perubahan kemampuan fungsional ginjal untuk mempertahankan eksresi air yang cukup untuk keseimbangan dalam tubuh, atau sindroma klinis akibat kerusakan metabolik atau patologik pada ginjal yang ditandai dengan penurunan fungsi yang nyata dan cepat serta terjadinya azotemia.

Etiologi GGA dapat diklasifikasikan menjadi 3 macam, pra-renal, renal (intrinsik) dan post-renal. GGA pra-renal merupakan akibat dari fungsi ginjal yang menurun (akibat hipovolemia, shock atau iskemia), yang mengarah ke penurunan *Glomerular Filtration Rate* (GFR). GGA renal (intrinsik) terjadi ketika ada kerusakan pada struktur nefron seperti glomerulus, tubulus, atau interstitium. Penyebab utama GGA adalah *Acute Tubular Necrosis* (ATN) yang dihasilkan

dari cedera iskemik atau nefrotoksik. GGA post-renal diakibatkan adanya obstruksi sistem pengumpulan kemih dengan peningkatan tekanan dalam sistem pengumpul ginjal sehingga GFR menurun dan gagal ginjal (Ibrahim dan Saleh, 2012).

Nefrotoksik pada GGA pada umumnya ditandai dengan penurunan laju filtrasi glomerulus dengan dihasilkannya azotaemia. Banyak peneliti menyatakan kejadian disfungsi ginjal umumnya akibat pemberian aminoglikosida. Gentamisin adalah antibiotik aminoglikosida berspektrum luas yang digunakan untuk melawan bakteri patogen gram positif dan negatif. Induksi gentamisin pada tikus menyebabkan gangguan fungsi ginjal melalui pembebasan *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS dapat menyebabkan kerusakan ginjal melalui toksisitas seluler dan langsung menyebabkan penyakit tubulointerstitial dan glomerulosclerosis. Sel tubulus proksimal adalah bagian ginjal yang berperan penting dalam penyakit ginjal progresif dengan mengatur akumulasi makrofag (Ibrahim dan Saleh, 2012).

2.3 Eritrosit, Hemoglobin dan Hematokrit

Eritrosit adalah sel gepeng berbentuk piringan yang dibagian tengah dikedua sisinya mencengkung, seperti sebuah donat dengan bagian tengah menggepeng bukan berlubang (eritrosit adalah lempeng bikonkaf dengan garis tengah 8 μ m, tepi luar tebalnya 2 μ m dan bagian tengah bagiannya 1 μ m) (Sherwood, 2001).

Ciri lain dari eritrosit yang mempermudah fungsi transportasi adalah kelenturan (fleksibilitas) membran mereka, yang memungkinkan eritrosit berjalan melalui kapiler yang sempit dan berkelok-kelok untuk menyampaikan kargo O₂ mereka ke jaringan tanpa mengalami ruptur dalam prosesnya. Sel darah merah, yang garis tengahnya dalam keadaan normal adalah 8 μm , mampu mengalami deformasi pada saat mereka menyelinap satu persatu melalui kapiler yang bahkan bergaris tengahnya hanya 3 μm (Sherwood, 2001).

Eritrosit (sel darah merah) memiliki fungsi khusus mengangkut O₂ dalam darah. Eritrosit tidak memiliki nucleus, organel, atau ribosom, tetapi dipenuhi oleh hemoglobin, yang molekul mengandung besi yang dapat berikatan dengan O₂ secara reversibel. Karena O₂ larut dalam darah, hemoglobin merupakan pengangkut satu-satunya O₂ dalam darah. Hemoglobin juga berperan dalam transportasi CO₂ dan sebagai penyangga darah dengan berikatan secara reversibel dengan CO₂ dan H⁺ (Sherwood, 2001). Karena tidak mampu menggantikan komponen-komponennya, eritrosit memiliki usia yang terbatas, yaitu sekitar 120 hari.

Sel-sel yang belum berdiferensiasi di sumsum tulang membentuk semua unsure sel darah. Produksi eritrosit (eritropoiesis) oleh sumsum tulang dalam keadaan normal seimbang dengan kecepatan lenyapnya eritrosit, sehingga hitung sel darah merah konstan. Eritropoiesis dirangsang oleh eritropoietin, hormon yang dikeluarkan ginjal sebagai respons terhadap penurunan penyaluran O₂ (Sherwood, 2001).

Kapiler peritubular endothelium ginjal menghasilkan eritropoietin yang diperlukan untuk menstimulasi sumsum tulang untuk mengeluarkan sel darah merah. Sementara uremia membuat aktivitas pembuatan eritropoietin tertekan, dan kegagalan pada mekanisme ini akan menyebabkan terjadinya anemia normochromik normositer. Uremia juga menyebabkan waktu hidup sel darah merah menjadi pendek. Karena kurangnya penyangga asam dapat menyebabkan keadaan acidosis dan akhirnya terjadilah penurunan kadar hemoglobin (Robert, 1996)

Anemia sendiri adalah suatu kondisi dimana tubuh tidak memproduksi sel darah merah dalam kadar yang cukup. Hal ini dapat dinilai dari kadar hemoglobin atau sel darah merah pasien yang berada dalam nilai dibawah normal melalui pemeriksaan laboratorium dengan mengambil sampel darah. Hemoglobin adalah suatu protein yang mengikat oksigen dan mengangkutnya dari paru-paru keseluruh tubuh. Nilai normal untuk Hb secara umum adalah dalam kisaran 11.5s/d 17 gram/dl. Bila kadar Hb berkurang karena menurunnya sel darah merah maka akan timbul gejala-gejala anemia. (Guyton, 1990).

Anemia pada penyakit ginjal kronis disebabkan oleh beberapa hal diantaranya adanya penurunan fungsi hormon eritropoietin akibat kerusakan ginjal, perdarahan hebat, kekurangan zat besi, umur sel darah merah yang pendek, kekurangan asamfolat, dan kekurangan Vit. B12 serta adanya penekanan fungsi sumsum tulang.(Guyton, 1990).

Salah satu fungsi ginjal adalah menghasilkan hormon eritropoietin yang berguna untuk memproduksi sel-sel darah merah dan menjaga keseimbangan

kadar oksigen dalam darah. Pada pasien dengan penurunan fungsi ginjal maka produksi hormon eritropoetin ini menjadi berkurang, selain itu juga terjadi gangguan fungsi sumsum tulang yang mempengaruhi produksi sel-sel darah merah sehingga terjadi anemia (Sherwood, 2001).

Hematokrit merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan apakah jumlah sel darah merah terlalu tinggi, terlalu rendah atau normal. Hematokrit sejatinya merupakan ukuran yang menentukan seberapa banyak jumlah sel darah merah dalam satu mililiter darah atau dengan kata lain perbandingan antara sel darah merah dengan komponen darah yang lain (Ibrahim, 1992).

2.4 Delima (*Punica granatum* Linn)

2.4.1 Klasifikasi dan tinjauan umum

Buah delima (*Punica granatum*) adalah semak atau pohon kecil yang tingginya bisa mencapai 8 meter (sebagian besar jauh lebih kecil) di daerah tropis dan subtropis dari dataran rendah sampai dengan ketinggian hingga 1.000 meter di atas permukaan laut. Daunnya tunggal, kecil, sempit, lonjong, dan bertangkai pendek. Batang pohon delima berkayu, percabangannya banyak, lemah, berwarna coklat ketika masih muda, dan hijau kotor setelah tua. Tanaman ini dapat hidup selama 200 tahun (Glozer dan Ferguson, 2008).

Klasifikasi delima adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta

Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Myrtales
Famili	: Lythraceae
Genus	: <i>Punica</i>
Spesies	: <i>P. granatum L.</i>

Delima memiliki sebutan yang berbeda-beda tergantung dari daerah mana buah berasal. Beberapa nama untuk delima adalah :

Inggris	: <i>Wild pomegranate</i>
Sumatera	: Glima (Aceh) Glimau mekah (Gayo) Dalimo (Batak) Delima (Melayu)
Jawa	: Dlima (Jawa Tengah) Dhalima (Madura)
Nusa Tenggara	: Jeliman (Sasak) Talima (Bima) Dila daelak (Roti) Lekokase (Timor)



Gambar 2.2 *Punica granatum Linn*
(Budka, 2008)

Tanaman delima memiliki satu hingga lima bunga dalam tiap ranting. Bunga tanaman delima berwarna merah, putih atau ungu yang berbunga sepanjang tahun. Buah delima berbentuk bulat dengan warna kulit hijau keunguan, putih, coklat kemerahan atau ungu kehitaman. Biji buah delima berjumlah sangat banyak, kecil, berbentuk bulat panjang agak pipih, keras dan berwarna merah atau putih (Lansky dan Newman, 2007).

2.4.2 Bahan aktif delima

Buah delima telah dikenal memiliki berbagai kandungan yang bermanfaat untuk kesehatan. Bahan aktif yang terdapat buah delima adalah *punicalagin*, *ellagic acid*, *ellagitannin*, *tannin*, *anthocyanin*, *caffeic acid*, *luteolin*, *punicic acid*, *gallic acid*, *punicotannin acid*, *mannite*, *pelletierine*, *N-methylisopelletierine*, *pelargonidin*, *punicalin*, *punicalagin*, *syringic acid*, *sinapic acid*, *protocatechuic acid*, *ferulic acid*, *3,4-dihydroxy-phenylacetic acid* (PPA), *quercetin* dan *kaempferol* (Jurenka, 2008).

Flavonoid yang terkandung dalam delima telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan dengan melindungi membran sel dari pengaruh radikal bebas. Senyawa yang termasuk *flavonoid*, yaitu *luteolin*, *quercetin*, dan *kaempferol* banyak ditemukan pada kulit delima, sedangkan *anthocyanidins* banyak ditemukan pada bijinya (Seeram *et al.*, 2006)

Punicalagin, merupakan salah satu senyawa *ellagitannins* yang banyak ditemukan pada selaput buah dan batang delima. *Punicalagin* yang terkandung dalam jus delima memiliki aktivitas antioksidan hingga 89%. Walaupun tidak dapat langsung diabsorpsi oleh tubuh karena ukurannya yang besar, *punicalagin*

akan mengalami hidrolisis di dalam usus sebelum diabsorpsi. Proses hidrolisis yang ditandai dengan pembentukan *ellagic acid* ini akan menyebabkan konsentrasi *ellagic acid* yang stabil dalam darah hingga lebih dari enam jam setelah pemberian (Zhang *et al.*, 2009).

Ellagic acid yang terbentuk akan dimetabolisme menjadi urolithin sekitar 12 jam setelah diabsorpsi dan urolithin dapat dideteksi dalam darah dan urin hingga 48 jam setelah pemberian dosis tunggal. Kandungan *ellagic acid* di dalam produk yang berasal dari delima digunakan sebagai standart untuk menjamin bahwa produk tersebut mengandung ekstrak buah delima yang asli (Zhang *et al.*, 2009).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Devipriya (2007), *ellagic acid* dosis 60 mg/kg bb merupakan dosis optimal dalam menunjukkan aktifitas antioksidan terhadap nefrotoksisitas pada tikus percobaan. Penelitian terhadap hepatoprotektif *ellagic acid* juga menunjukkan bahwa konsumsi *ellagic acid* dapat meningkatkan kemampuan jaringan hati untuk melakukan detoksifikasi terhadap intermediet reaktif (Seeram *et al.*, 2005). Fungsi lain dari *ellagic acid* adalah sebagai bahan yang mampu melindungi kerusakan sel karena radikal bebas. Kemampuan ini akan secara sinergis mengalami peningkatan apabila dikombinasi dengan komposisi lain buah delima yang juga merupakan antioksidan yang cukup kuat, yaitu *Anthocyanidin* (Seeram *et al.*, 2005; Lansky dan Newman, 2007).

Buah delima juga mengandung gizi dan nutrisi lainnya yaitu : karbohidrat, gula, diet serat, lemak, protein, vitamin A, thiamine, riboflavin, niacin, asam

pantotenat, vitamin B₆, folat, vitamin C, vitamin E, kalsium, besi, magnesium, fosfor, kalium, seng, potasium, dan asam folat (Eksi dan Ozhamamci, 2009).

Vitamin adalah kelompok nutrien organik yang dibutuhkan dalam jumlah kecil untuk berbagai fungsi biokimia dan kandungannya dalam buah delima cukup kompleks. Vitamin A dalam buah delima berperan penting dalam deferensiasi sel, vitamin D adalah prohormon steroid yang menghasilkan hormon aktif turunan kalsitriol untuk mengatur metabolisme kalsium dan fosfat, vitamin E (*tokoferol*) adalah antioksidan yang paling penting dalam tubuh yang bekerja pada fase lipid di membran sebagai pelindung terhadap efek radikal bebas. Vitamin C memiliki peranan khusus dalam hidrosilase yang mengandung tembaga dan hidrosilase yang mengandung besi terkait *a-ketoglutarat* , serta meningkatkan aktifitas beberapa enzim lain secara *in vitro* . Vitamin K berfungsi sebagai kofaktor untuk karboksilase yang bekerja pada residu glutamate protein prekursor (Murray, 2006).

2.4.3 Aktivitas antioksidan

Beberapa pembahasan tentang mekanisme terjadinya penyakit, menyatakan bahwa stres oksidatif dan radikal bebas sangat berpengaruh terhadap keberadaannya. Stres oksidatif (*oxidative stress*) adalah ketidakseimbangan antara radikal bebas (pro-oksidan) dan antioksidan yang dipicu oleh dua kondisi umum yaitu kurangnya antioksidan dan kelebihan produksi radikal bebas. Keadaan stres oksidatif membawa pada kerusakan oksidatif mulai dari tingkat sel, jaringan hingga ke organ tubuh dan menyebabkan munculnya beberapa penyakit. Kekurangan zat gizi dan adanya senyawa xenobiotik dari makanan atau

lingkungan yang terpolusi akan memperparah keadaan yang disebabkan oleh stres oksidatif. Peningkatan produksi radikal bebas dapat menyebabkan kelainan pada berbagai organ target misalnya pada ginjal (Hanifah, 2008).

Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektron kepada senyawa oksidan, dalam hal ini radikal bebas, sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat. Antioksidan sekunder (eksogen), yang diperankan oleh asupan bahan makanan, bekerja dengan menangkap radikal bebas (*free radical scavenger*), kemudian mencegah reaktivitas amplifikasinya. Antioksidan primer (endogen), yang diperankan oleh enzim dalam tubuh, menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara memutus reaksi berantai (*chain breaking antioxidant*), kemudian mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil (Winarsi, 2007).

Pada umumnya, buah delima memiliki aktivitas antioksidan terbaik dan memiliki korelasi linear yang signifikan antara konsentrasi fenolat dan kapasitas antioksidan. Miguel *et al* (2010), menunjukkan koefisien korelasi fenol total dan flavonoid total terhadap aktivitas antioksidan yang diukur dengan metode 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) atau ABTS dan metode 2,2-diphenil-1 pikrilhidrazin atau DPPH. Delima cocok untuk pengolahan makanan dengan penggunaan perangkat termal, karena resistensi panasnya. Sehingga produk sampingan dari pengolahan buah dapat menjadi sumber antioksidan alami menggantikan antioksidan sintetis. Variasi dalam beberapa komposisi kimianya (lipid, fenol, asam organik, vitamin, gula) dan komposisi antioksidan dari sampel buah delima, terlihat saat pemeriksaan antioksidan dilakukan. Musim panen juga

berpengaruh penting pada konten fenolik serta pada aktivitas antioksidan (Miguel *et al*, 2010).

Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa kulit, biji, jus delima memiliki aktivitas antioksidan, terutama kandungan *punicalagin* dan *ellagic acid* yang dimetabolisme oleh bakteri usus menjadi urolithin, yang siap masuk sistem sirkulasi. Bialonska *et al*, telah mempelajari aktivitas antioksidan dari tujuh turunan urolithins dalam uji berbasis sel. Aktivitas antioksidan dievaluasi dalam lingkungan selular dan berperan dalam hal penghambatan generasi intraseluler *Reactive Oxygen Species* (ROS). Urolithins menunjukkan aktivitas antioksidan yang berkorelasi signifikan dengan jumlah gugus hidroksil serta lipofilisitas dari molekul (Miguel *et al*, 2010).

2.5 Hewan Model (*Rattus norvegicus*)

Rattus norvegicus (tikus putih) sering disebut sebagai tikus laboratorium. Secara fisik, ukuran badan jantan biasanya lebih besar daripada betina. Menurut Wilson dan Reeder (1993) taksonomi tikus adalah :

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Subfilum : Vertebrata
Kelas : Mamalia
Subkelas : Theria
Ordo : Rodensia
Subordo : Sciurognathi

Famili : Muridae
Subfamili : Murinae
Genus : *Rattus*
Spesies : *Rattus norvegicus*

Tikus adalah model yang paling umum digunakan dalam penelitian penyakit ginjal dan kardiovaskular. Termasuk jenis *Wistar*, *Sprague Dawley*, *Fawnhooded*, *Fisher* dan *Lewis*. Keuntungan menggunakan model tikus adalah murah dan memiliki periode kehamilan pendek (59-72 hari), yang berarti ukuran sampel yang besar dapat dicapai dalam waktu singkat (Grossman, 2010).

Keunggulan lainnya yaitu : siklus hidupnya yang relatif pendek, mudah diperoleh karena dapat berkembangbiak dengan cepat, jenis hewan ini berukuran kecil sehingga pemeliharaannya relatif mudah dan merupakan hewan yang sehat dan cocok untuk berbagai penelitian. Tikus putih juga mudah diperoleh dalam jumlah banyak, mempunyai respon yang cepat, harganya relatif murah, serta sifat anatomis dan fisiologisnya terkarakterisasi dengan baik (Malole dan Pramono, 1989).

2.6 Gentamicin

Gentamisin merupakan suatu antibiotika golongan aminoglikosida yang efektif untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri gram negatif yang sensitif antara lain *Proteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*, *Serratia*, *E.Coli*, *Enterobacter* dan lain-lain (Neal, 2005).

Gentamisin aminoglikosida diisolasi dari *Micromonospora Purpurea*, berbentuk serbuk putih kekuningan, mudah larut dalam air, praktis tidak larut dalam etanol 95%. Gentamisin menyebabkan efek samping berupa nefrotoksisitas, hipersensitifitas, dan ototoksisitas. Nefrotoksisitas pada umumnya menimbulkan kerusakan ringan pada ginjal, walaupun seringkali terdapat adanya nekrosis tubular akut dan nefritis interstitial. Penurunan laju filtrasi glomerulus terjadi setelah beberapa hari dan terus berlangsung meskipun penggunaannya telah dihentikan. Faktor – faktor yang mempengaruhi nefrotoksisitas adalah umur, insufisiensi renal, total dosis perhari, dosis kumulatif adanya obat – obat nefrotoksik yang diberikan secara bersamaan, jenis kelamin, dan lama pengobatan.

Gentamisin menyebabkan nefrotoksik dengan cara menghambat sintesis protein pada sel tubulus proksimal ginjal sehingga terjadi nekrosis tubular akut yang mengakibatkan gagal ginjal akut, Gentamicin merupakan salah satu penyebab paling umum terjadinya gagal ginjal akut (GGA) dengan peningkatan morbiditas dan mortalitas yang tinggi (Singh *et al.*, 2012).

Menurut Advagic *et al.* (2008) pemberian gentamisin 80 mg/kg bb secara intraperitoneal terhadap tikus putih selama 7 hari menyebabkan GGA . Dosis tinggi gentamisin (2,5 mg/kg, secara intramuskular setiap 12 jam selama 7 hari) dapat mengakibatkan nefrotoksisitas. Hal ini telah dilaporkan sebanyak 30% dari pasien yang diobati dengan gentamisin lebih dari 7 hari menunjukkan gejala nefrotoksisitas.

Mekanisme gagal ginjal terjadi ketika aminoglikosida polikationik pada gentamisin menuju sel tubulus proksimal dengan mengikat fosfolipid bermuatan negatif, kemudian ditransfer secepatnya menuju protein transmembran. Setelah terjadi internalisasi melalui endositosis, aminoglikosida diangkut ke lisosom dan berikatan dengan asam fosfolipid dalam lipid bilayer, sehingga menyebabkan berkurangnya aktivitas fosfolipase dan memproduksi fosfolipid metabolit. Faktor-faktor lain yang berkontribusi terhadap patogenesis nefrotoksisitas gentamisin antara lain generasi anion superoksida dan radikal hidroksil, perubahan antioksidan sistem pertahanan, terjadinya penurunan *glutathione*, inhibisi Na⁺, K⁺, ATPase, pembukaan permeabilitas transisi pori mitokondrial dan aktivasi sistem *renin-angiotensin* (Singh *et al.*, 2012).

Untuk mengetahui lebih dalam keseluruhan mekanisme patofisiologi dalam nefrotoksisitas akibat induksi gentamisin, serta dalam pendekatan terapeutik baru, banyak penelitian eksperimental tentang *Acute Tubular Necrosis* (ATN). Gentamisin juga menghasilkan edema interstitial dan nekrosis epitel (Avdagic *et al.*, 2008).

Reactive Oxygen Species (ROS) adalah mediator potensial yang terlibat dalam induksi gentamisin pada kerusakan ginjal. ROS dapat mengubah konstituen selular dasar dan organel ginjal. Seperti induksi oksidan dapat mempengaruhi perubahan vitalitas selular. ROS merusak molekul protein enzimatik dan struktural melalui beberapa mekanisme (Advagic *et al.*, 2008).

BAB 3 MATERI DAN METODE

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Persiapan hewan model dan pemeliharaannya dilakukan di Ruang Hewan Coba Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, jl. Mayjen. Prof. Dr. Moestopo Surabaya. Penimbangan bahan sediaan percobaan dilakukan di Laboratorium Pakan Ternak Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Kampus C Surabaya. Pemeriksaan Hematokrit, Eritrosit dan Hemoglobin menggunakan alat yang bernama *Roller Mixer* dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya, jl. Karangmenjangan no. 18 Surabaya.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar, dengan umur antara 2 - 3 bulan dengan berat berkisar antara 150-200 gram.

3.2.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan adalah: spuit 5 ml, spuit 10 ml, meja operasi, baki plastik, kandang pemeliharaan, spidol, plastik, kertas stiker, tabung reaksi, alat Fotometer *Roller Mixer*, tempat pakan dan minum, sekam untuk alas kandang, kapas, kasa steril, mortir, dan *feeding tube* nomor 5.

3.2.3 Bahan Penelitian

Penelitian ini menggunakan ekstrak buah delima terstandar yang mengandung 40% *ellagic acid* dan *ellagic acid* murni (*Xi'an Biof Bio-Technology Co., Ltd.*), gentamisin (*One Med*), alkohol 70% (*One Med*), aquadest, CMC Na 0,3%, acepromazine (*One Med*), dan ketamin (*One Med*).

3.2.4 Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah darah sebanyak 3 ml dari 24 ekor tikus putih jantan. Dengan jumlah ulangan menggunakan rumus Federer berikut :

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

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

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Keterangan :

n = banyaknya ulangan pada masing – masing kelompok

t = banyaknya perlakuan

Untuk kelompok yang berpasangan dengan t = 4 maka dengan rumus diatas diperoleh nilai $n \geq 6$ (Kusriningrum, 2011).

3.2.5 Variabel Penelitian

Dalam penelitian ini variabel yang digunakan adalah :

1. Variabel bebas : Perlakuan pemberian *ellagic acid* murni dan ekstrak buah delima terstandar 40% *ellagic acid*
2. Variabel tergantung : Nilai Hematokrit, Eritrosit dan Hemoglobin tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*)
3. Variabel terkontrol : Jenis hewan coba, umur hewan coba, berat badan hewan coba, tatalaksana pemeliharaan, dan prosedur persiapan hewan model.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Persiapan Sediaan Uji

Sediaan selalu dibuat baru sebelum diberikan pada tikus putih. Pembuatan CMC Na 0,3 % dilakukan dengan cara mengencerkan CMC Na 0,3 gram dalam 100 ml aquadest hangat dan dibagi dalam kontiner untuk 4 perlakuan masing – masing 20 ml. *Ellagic acid* dan ekstrak buah delima terstandar yang diberikan pada tikus putih sebelumnya disuspensikan dengan *Carboxy methyl cellulose* (CMC) Na 0,3% di dalam mortir agar terjaga homogenitas larutannya. Setelah sediaan homogen, dimasukkan dalam spuit yang telah ditandai P0, P1, P2, P3 dan siap diberikan secara per oral pada tikus putih.

3.3.2 Persiapan dan Perlakuan terhadap Hewan Coba

Hewan coba yang akan digunakan adalah 24 ekor tikus putih jantan galur wistar umur 2-3 bulan dengan berat antara 150 – 200 gram, diadaptasikan selama

satu minggu dan diperlakukan serta dibagi menjadi empat kelompok, yaitu P0, P1, P2, dan P3 yang setiap kelompok perlakuan terdiri dari enam ulangan.

3.3.3 Prosedur Pelaksanaan Penelitian

Sebanyak 24 ekor hewan coba diadaptasi selama tujuh hari dan selama penelitian berlangsung diberi pakan dan minum secara *ad libitum*. Sebelum perlakuan dimulai, keseluruhan hewan coba telah ditimbang dan dibagi menjadi empat kelompok perlakuan dengan masing-masing terdiri dari enam ekor tikus putih.

1. P0 : Kelompok tikus putih yang diberi CMC Na 0,3 % dan NaCl fisiologis dengan volume maksimal 2 ml secara per oral sebagai kontrol negatif
2. P1 : Kelompok tikus putih yang diberi CMC Na 0,3 % dengan volume maksimal 2 ml per tikus secara per oral dan gentamisin dengan dosis 80 mg/kg bb secara intraperitoneal
3. P2 : Kelompok tikus putih yang diberi *ellagic acid* murni dengan dosis 60 mg/kg bb dalam CMC Na 0,3 % dengan volume maksimal 2 ml per tikus secara per oral dan gentamisin dengan dosis 80 mg/kg bb secara intraperitoneal
4. P3 : Kelompok tikus putih yang diberi ekstrak buah delima terstandar 40% *ellagic acid* dengan dosis 150 mg/kg bb dalam CMC Na 0,3 % dengan volume maksimal 2 ml per tikus secara per oral dan gentamisin 80 mg/kg bb secara intraperitoneal

Catatan :

Dosis *ellagic acid* murni yang diberikan adalah 60 mg/kgbb/p.o/hari, diberikan selama 7 hari. Maka dosis ekstrak buah delima yang memiliki kandungan 40% *ellagic acid* adalah 150 mg/kgbb/p.o/hari selama 7 hari. Dosis gentamisin yang diberikan adalah 80 mg/kgbb/i.p/hari, diberikan selama 7 hari.

3.3.4 Pengambilan Sampel

Sebelum melakukan pengambilan darah, hewan coba dianestesi dengan menggunakan kombinasi *acepromazine* dosis 2 mg/ml dan ketamin dosis 100 mg/ml dengan perbandingan 1 : 1 yang diberikan sebanyak 0,2 ml per ekor secara intra peritoneal. Sampel darah diambil secara intrakardial yang sebelumnya sudah dilakukan insisi pada daerah thorak, dan dalam keadaan jantung masih berdenyut. Darah yang diambil sebanyak 3 ml disimpan di dalam tabung reaksi yang sudah berisi EDTA sebagai antikoagulan dan ditutup dengan sumbat karet. Pengambilan dan penyimpanan darah dilakukan secara hati – hati.

3.3.5 Pemeriksaan Sampel

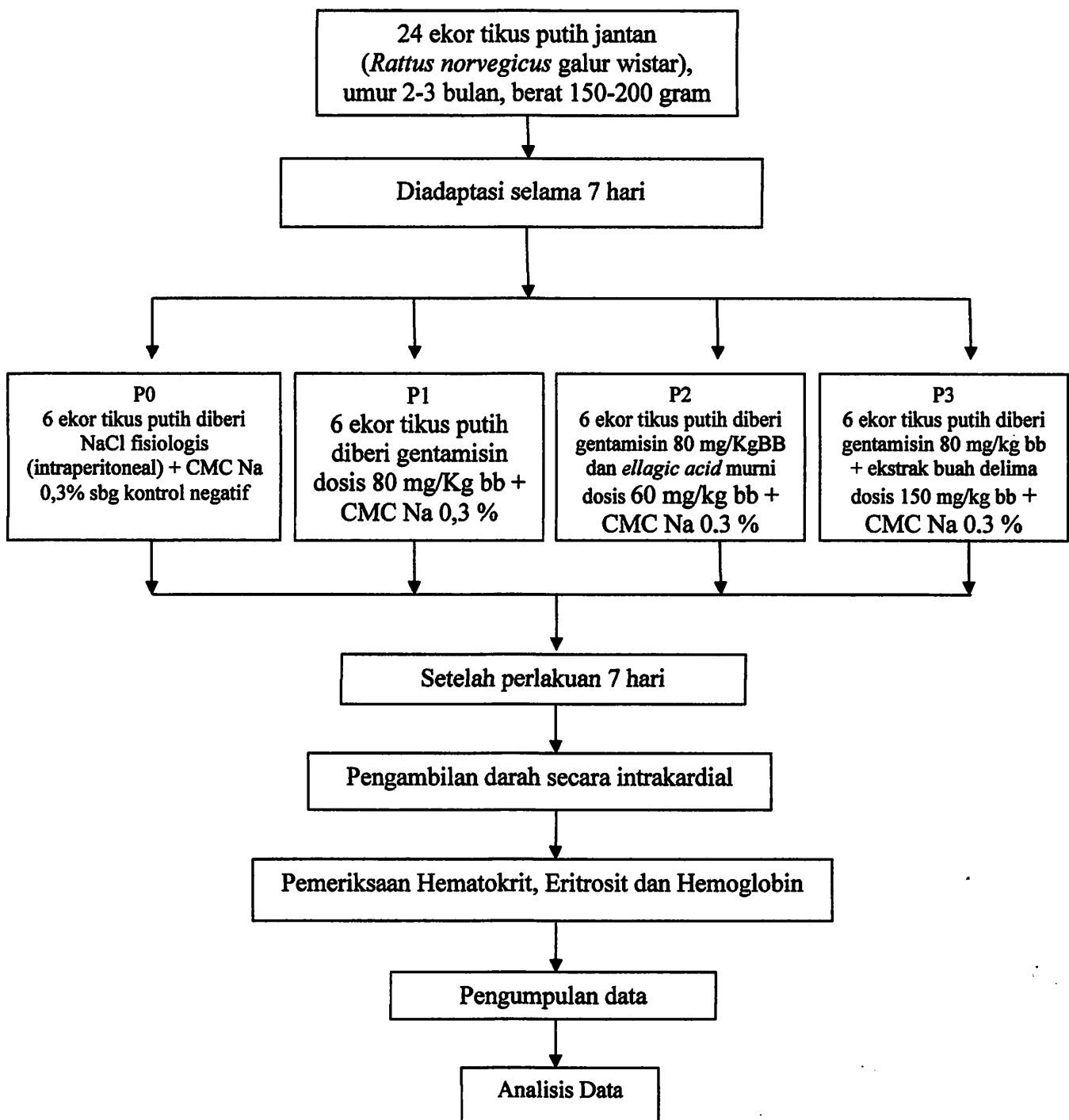
Darah yang telah diambil dari tikus putih ditampung dalam tabung reaksi yang sudah berisi EDTA untuk diperiksa di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya. Pemeriksaan yang digunakan adalah pemeriksaan Hematokrit, Eritrosit dan Hemoglobin menggunakan *Roller Mixer* dengan metode *Fotometer*. Tabung reaksi yang berisi darah dan EDTA kemudian di masukan ke dalam alat yang bernama *Roller Mixer* kemudian nilai Hematokrit, Eritrosit dan Hemoglobin ditunjukkan dalam bentuk *print out*.

3.3.6 Analisis Data

Hasil penelitian disajikan dalam bentuk tabel berupa nilai rata – rata dan simpangan baku. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap variabel nilai Hematokrit, Eritrosit dan Hemoglobin data diolah menggunakan *SPSS 18 for Windows* dengan *Analysis of Variance (ANOVA)*. Hasil dinyatakan signifikan jika $F_{hitung} > F_{table}$ atau $p < 0,05$. Jika hasil berbeda nyata, maka dilakukan Uji Jarak Duncan (Kusriningrum, 2011).

3.3.7 Kerangka Operasional Penelitian

Untuk mempermudah proses pengerjaan, penulis membuat kerangka operasional penelitian seperti tampak pada Gambar 3.1



Gambar 3.1 Kerangka Operasional Penelitian

BAB 4 HASIL PENELITIAN

Hasil pemeriksaan nilai hematokrit, eritrosit dan hemoglobin dengan metode *fotometer* dengan menggunakan alat *Roller Mixer* di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya terhadap 24 ekor tikus putih yang dibagi dalam empat perlakuan dan 6 ulangan, yaitu P0 dengan pemberian CMC Na sebagai kontrol, P1 dengan pemberian gentamisin dan CMC Na, P2 dengan pemberian gentamisin, CMC Na dan *ellagic acid*, P3 dengan pemberian gentamisin, CMC Na dan ekstrak buah delima, kemudian diolah menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA).

4.1. Pemeriksaan Nilai Hematokrit Tikus Putih

Hasil perhitungan statistik nilai hematokrit ditunjukkan dalam Tabel 4.1

Tabel 4.1. Rata-rata dan Simpangan Baku Nilai Hematokrit Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) setelah perlakuan

Perlakuan	Nilai hematokrit (%) ($\bar{X} \pm SD$)
P0	38,350 ^a ± 1,5463
P1	34,900 ^b ± 2,1100
P2	34,317 ^b ± 1,4219
P3	34,750 ^b ± 2,2079

Keterangan : Tanda superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)

Berdasarkan hasil penelitian pada Table 4.1 diketahui bahwa kelompok kontrol (P0) menunjukkan perbedaan nyata dengan kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3), ($p < 0,05$) sedangkan diantara ketiga kelompok perlakuan menunjukkan tidak adanya perbedaan nyata. ($p > 0,05$) karena P1 memiliki rata rata 34,900, P2 memiliki rata rata 34,317 dan P3 memiliki rata rata 34,750. Karena standart nilai hematikrit tikus putih adalah 36% sampai 52% (Aboderin,

2006). Nilai rata rata P0, P1, dan P3 masih mendekati normal dan tidak menunjukkan penurunan yang setnifikan.

4.2 Pemeriksaan Eritrosit Tikus Putih

Hasil perhitungan statistik Eritrosit ditunjukkan dalam Tabel 4.2

Tabel 4.2 Rata-rata dan Simpangan Baku Eritrosit Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) setelah perlakuan

Perlakuan	Eritrosit ($\times 10^6/\mu\text{L}$) ($\bar{X} \pm \text{SD}$)
P0	7,0433 ^a \pm 0,36626
P1	6,4133 ^b \pm 0,20216
P2	6,5267 ^b \pm 0,44751
P3	6,2900 ^b \pm 0,50176

Keterangan : Tanda superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)

Berdasarkan hasil penelitian pada table 4.2 diketahui bahwa kelompok kontrol (P0) menunjukkan perbedaan nyata dengan kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3), ($p < 0,05$) sedangkan diantara ketiga kelompok perlakuan menunjukkan tidak adanya perbedaan nyata. ($p > 0,05$) karena P1 memiliki rata rata 6,4133, P2 memiliki rata rata 6,5267 dan P3 memiliki rata rata 6,2900. Karena standart eritrosit tikus putih adalah $5 \times 10^6/\mu\text{L}$ sampai $12 \times 10^6/\mu\text{L}$ (Schermer 1967) Nilai rata rata P0, P1, dan P3 masih mendekati normal dan tidak menunjukkan penurunan.

4.3 Pemeriksaan Hemoglobin Tikus Putih

Hasil perhitungan statistik Hemoglobin ditunjukkan dalam Tabel 4.3

Tabel 4.3 Rata-rata dan Simpangan Baku Hemoglobin Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) setelah perlakuan

Perlakuan	Hemoglobin (g/dL) ($\bar{X} \pm SD$)
P0	11,900 ^a \pm 0,4775
P1	10,850 ^b \pm 0,6745
P2	10,800 ^b \pm 0,6261
P3	10,767 ^b \pm 0,6250

Keterangan : Tanda superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)

Berdasarkan hasil penelitian pada table 4.3 diketahui bahwa kelompok kontrol (P0) menunjukkan perbedaan nyata dengan kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3), ($p < 0,05$) sedangkan diantara ketiga kelompok perlakuan menunjukkan tidak adanya perbedaan nyata. ($p > 0,05$) karena P1 memiliki rata rata 10,850, P2 memiliki rata rata 10,800 dan P3 memiliki rata rata 10,767. Karena standart nilai hematikrit tikus putih adalah 11,5g/dL sampai 17g/dL (Leeson at all, 1990). Nilai rata rata P0, P1, dan P3 masih mendekati normal dan tidak menunjukan penurunan yang setnifikan.

BAB 5 PEMBAHASAN

Pada hasil pemeriksaan nilai hematokrit, eritrosit dan hemoglobin tikus putih didapatkan bahwa pemberian ekstrak buah delima tidak berpengaruh positif terhadap nilai hematokrit, eritrosit dan hemoglobin tikus putih yang mengalami gagal ginjal akut. Hasil analisis statistik data nilai hematokrit, eritrosit dan hemoglobin antara kelompok perlakuan P1, P2, P3 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), tetapi kelompok perlakuan P1, P2, dan P3 berbeda nyata terhadap kelompok kontrol P0 ($p < 0,05$). Penurunan nilai hematokrit, eritrosit dan hemoglobin ditunjukkan pada kelompok P1, P2 dan P3, di karenakan kelompok tersebut mengalami induksi gentamicin, pada P1, P2 dan P3 mencerminkan terjadinya penurunan laju filtrasi glomerulus karena gentamisin telah memasuki sel ginjal khususnya sel-sel epitel tubulus proksimal, menyebabkan gangguan fungsi dan metabolisme membran intraseluler dan merusak sel epitel tubular proksimal ginjal hingga menyebabkan gagal ginjal akut. Dengan demikian kelebihan cairan tidak dapat disekresikan atau dikeluarkan secara efisien melalui ginjal (Padmini and Kumar, 2012).

Pada P1, P2 dan P3 nilai hematokritnya menurun hal ini terjadi karena menurunan fungsi ginjal dan menyebabkan produksi eritropoetin menurun, Pada penderita gangguan fungsi ginjal daya kerja ginjal akan mengalami penurunan atau defisiensi, sehingga akan berpengaruh terhadap fisiologis dari hormon eritropoietin terutama yang disintesis oleh ginjal (Robert, 1996).

Salah satu fungsi ginjal adalah menghasilkan hormon eritropoietin yang berguna untuk memproduksi sel-sel darah merah dan menjaga keseimbangan kadar oksigen dalam darah. Pada pasien dengan penurunan fungsi ginjal maka produksi hormon eritropoietin ini menjadi berkurang, selain itu juga terjadi gangguan fungsi sumsum tulang yang mempengaruhi produksi sel-sel darah merah sehingga terjadi anemia (Sherwood, 2001). Dalam penelitian ini nilai hematokrit pada P0 : $38,35 \pm 1,5$, P1 : $34,9 \pm 2,1$, P2 : $34,31 \pm 1,4$ dan P3 : $34,75 \pm 2,2$, sedangkan nilai hematokrit dalam kisaran normal yaitu 36% - 53% (Aboderin, 2006)

Nilai eritrositnya P0 : $7,04 \pm 0,3$, P1 : $6,41 \pm 0,2$, P2 : $6,52 \pm 0,4$ dan P3 : $6,29 \pm 0,5$ dilihat dari penurunan jumlah eritrosit masih normal karena jumlah eritrosit dalam kisaran normal yaitu $5 \times 10^6/\mu\text{L}$ sampai $12 \times 10^6/\mu\text{L}$ (Schermer, 1967) sehingga tidak terjadi anemia, Anemia sendiri adalah suatu kondisi dimana tubuh tidak memproduksi sel darah merah dalam kadar yang cukup. Hal ini dapat dinilai dari kadar hemoglobin atau sel darah merah pasien yang berada dalam nilai dibawah normal melalui pemeriksaan laboratorium dengan mengambil sampel darah. Hemoglobin adalah suatu protein yang mengikat oksigen dan mengangkutnya dari paru-paru keseluruh tubuh. Nilai normal untuk Hb tikus putih secara umum adalah dalam kisaran 11.5s/d 17 gram/dl (Leeson at all, 1990) Bila kadar Hb berkurang karena menurunnya sel darah merah maka akan timbul gejala-gejala anemia (Guyton, 1990). Pada P1, P2 dan P3 nilai Hb mendekati angka 11,5gram/dl yakni P1: 10,850gram/dl, P2: 10,800gram/dl dan P3: 10,767gram/dl.

Walaupun dari hitungan statistik tidak berbeda nyata, tetapi pada penelitian yang sama di mana di lakukan evaluasi terhadap fungsi ginjal (Bun dan keratinin serum), gambaran histopatologi ginjal, kadar kalium dan natrium, pada penelitian yang sama di lihat dari kadar Blood Urea Nitrogen (BUN) dan kadar kreatinin serum terhadap keempat kelompok perlakuan terlihat bahwa terdapat perbedaan yang nyata diantara masing-masing kelompok perlakuan, di mana perlakuan yang diberi ekstrak buah delima memberikan efek yang baik, dan nilai rata rata kadar Bun dan kratinin mendekati normal (Pujiastuti, 2013)

Gambaran histopatologi pada penelitian yang sama berdasarkan perhitungan statistik yang telah didapat diketahui bahwa antara masing-masing perlakuan terdapat perbedaan yang nyata pada histopatologi sel epitel tubulus proksimal ginjal tikus. Antara perlakuan P2 yang diberi *ellagic acid* murni dan P3 yang diberi ekstrak buah delima terstandart 40% *ellagic acid* menunjukkan hasil bahwa kedua perlakuan ini memiliki efek yang hampir sama. Namun, kelompok perlakuan P3 tetap memberikan efek yang lebih baik dari pada P2. Hal ini membuktikan bahwa buah delima mampu memperbaiki morfologi dari sel ginjal tersebut (Nibiana, 2013)

Begitu juga dengan kadar natrium dan kalium, kadar natrium dan kalium darah tikus putih di mana perlakuan yang diberi ekstrak buah delima memberikan efek yang baik terhadap kadar natrium dan kalium darah tikus putih yang terinduksi gentamicin, dibandingkan perlakuan yang tidak di beri ekstrak buah, perlakuan yang di beri ekstrak buah delima memberikan gambaran kadar natrium

dan kalium darah tikus putih lebih mendekati rata rata standart deviasi natrium dan kalium darah (Anggraeni 2013).

Meskipun menurunnya nilai hematokrit, eritrosit dan hemoglobin pada P1, P2, dan P3 tetapi perubahan morfologi dan fisiologi pada P2 dan P3 membaik, dan kerusakan pada nilai hematokrit, eritrosit dan hemoglobin tidak teramat parah hal ini dikarenakan kombinasi dari punicalagin, quercetin, anthocyanidin, vitamin C, vitamin E, dan bahan lain yang terkandung dalam buah delima memiliki efek yang baik karena dapat membentuk suatu formulasi yang bersifat sinergis (Seeram *et al.*, 2005). Tidak ada perbaikan pada P1, Jika pada P2 dan P3 tidak di lakukan terapi akan menyebabkan uremia, di mana uremia ini akan menyebabkan lisis pada eritrosit. Dikarenakan gangguan fungsi ginjal menyebabkan ginjal tidak dapat mengekskresikan hasil metabolisme, oleh karena itu laju filtrasi glomerulus menurun sehingga hasil metabolisme yang tidak berguna terutama urea dan kreatinin akan menumpuk pada plasma darah (Bijanti, 2001).

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak buah delima yang diberikan sebagai pencegahan pada tikus putih yang mengalami gagal ginjal akut tidak berpengaruh baik terhadap kesehatan ginjal dengan mempertahankan nilai hematokrit, eritrosit dan hemoglobin

6.2 Saran

Disarankan untuk dilakukan penelitian mengenai pemberian ekstrak buah delima sebagai terapi kuratif dengan teknik perlakuan yang berbeda dan jangka waktu yang lebih lama supaya menghasilkan efek yang lebih baik.

RINGKASAN

Gagal ginjal merupakan penyebab paling umum dari penyakit dan kematian pada hewan kecil. Semakin tua umur hewan maka kemungkinan terjadinya gagal ginjal semakin besar. Kasus gagal ginjal dari tahun ke tahun mengalami peningkatan. Namun apabila pada gagal ginjal akut dapat dideteksi sejak awal, maka perkembangan penyakit masih dapat dicegah sebelum menjadi gagal ginjal kronis yang bersifat *irreversible*.

Banyak penelitian dilakukan pada berbagai tanaman obat salah satunya buah delima (*Punica granatum*). Buah delima mengandung bahan aktif utama *ellagic acid*, serta bahan aktif lain seperti *quercetin*, *anthocyanidins* dan *ellagitanins* yang mempunyai fungsi antiproliferatif, antimutagenik, antitumor, antikarsinogenik, antiangiogenik, antiinflamasi dan antioksidan yang baik bagi kesehatan ginjal.

Tujuan penulisan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah delima terhadap nilai hematokrit, eritrosit dan hemoglobin tikus putih yang mengalami nefrotoksisitas. Nefrotoksisitas dapat disebabkan oleh induksi gentamisin terhadap hewan coba menyebabkan gangguan fungsi ginjal melalui pembebasan *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS dapat menyebabkan kerusakan ginjal melalui toksisitas seluler dan langsung menyebabkan penyakit tubulointerstitial dan glomerulosclerosis yang erat kaitannya dengan *Acute Renal Failure* (ARF).

Fakta bahwa gagal ginjal akut dapat diawali dengan nefrotoksisitas akibat penggunaan kombinasi obat yang salah, serta erat kaitannya dengan proses stres oksidatif, sementara buah delima tidak berpengaruh terhadap nilai hematokrit, eritrosit dan hemoglobin tikus putih.

Hewan coba yang digunakan adalah 24 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan berumur 2-3 bulan dengan berat badan antara 150-200 gram. Hewan coba dibagi dalam empat kelompok perlakuan dengan enam kali ulangan. Kelompok P0 (Kelompok kontrol negatif), kelompok P1 (pemberian CMC Na 0,3% dan gentamisin), kelompok P2 (pemberian *ellagic acid* dalam CMC Na 0,3% dan gentamisin, kelompok P3 (pemberian ekstrak buah delima dalam CMC Na 0,3% dan gentamisin).

Dari hasil pemeriksaan nilai hematokrit, eritrosit dan hemoglobin tikus putih menunjukkan bahwa ekstrak buah delima pada kelompok perlakuan P3 tidak memberikan pengaruh yang lebih baik, sehingga pemberian ekstrak buah delima tidak dapat menjaga nilai hematokrit, eritrosit dan hemoglobin tikus putih yang mengalami nefrotoksisitas akibat induksi gentamisin.

DAFTAR PUSTAKA

- A boderin, F.I. and V.O Oyetayo. 2006. Haematological Studies of Rats Fed Different Doses of Probiotic, *Lactobacillus plantarum* isolated from fermenting corn slurry. *Pakistan J of Nutrition* 5:102-105.
- Avdagic N., Cosovic E., Nakas E., Mornjakovic Z., Hadzovic A., Zaciragic A. 2008. *Spirulina Platensis Protects Against Renal Injury in Rats with Gentamicin-induced Acute Tubular Necrosis. Bosnian journal of basic medical sciences* 2008; 8 (4): 331-336.
- Anggraeni, D.R. 2013 *Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Delima (Punica Granatum Linn) Terhadap Natrium Dan Kalium Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Yang Mengalami Nefrotosisitas Akibat Induksi Gentamicin.* Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Bartges J. and Polzin D.J. 2010. *Nephrology and Urology of Small Animals.* Chichester: John Wiley & Sons Ltd, The Atrium, Southern Gate.
- Brown S, 2011. *Physiology of the kidneys , Nephrology and Urology of Small Animals.*
- Bijanti R, Yuliati MGA, Wahjuni RS, Utomo RB, 2011. *Buku Ajar Patologi Klinik Veteriner.* Edisi Pertama. Airlangga University Press. Surabaya.
- Campbell N.A., Reece J.B., Mitchell L.G. 2004. *Biology, Fifth Edition.* Jakarta : Penerbit Erlangga.
- Cowgill. A.G., Francey .T., Doherr. M., and Schweighauser.A. 2005. *Occurrence of Systemic Hipertension in dogs with acute kidney injury and treatment with amlodipine besylate.* Department of Clinical research and veterinary public health, Switzerland.
- Dalimunthe, A. 2008, *Pemantauan Efektifitas Gentamisin Dosis Berganda Intravenous Terhadap Pasien Peneumonia Komuniti di Rumah Sakit Umum Pusat H. Adam Malik Medan.* Thesis. Universitas Sumatra Utara Medan.
- Dellmann, H. D. and E. M. Brown. 1992. *Buku Teks Histologi Veteriner.* Diterjemahkan oleh Hartono, R. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. 411-444.
- Devipriya N., M. Srinivansan., A.R. Sudheer., and V.P. Menon. 2007. Effect of ellagic acid, a natural polyphenol on alcohol prooxidant and antioxidant imbalance: a drug dose dependent study, *Singapore Med J Original article*, 48 (4) : 311-318.

- Eksi A. and Ozhamamci I. 2009. *Chemical Composition and Guide values of Pomogranate Juice. GIDA (2009) 34 (5): 265-270.*
- Elizabeth. J. C. 2000. *Patofisiologi*, Gramedia Pusaka Utama, Jakarta.
- Ganong, W., F., 2002. *Fisiologi Kedokteran*. Jakarta.
- Gibson, J. 2003. *Fisiologi dan Anatomi Modern Untuk Perawat. Edisi 2. Diterjemahkan : Bertha Sugiarto. Penerbit Buku Kedokteran ECG. Jakarta.*
- Grossman, R.C. 2010. *Experimental Models of Renal Disease and the Cardiovascular System. The Open Cardiovascular Medicine Journal, 2010, 4, 257-264.*
- Guyton dan Arthur. C. 1990. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit*. Jakarta.
- Guyton, A.C. and J.E. Hall. 2006. *Textbook of medical physiology*. 11th Ed. W B Saunders Co. Philadelphia. pp 859-864.
- Hanifah, L. 2008. Pengaruh Pemberian Buah Pepaya (*Carica papaya*) terhadap Tingkat Nekrosis Epitel Glomerulus dan Tubulus Ginjal Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi CCl₄ (karbon tetraklorida). Skripsi. Universitas Negeri Islam Malang.
- Ibrahim M.A. and Saleh A.A.S. 2012. *Comparative study of Quercetin or/and Urate Oxidase against Gentamicin -induced Nephrotoxicity and Oxidative Stress in Rat kidneys. Journal of American Science, 2012;8(1).*
- Ibrahim IA, Khalid SA, Omer SA, Adam SE.1992. *On the toxicology of Azadirachta indica leaves. Department of Veterinary Medicine, Pharmacology and Toxicology, University of Khartoum, Sudan.*
- Lakshmi M., Reddy U.K., Rani S. 2012. *A Review on Medicinal Plants For Nephroprotective Activity. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research Vol 5, Issue 4, 2012.*
- Lansky, E.P. and R.A. Newman. 2007. *Punica granatum (Pomegranate) and Its Potential for Prevention and Treatment of Inflammation and Cancer. J Ethnopharmacol. 109:177-206.*
- Leeson, C.R., T.S. Leeson dan A.A Paparo 1990. *Buku Ajar Hiatalogi, Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.*
- Malole M.M.B. dan Pramono C.S.U. (1989). *Penggunaan Hewan-hewan Percobaan Laboratorium*. Bogor : Institut Pertanian Bogor.

- Martini, F. 2006. *Fundamentals of Anatomy and Physiology, 7th edition*. USA: Pearson Education Inc.
- Mc Gavin MD., WC Carlton, JF Zachary. 2001. *Special Veterinary Pathology*. 3rd Ed. Mosby Inc. USA. 154.
- Miguel M.G., Neves M.A., Antunes M.D. 2010. *Pomegranate (Punica granatum L.): A medicinal plant with myriad biological properties. Journal of Medicinal Plants Research Vol. 4(25), pp. 2836-2847, 29.*
- Murray, R.K. 2006. *Harper's Illustrated biochemistry, 27th edition*. New York: The Mc Graw-Hill companies, Inc.
- Neal, M. J. 2005. *At a Glance Farmakologi Medik*. Edisi kelima. Jakarta : Penerbit Erlangga. Hal : 84 – 85.
- Nibiana, A.R. 2013 *Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Delima (Punica Granatum Linn) Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Dalam Proses Gagal Ginjal Akut*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Padmin, M.P., and I.V. Kumar. 2012. *A Histopathological Study on Gentamicin Induced Nephrotoxicity in Experimental Albino Rats*. India.
- Price, S.A and L.M. Wilson. 2006. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Edisi 6. Penerbis Edisi Kedokteran. E.G.C. Jakarta. Hal 867-868.
- Pujiastuti, C. 2013 *Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Delima (Punica Granatum Linn) Terhadap Kadar Blood Urea Nitrogen (BUN) Dan Kreatinin Serum Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Yang Mengalami Gagal Ginjal Akut*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Rinawati W and Aulia D. 2011. *Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1) as Biomarker for the Early Identification of Acute Tubular Necrosis*. Jakarta.
- Robert E, Bruelle P, de La Coussaye JE, Juan JM, Brugada J, Peray P, Dauzat M, and Eledjam JJ. 1996. *Electrophysiologic and proarrhythmogenic effects of therapeutic and toxic doses of imipramine: a study with high resolution ventricular epicardial mapping in rabbit hearts*. Department of Epidemiology and Biostatistics, Medical School of Montpellier-Nimes, France.
- Schermer, S. 1967 *The Blood Morphology Of Laboratory Animals Davis*, Philadelphia Pennsylvania.

- Seeram N, Lee R, Hardy M and Heber D, 2005. *Rapid large scale of ellagitannin pomegranate husk, a by-product of the commercial juice industry. Separation and purification technology* (41); 49 – 55.
- Seeram NP, Adam LS, Henning SM, Niu Y, Zhang Y, Nair MG, Heber D, 2005. *In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. J of Nutr Biochem* 16:360-367.
- Seeram NP, Schulman RN, Heber D, 2006. *Pomegranate Ancient Roots to Modern Medicine. 1st Ed. Taylor and Francis Group, New York, pp 2-99.*
- Singh A.P., Muthuraman A.S., Amteshwa J., Singh N., Grover K., Dhawan R. 2012. *Animal models of acute renal failure. Pharmacological Reports, 2012, 64, 31-44.*
- Suyanti, L. 2008. *Gambaran Histopatologi Hati dan Ginjal Tikus pada Pemberian Fraksi Asam Amino Non-Protein Lamtoro Merah (Acacia Villosa) pada Uji Toksisitas Akut. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian. Bogor*
- Wilson D.E. and Reeder D.M. 1993. *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference, Second Edition.* London: Smithsonian Institution Press.
- Wilson, L. M., 1992, *Gagal Ginjal Kronik, dalam Price, S. A. dan Wilson, L. M., Patofisiologi, diterjemahkan oleh Peter A., Buku II, ed. IV, 812-845, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.*
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas.* Yogyakarta: Kanisius.
- Zhang, Y., D.Wang, R. Lee, S.M. Henning and D. Heber. 2009. *Absence of pomegranate f Ellagitannins in the majority of commercial pomegranate extract : implication for standardization and quality control. J. Agric. Food Chem. 57: 7395-7400.*

Lampiran 1. Penentuan Dosis *Ellagic Acid* dan Ekstrak Buah Delima

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Devipriya (2007), *ellagic acid* dosis 60 mg/kgbb/p.o/hari merupakan dosis yang dapat digunakan agar aktifitas antioksidan dapat bekerja secara optimal terhadap nefrotoksisitas pada hewan coba tikus.

Untuk 6 ekor tikus pada perlakuan P2 yang mendapatkan perlakuan *ellagic acid*, setiap hari dibuat sediaan baru dengan cara sebagai berikut:

$$\begin{aligned}\text{Volume pemberian} &= \text{berat badan tikus}/1000 \times \text{dosis ellagic acid} \\ &= 200/1000 \times 60 = 12 \text{ mg/kgbb per tikus}\end{aligned}$$

12 mg *ellagic acid* disuspensikan dalam 2ml CMC Na 0,3% dan diberikan secara per oral pada tiap ekor tikus putih.

Berdasarkan dosis *ellagic acid* (60 mg/kgbb/p.o/hari), maka dosis ekstrak buah delima terstandar 40% *ellagic acid* adalah :

$$\begin{aligned}40/100 &: 60/x \\ 40x &= 6000 \\ x &= 150 \text{ mg/kgbb/p.o/hari}\end{aligned}$$

Untuk 6 ekor tikus yang mendapatkan perlakuan ekstrak buah delima, setiap hari dibuat sediaan baru dengan cara sebagai berikut :

$$\begin{aligned}\text{Volume pemberian} &= \text{berat badan tikus}/1000 \times \text{dosis ekstrak} \\ &= 200/1000 \times 150 = 30 \text{ mg/kgbb per tikus}\end{aligned}$$

30 mg *ellagic acid* disuspensikan dalam 2ml CMC Na 0,3% dan diberikan secara per oral pada tiap ekor tikus putih.

Lampiran 2. Cara Pemberian Obat Secara Intraperitoneal

1. Menahan hewan dengan tangan, memegang kepala tikus tanpa menekan trakea dengan ibu jari dan telunjuk. Jari – jari yang tersisa membungkus lembut di sekitar rongga thoraks.
2. Tangan lainnya memegang ekor dan kaki tikus, kemudian dilakukan injeksi
3. Ketika melakukan injeksi intraperitoneal pada tikus, penyuntikan dilakukan pada kuadran kanan bawah perut untuk menghindari cedera pada organ seperti hati, kandung kemih, dan usus buntu.
4. Jika terdapat darah, air seni, atau isi dari gastrointestinal, jarum ditarik kembali, dihapus, dan dicoba lagi dengan jarum suntik yang baru
5. Setelah injeksi selesai, hewan ditempatkan kembali ke dalam kandang untuk diamati

Lampiran 3. Sertifikat Ekstrak Buah Delima

Bio F**XI'AN BIOF BIO-TECHNOLOGY CO., LTD
CERTIFICATE OF ANALYSIS**

Product Name: Pomegranate extract Extract powder

Origin of Material: China

Part Used: Peel

Batch Number: BIOF20100811

Date of Manufacture: Aug 11, 2010

Quantity: 300Kg

Date of Analysis: Aug 12, 2010

ANALYSIS	SPECIFICATION	RESULTS	Remark
Appearance	Light Yellow Powder	Complies	Visual
Odor	CHARACTERISTIC	Complies	
Assay Ratio			
Elagic acid	40%	40.5% (HPLC)	
Sieve Analysis	100% pass 80 mesh	Complies	
solubility	water soluble	Complies	
solubility rate	≥95%	Complies	
Loss on Drying	≤5%	3.73%	
Ash Content	≤2.00%	1.25%	
Sulphated Ash	≤5%	3.16%	
Extract Solvent	Water	Complies	
Sulphite Content	<100ppb	Complies	
Heavy Metal	<10ppm	Complies	
Pb	<0.5ppm	Complies	
Cadmium	<1ppm	Complies	
Lead	<3ppm		
Mercury	<3ppm	Complies	
Pesticide	<100ppb	Complies	
Microbiology			
Total Plate Count	≤1000cfu/g	Complies	
Yeast & Mold	≤100cfu/g	Complies	
E.Coli	Negative	Complies	
Salmonella	Negative	Complies	

Conclusion:

Conform with specification.

Packaging Description:

Sealed export grade drum & double of sealed plastic bag.

Storage:

ore in a cool dry place and keep away from strong light and heat.

Shelf life:

2 years when properly stored.

Lampiran 4. Sertifikat Kelaikan Etik



**KOMISI ETIK PENELITIAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
*Animal Care and Use Committee (ACUC)***

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
" ETHICAL CLEARANCE "**

No : 238-KE

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA,
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA :**

PENELITIAN BERJUDUL : Manfaat Pemberian Ekstrak Buah Delima (*Punica granatum Linn*) Terhadap Pencegahan Gagal Ginjal Akut Akibat Nephrotoxicitas Gentamycin Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

PENELITI UTAMA : Bambang Sektiari Lukiswanto

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT PENELITIAN : Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Surabaya, 4 Pebruari 2013



Ketua


Dr. E. Birno Aksono, M.Kes., Drh.
NIP. 196609201992031003

Lampiran 5. Analisis Statistik

Tests of Normality

	PERLAKUAN	Kolmogorov-Smimov ^a		
		Statistic	df	Sig.
Hb	P0	.171	6	.200 [*]
	P1	.255	6	.200 [*]
	P2	.292	6	.120
	P3	.190	6	.200 [*]
Eritrosit	P0	.292	6	.121
	P1	.277	6	.166
	P2	.281	6	.151
	P3	.179	6	.200 [*]
Hematokrit	P0	.190	6	.200 [*]
	P1	.246	6	.200 [*]
	P2	.282	6	.147
	P3	.214	6	.200 [*]

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

Hb

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.590	3	20	.629

Descriptives

Hb

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
P0	6	11.900	.4775	.1949	11.399	12.401	11.2	12.6
P1	6	10.850	.6745	.2754	10.142	11.558	10.0	11.4
P2	6	10.800	.6261	.2556	10.143	11.457	10.1	11.9
P3	6	10.767	.6250	.2552	10.111	11.423	10.1	11.5
Total	24	11.079	.7442	.1519	10.765	11.393	10.0	12.6

Oneway

ANOVA

Hb

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.411	3	1.804	4.923	.010
Within Groups	7.328	20	.366		
Total	12.740	23			

**Post Hoc Tests
Homogeneous Subsets**

Hb

Duncan

PERLAKUAN	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
P3	6	10.767	
P2	6	10.800	
P1	6	10.850	
P0	6		11.900
Sig.		.824	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Test of Homogeneity of Variances

Eritrosit

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.898	3	20	.162

Descriptives

Eritrosit

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
P0	6	7.0433	.36626	.14953	6.6590	7.4277	6.59	7.51
P1	6	6.4133	.20216	.08253	6.2012	6.6255	6.11	6.65
P2	6	6.5267	.44751	.18270	6.0570	6.9963	6.12	7.13
P3	6	6.2900	.50176	.20484	5.7634	6.8166	5.70	6.95
Total	24	6.5683	.47128	.09620	6.3693	6.7673	5.70	7.51

Oneway

ANOVA

Eritrosit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.973	3	.658	4.196	.019
Within Groups	3.135	20	.157		
Total	5.108	23			

**Post Hoc Tests
Homogeneous Subsets**

Eritrosit

Duncan

PERLAKUAN	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
P3	6	6.2900	
P1	6	6.4133	
P2	6	6.5267	
P0	6		7.0433
Sig.		.340	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Test of Homogeneity of Variances

Hematokrit

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.399	3	20	.272

Descriptives

Hematokrit

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					P0	6		
P1	6	34.900	2.1100	.8614	32.686	37.114	31.5	37.2
P2	6	34.317	1.4219	.5805	32.825	35.809	33.2	37.0
P3	6	34.750	2.2079	.9014	32.433	37.067	31.9	37.6
Total	24	35.579	2.3886	.4876	34.571	36.588	31.5	40.6

Oneway

ANOVA

Hematokrit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	62.521	3	20.840	6.067	.004
Within Groups	68.698	20	3.435		
Total	131.220	23			

**Post Hoc Tests
Homogeneous Subsets**

Hematokrit

Duncan

PERLAKUAN	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
P2	6	34.317	
P3	6	34.750	
P1	6	34.900	
P0	6		38.350
Sig.		.613	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Case Processing Summary^a

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Hb * PERLAKUAN	24	100.0%	0	0.0%	24	100.0%
Eritrosit * PERLAKUAN	24	100.0%	0	0.0%	24	100.0%
Hematokrit * PERLAKUAN	24	100.0%	0	0.0%	24	100.0%

a. Limited to first 100 cases.

Case Summaries^a

		Hb	Eritrosit	Hematokrit	
PERLAKUAN	P0	1	11.7	6.61	38.4
		2	11.2	6.59	36.6
		3	11.7	7.20	36.7
		4	12.1	7.16	39.4
		5	12.1	7.19	38.4
		6	12.6	7.51	40.6
		N	6	6	6
	Total	Mean	11.900	7.0433	38.350
		Std. Deviation	.4775	.36626	1.5463
	P1	1	11.0	6.49	33.9
		2	11.3	6.47	37.2
		3	11.4	6.65	36.3
		4	11.4	6.53	36.3
		5	10.0	6.11	31.5
		6	10.0	6.23	34.2
		N	6	6	6
	Total	Mean	10.850	6.4133	34.900
		Std. Deviation	.6745	.20216	2.1100
	P2	1	10.6	6.65	33.2
		2	10.6	6.18	34.3
		3	10.1	6.12	33.2
		4	10.5	6.13	34.5
		5	11.1	6.95	33.7
		6	11.9	7.13	37.0
	N	6	6	6	
Total	Mean	10.800	6.5267	34.317	
	Std. Deviation	.6261	.44751	1.4219	
P3	1	11.0	6.24	36.3	
	2	10.5	6.32	33.7	
	3	10.1	5.78	31.9	
	4	10.1	5.70	33.0	
	5	11.4	6.95	36.0	

	6		11.5	6.75	37.6
	N		6	6	6
Total	Mean		10.767	6.2900	34.750
	Std. Deviation		.6250	.50176	2.2079
	N		24	24	24
Total	Mean		11.079	6.5683	35.579
	Std. Deviation		.7442	.47128	2.3886

a. Limited to first 100 cases.

Lampiran 6**Foto – Foto Penelitian**

Gambar 1. Serbuk CMC Na



Gambar 2. Serbuk Ekstrak Delima

Gambar 3. Serbuk *Ellagic Acid*

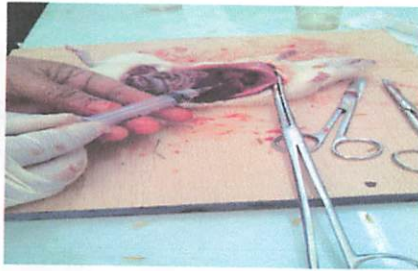
Gambar 4. Penimbangan tikus



Gambar 5. Pengelompokkan tikus



Gambar 6. Penyuntikan gentamicin i.p



Gambar 7. Pengambilan darah tikus



Gambar 8. Pengelompokkan darah



Gambar 9. Alat Roller Mixer