

The Effect of the Combination of White Turi Stem Bark Extract (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers.) and Vitamin C in Preventing Nephrotoxicity in Male White Rats (*Rattus norvegicus*) Induced by Paracetamol with BUN and Creatinine Parameters

[Pengaruh Kombinasi Ekstrak Kulit Batang Turi Putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers.) dan Vitamin C dalam Mencegah Nefrotoksisitas pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Paracetamol dengan Parameter BUN dan Kreatinin]

Funny Fryhatining Tyas Asih¹⁾, Jamilatur Rohmah^{*1)}

¹⁾Program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

*Email Penulis Korespondensi: jamilaturrohmah@umsida.ac.id

Abstract. Kidney damage due to exposure to toxic doses of paracetamol is closely related to increased oxidative stress, so compounds with the potential to provide antioxidant and nephroprotective effects are needed. This study aims to analyze the effectiveness of a combination of white turi bark extract (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers.) and vitamin C in improving this condition in male white rats (*Rattus norvegicus*). The extract was obtained through maceration using 70% ethanol and was shown to contain alkaloids, flavonoids, phenolics, tannins, saponins, steroids, and triterpenoids. Eight treatment groups, namely Kn, K-, K+1 (Na-CMC 1%), K+2 (Vitamin C 1000 mg/kgBB), K+3 (extract 1000 mg/kgBB), and P1 (extract 500 mg/kgBB : Vitamin C 500 mg/kgBB), P2 (extract 500 mg/kgBB : Vitamin C 1000 mg/kgBB), and P3 (extract 1000 mg/kgBB : Vitamin C 500 mg/kgBB) were used to evaluate changes in toxic symptoms, body weight, malondialdehyde levels, Blood Urea Nitrogen, creatinine, and macroscopic kidney appearance. Paracetamol 1500 mg/kgBB induction increased MDA, BUN, and creatinine levels, while the combination administration was able to suppress the increase in these parameters. The combination of 1000 mg/kgBB extract and 500 mg/kgBB vitamin C (2:1) P3 showed the best nephroprotective activity with a significant difference based on the One-Way ANOVA test ($p < 0.05$). The results of the study indicate that this combination has the potential as a natural nephroprotective agent in improving kidney function due to paracetamol nephrotoxicity.

Keywords – Bark; *Sesbania grandiflora*; antioxidant; nephroprotective; blood urea nitrogen (BUN); creatinine; malondialdehyde (MDA); paracetamol.

Abstrak. Kerusakan ginjal akibat paparan parasetamol dosis toksik berkaitan erat dengan peningkatan stres oksidatif sehingga diperlukan senyawa yang berpotensi memberikan efek antioksidan dan nefroprotektif. Penelitian ini bertujuan menganalisis efektivitas kombinasi ekstrak kulit batang turi putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers.) dan vitamin C dalam memperbaiki kondisi tersebut pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*). Ekstrak diperoleh melalui maserasi menggunakan etanol 70% dan terbukti mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin, saponin, steroid, serta triterpenoid. Delapan kelompok perlakuan, yaitu Kn, K-, K+1 (Na-CMC 1%), K+2 (Vitamin C 1000 mg/kgBB), K+3 (ekstrak 1000 mg/kgBB), serta P1 (ekstrak 500 mg/kgBB : Vitamin C 500 mg/kgBB), P2 (ekstrak 500 mg/kgBB : Vitamin C 1000 mg/kgBB), dan P3 (ekstrak 1000 mg/kgBB : Vitamin C 500 mg/kgBB) digunakan untuk mengevaluasi perubahan gejala toksik, berat badan, kadar malondialdehid, Blood Urea Nitrogen, kreatinin, dan gambaran makroskopis ginjal. Induksi parasetamol 1500 mg/kgBB meningkatkan kadar MDA, BUN, dan kreatinin, sedangkan pemberian kombinasi mampu menekan peningkatan parameter tersebut. Kombinasi ekstrak 1000 mg/kgBB dan vitamin C 500 mg/kgBB (2:1) P3 menunjukkan aktivitas nefroprotektif paling baik dengan perbedaan bermakna berdasarkan uji One-Way ANOVA ($p < 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi tersebut berpotensi sebagai agen nefroprotektif alami dalam memperbaiki fungsi ginjal akibat nefrotoksisitas parasetamol.

Kata Kunci – Kulit batang; *Sesbania grandiflora*; antioksidan; nefroprotektif; BUN; Kreatinin; MDA; Paracetamol

I. PENDAHULUAN

Tumbuhan turi putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers.) merupakan salah satu tanaman obat yang diketahui kaya akan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, fenolik, steroid, dan triterpenoid. Berbagai senyawa tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang mampu menangkal radikal bebas, menghambat peroksidasi lipid, serta melindungi sel dari kerusakan akibat stres oksidatif. Aktivitas antioksidan tersebut menjadikan kulit batang turi putih berpotensi dikembangkan sebagai bahan alami yang bersifat nefroprotektif [1].

Copyright © Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. This preprint is protected by copyright held by Universitas Muhammadiyah Sidoarjo and is distributed under the Creative Commons Attribution License (CC BY). Users may share, distribute, or reproduce the work as long as the original author(s) and copyright holder are credited, and the preprint server is cited per academic standards.

Authors retain the right to publish their work in academic journals where copyright remains with them. Any use, distribution, or reproduction that does not comply with these terms is not permitted.

Stres oksidatif merupakan kondisi ketidakseimbangan antara pembentukan radikal bebas atau *reactive oxygen species* (ROS) dengan kemampuan sistem antioksidan tubuh dalam menetralsirnya. Peningkatan ROS secara berlebihan dapat menyebabkan kerusakan berbagai komponen sel, seperti lipid, protein, dan DNA melalui proses peroksidasi lipid, sehingga memicu kerusakan jaringan dan gangguan fungsi organ, termasuk ginjal. Oleh karena itu, keberadaan senyawa antioksidan sangat penting untuk mempertahankan integritas sel dan mencegah kerusakan akibat stres oksidatif [2]. Ginjal merupakan organ yang berperan penting dalam mempertahankan homeostasis tubuh melalui proses filtrasi darah, ekskresi sisa metabolisme, serta pengaturan keseimbangan cairan dan elektrolit. Salah satu penyebab gangguan fungsi ginjal adalah penggunaan parasetamol dalam dosis toksik. Di dalam tubuh, sebagian kecil parasetamol mengalami biotransformasi oleh enzim sitokrom P450 sehingga menghasilkan metabolit reaktif *N-acetyl-p-benzoquinone imine* (NAPQI). Akumulasi metabolit tersebut menyebabkan cadangan *glutathione* (GSH) berkurang sehingga pertahanan antioksidan sel melemah. Kondisi ini meningkatkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) yang selanjutnya memicu kerusakan oksidatif pada membran sel melalui proses peroksidasi lipid, sehingga mengakibatkan kerusakan jaringan ginjal yang ditandai dengan meningkatnya kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kreatinin [3].

Vitamin C (asam askorbat) merupakan antioksidan eksogen yang larut dalam air dan berperan sebagai donor elektron dalam reaksi reduksi-oksidasi. Kemampuan tersebut memungkinkan vitamin C menetralsir radikal bebas dan ROS, sehingga dapat melindungi membran sel dari kerusakan oksidatif. Selain itu, vitamin C juga berperan dalam regenerasi sistem antioksidan endogen serta sebagai kofaktor dalam sintesis kolagen yang penting dalam proses perbaikan jaringan yang mengalami kerusakan [4]. Parasetamol merupakan obat analgesik-antipiretik yang secara luas digunakan dalam praktik klinis. Pada dosis terapeutik, sebagian besar parasetamol dimetabolisme melalui jalur glukuronidasi dan sulfatasi menjadi metabolit non-toksik. Namun, sebagian kecil parasetamol akan dioksidasi oleh enzim sitokrom P450, terutama CYP2E1, menghasilkan metabolit reaktif *N-acetyl-p-benzoquinone imine* (NAPQI). Pada kondisi overdosis, cadangan glutathione (GSH) mengalami penurunan sehingga NAPQI tidak dapat didetoksifikasi secara optimal. Akumulasi NAPQI tersebut menyebabkan peningkatan pembentukan ROS, disfungsi mitokondria, dan kerusakan sel tubulus ginjal yang pada akhirnya memicu nefrotoksisitas [5].

Penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa ekstrak kulit batang turi putih memiliki kemampuan dalam memperbaiki gangguan fungsi ginjal yang ditunjukkan melalui penurunan kadar Blood Urea Nitrogen (BUN) dan kreatinin pada hewan uji yang mengalami induksi parasetamol dosis toksik. Efektivitas terbaik dilaporkan diperoleh pada pemberian ekstrak dengan dosis 1000 mg/kgBB [6]. Penelitian dari Agam dan Rohmah (2025) juga menemukan hasil serupa pada daun turi putih, dengan ekstrak daun turi putih mampu menurunkan kadar BUN dan kreatinin pada tikus putih Jantan yang diinduksi parasetamol. Ekstrak daun turi putih (P1, P2, P3) menunjukkan penurunan kadar BUN dan kreatinin setelah perlakuan. Pada kelompok P1 (500 mg/kg BB), kadar BUN dan kreatinin menurun dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (K-) yang menerima parasetamol dosis toksik. Kelompok K+2 (Vitamin C 1000 mg/kg BB) menunjukkan penurunan kadar BUN dan kreatinin. Kadar BUN pada kelompok ini menurun dibandingkan dengan kelompok K- yang diinduksi parasetamol. Penurunan kadar BUN dan kreatinin menunjukkan bahwa vitamin C memiliki efek perlindungan terhadap kerusakan ginjal akibat parasetamol [7]. Di sisi lain, vitamin C merupakan antioksidan eksogen yang mampu mendonorkan elektron untuk menetralkan radikal bebas, meregenerasi antioksidan endogen, serta mengurangi kerusakan jaringan akibat stres oksidatif. Walaupun keduanya telah terbukti memiliki efek nefroprotektif secara terpisah, penelitian mengenai pemberian kombinasi ekstrak kulit batang turi putih dengan vitamin C masih sangat terbatas [6].

Secara teoritis, kombinasi kedua bahan tersebut diperkirakan mampu menghasilkan efek sinergis melalui peningkatan kapasitas pertahanan antioksidan tubuh. Mekanisme tersebut diharapkan dapat menekan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS), mengurangi peroksidasi lipid, serta mempertahankan integritas sel ginjal secara lebih optimal dibandingkan penggunaan salah satu bahan saja [8]. Berdasarkan pertimbangan tersebut, penelitian ini difokuskan untuk mengetahui sejauh mana pemberian kombinasi ekstrak kulit batang turi putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers.) dan vitamin C mampu memberikan perlindungan terhadap gangguan fungsi ginjal yang disebabkan oleh paparan parasetamol dosis toksik pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*), melalui pengukuran kadar Blood Urea Nitrogen (BUN), kreatinin, dan pengamatan makroskopis ginjal.

II. METODE

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif eksperimental laboratorium menggunakan rancangan *Post-Test Only Control Group Design*. Seluruh prosedur penelitian telah memperoleh persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Airlangga Surabaya dengan nomor sertifikat: 0538/HRECC.FODM/VI/2026. Hewan uji yang digunakan berupa tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar berumur 2–3 bulan dengan berat badan 100–200 gram. Jumlah sampel ditentukan menggunakan rumus Federer sehingga diperoleh empat ekor tikus pada setiap kelompok perlakuan. Seluruh hewan dipilih sesuai kriteria inklusi (tikus galur Wistar, jantan, sehat, berat badan 100–200 gram, usia 2 bulan) dan eksklusi (tikus yang sakit atau cidera, tikus yang mengalami stress ekstrem, tikus betina), kemudian

ditempatkan secara acak ke dalam delapan kelompok penelitian yang terdiri atas Kn, K-, K+1, K+2, K+3, P1, P2, dan P3. Pelaksanaan penelitian berlangsung di Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Hewan Coba, serta Laboratorium Patologi Klinik Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Sementara itu, analisis fitokimia untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dilakukan di Laboratorium Kimia Organik, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Negeri Surabaya. Bahan utama penelitian berupa kulit batang turi putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers.) yang diperoleh dari Kecamatan Porong, Kabupaten Sidoarjo. Kulit batang sebanyak 2.500 gram dikeringkan, dihaluskan menjadi simplisia, kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Ekstrak pekat selanjutnya dilakukan pemekatan menggunakan *rotary vacuum evaporator* (Buchi R80) dan uji fitokimia untuk mengidentifikasi kandungan alkaloid, fenolik, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid, dan steroid.

Seluruh tikus terlebih dahulu dipelihara pada kondisi laboratorium selama tiga hari sebagai Tahap 1 (fase adaptasi) dengan tetap diberikan pakan standar dan air minum untuk menyesuaikan kondisi hewan uji terhadap lingkungan pemeliharaan. Setelah masa adaptasi, kecuali kelompok normal (Kn), seluruh kelompok diinduksi parasetamol dosis 1500 mg/kgBB selama tujuh hari sebagai Tahap 2 (fase induksi parasetamol) untuk menimbulkan kondisi nefrotoksitas. Selanjutnya, tikus dibagi ke dalam beberapa kelompok perlakuan yang terdiri atas kelompok normal yang diberi pakan dan minum, kelompok kontrol negatif yang tidak diberikan terapi setelah induksi parasetamol, kelompok K(+1) yang diberikan Na-CMC 1%, kelompok K(+2) yang diberikan vitamin C dosis 1000 mg/kgBB, kelompok K(+3) yang diberikan ekstrak kulit batang turi putih dosis 1000 mg/kgBB, serta kelompok kombinasi ekstrak kulit batang turi putih dan vitamin C sesuai variasi dosis penelitian, yaitu P1 (1:1, ekstrak 500 mg/kgBB : vitamin C 500 mg/kgBB), P2 (1:2, ekstrak 500 mg/kgBB : vitamin C 1000 mg/kgBB), dan P3 (2:1, ekstrak 1000 mg/kgBB : vitamin C 500 mg/kgBB). Pemberian perlakuan tersebut dilakukan secara oral menggunakan sonde lambung selama tujuh hari sebagai Tahap 3 (fase pemberian Na-CMC/ekstrak/vitamin C/kombinasi), sedangkan pada kelompok K(-) pemberian parasetamol dihentikan tanpa diberikan terapi. Selama penelitian berlangsung, dilakukan pengamatan kondisi klinis dan penimbangan berat badan secara berkala.

Akhir perlakuan dilakukan pengambilan darah melalui pleksus retro-orbital menggunakan pipa kapiler hematokrit sebanyak 1 cc dimasukkan kedalam sampel cup. Sampel darah disentrifugasi pada 3000 rpm selama 10 menit untuk memperoleh serum. Pemeriksaan kadar Blood Urea Nitrogen (BUN) dan kreatinin dilakukan menggunakan fotometer (Microlab 300) metode IFCC enzimatis, sedangkan kadar malondialdehid (MDA) diperiksa menggunakan spektrofotometer UV-Vis metode Thiobarbituric Acid (TBA). Setelah pengambilan darah selesai, tikus dibedah dan organ ginjal diamati secara makroskopis meliputi warna, bentuk, konsistensi, dan tekstur.

Data penelitian dianalisis menggunakan perangkat lunak statistic SPSS 25. Distribusi data dievaluasi melalui uji normalitas, kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas. Data yang memenuhi asumsi parametrik dianalisis menggunakan One-Way ANOVA yang dilanjutkan dengan uji post hoc, sedangkan data yang tidak memenuhi asumsi normalitas dianalisis menggunakan uji nonparametrik yang sesuai seperti data BUN dan kreatinin perlakuan parasetamol dan kombinasi yang memiliki data normal tetapi tidak homogen maka menggunakan uji *Games Howell*. Seluruh pengujian menggunakan tingkat kepercayaan 95% dengan nilai signifikansi $p < 0,05$.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Ekstrak kulit batang turi putih

Kulit batang turi putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers.) merupakan salah satu bagian tanaman yang diketahui mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder dengan potensi aktivitas antioksidan [9]. Pada penelitian ini, dilakukan proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% untuk memperoleh ekstrak yang kaya akan senyawa bioaktif. Selanjutnya, ekstrak yang diperoleh dihitung nilai rendemennya dan dilakukan uji fitokimia sebagai identifikasi awal kandungan metabolit sekunder yang diduga berperan dalam aktivitas nefroprotektif.

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Maserasi Kulit Batang Turi Putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers.)

Parameter	Berat Sampel
Berat basah	2.500 gram
Berat kering	625 gram
Berat serbuk dimaserasi	260,268 gram
Ekstrak pekat	50 gram
% Rendemen	19,21 %

Berdasarkan data pada Tabel 1, proses ekstraksi menghasilkan ekstrak kental sebanyak 50 gram dari 260,268 gram serbuk simplisia dengan nilai rendemen sebesar 19,21%. Nilai rendemen tersebut menunjukkan bahwa proses

ekstraksi berlangsung dengan baik karena berada di atas batas minimum rendemen ekstrak kental, yaitu sebesar 10% [6]. Rendemen yang diperoleh dipengaruhi oleh beberapa faktor, di antaranya jenis pelarut, metode ekstraksi, ukuran partikel simplisia, lama maserasi, serta kandungan senyawa yang terdapat dalam bahan tanaman. Penggunaan etanol 70% sebagai pelarut dinilai efektif karena mampu melarutkan senyawa polar hingga semipolar, sehingga berbagai metabolit sekunder yang terkandung dalam kulit batang turi putih dapat terekstraksi secara optimal [10].

Ekstrak kental yang diperoleh kemudian digunakan sebagai bahan uji fitokimia untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang berpotensi memberikan aktivitas farmakologis. Identifikasi senyawa aktif ini penting dilakukan sebagai dasar untuk menjelaskan mekanisme kerja ekstrak dalam melindungi ginjal dari kerusakan akibat stres oksidatif.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil	Kesimpulan
Alkaloid	Mayer	Endapan putih	+
Alkaloid	Wagner	Endapan coklat	+
Alkaloid	Dragendorff	Endapan jingga	+
Flavonoid	Mg + HCl pekat + etanol	Warna merah	+
Saponin	-	Adanya busa stabil	+
Steroid	Liebermann-Burchard	Ungu ke biru/hijau	+
Triterpenoid	Kloroform + H ₂ SO ₄ pekat	Merah kecoklatan	+
Fenolik	NaCl 10% + Gelatin 1%	Endapan putih	+
Tanin	FeCl ₃ 1%	Coklat kehijauan	+

Hasil skrining fitokimia (Tabel 2) menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% yang diperoleh dari kulit batang turi putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers.) positif mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder, meliputi alkaloid, fenolik, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid, dan steroid. Keberadaan senyawa-senyawa tersebut ditunjukkan oleh perubahan warna maupun terbentuknya endapan setelah ekstrak direaksikan dengan pereaksi spesifik pada setiap pengujian. Hasil identifikasi tersebut mengonfirmasi bahwa proses ekstraksi menggunakan etanol 70% mampu mengekstraksi berbagai komponen bioaktif yang berpotensi memberikan efek farmakologis. Temuan tersebut sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa ekstrak *Sesbania grandiflora* mengandung beragam senyawa bioaktif, seperti fenolik, flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, triterpenoid, dan steroid, yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan sehingga berpotensi menangkal radikal bebas [6]. Keberadaan senyawa-senyawa tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang turi putih memiliki aktivitas biologis yang berpotensi dimanfaatkan sebagai agen nefroprotektif.

Flavonoid, fenolik, dan tanin diduga merupakan komponen utama yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan karena mampu mendonorkan elektron atau atom hidrogen untuk menetralkan radikal bebas serta menghambat proses peroksidasi lipid. Sementara itu, saponin, steroid, triterpenoid, dan alkaloid berperan sebagai senyawa pendukung melalui aktivitas antiinflamasi, perlindungan membran sel, dan peningkatan pertahanan antioksidan tubuh. Kombinasi berbagai metabolit sekunder tersebut diperkirakan bekerja secara sinergis dalam mengurangi stres oksidatif sehingga dapat membantu melindungi jaringan ginjal dari kerusakan akibat induksi parasetamol [11].

2. Perlakuan

Perlakuan pada penelitian ini ekstrak kulit batang turi putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers.), vitamin C, dan kombinasi keduanya diberikan sebagai perlakuan untuk melihat sejauh mana masing-masing mampu memperbaiki perubahan fisiologis yang terjadi pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) setelah paparan parasetamol dosis toksik. Selama proses penelitian dilakukan pengamatan secara berkala terhadap gejala toksik dan perubahan berat badan tikus sebagai parameter awal untuk menilai respons fisiologis hewan uji terhadap induksi parasetamol maupun efektivitas pemberian ekstrak kulit batang turi putih, vitamin C, dan kombinasi keduanya.

a. Pengamatan gejala toksik

Pengamatan gejala toksik dilakukan secara kualitatif pada setiap tahap penelitian. Parameter yang diamati meliputi gelisah, tremor, kejang, lemas, dan bulu rontok sebagai indikator adanya efek toksik akibat pemberian parasetamol maupun perubahan kondisi hewan setelah memperoleh perlakuan [6]. Berdasarkan data pada Tabel 3, seluruh tikus tidak menunjukkan gejala toksik selama tahap adaptasi. Tidak ditemukannya gejala gelisah, tremor, kejang, lemas, maupun bulu rontok menunjukkan bahwa seluruh hewan uji berada dalam kondisi sehat serta mampu beradaptasi dengan baik terhadap lingkungan pemeliharaan sebelum diberikan

perlakuan. Setelah induksi parasetamol dosis 1500 mg/kgBB (tujuh hari), kelompok K(-), K(+1), K(+2), K(+3), P1, P2, dan P3 mulai menunjukkan gejala gelisah, tremor, lemas, dan bulu rontok, sedangkan kelompok normal (Kn) tetap tidak mengalami perubahan kondisi klinis. Munculnya gejala tersebut mengindikasikan pemberian parasetamol dosis toksik mampu menimbulkan efek toksik yang berkaitan dengan meningkatnya stres oksidatif dan gangguan metabolisme, sehingga memengaruhi kondisi fisiologis hewan uji.

Tahap pemberian perlakuan, seluruh kelompok yang memperoleh Na-CMC, vitamin C, ekstrak kulit batang turi putih, kombinasi ekstrak dengan vitamin C tidak lagi menunjukkan gejala toksik yang diamati. kelompok K(-) tidak memperoleh perlakuan juga tidak lagi menunjukkan gejala toksik pada tahap ini. Kondisi tersebut diduga terjadi karena setelah penghentian pemberian parasetamol, hewan uji mengalami proses pemulihan fisiologis secara alami (*self-recovery*). Sistem antioksidan endogen, seperti *glutathione* (GSH), *superoxide dismutase* (SOD), dan katalase, masih dapat bekerja untuk menetralkan radikal bebas serta memperbaiki kerusakan sel secara bertahap. Selain itu, gejala klinis seperti gelisah, tremor, lemas, dan bulu rontok merupakan manifestasi toksisitas akut yang bersifat sementara sehingga dapat berkurang seiring waktu. Namun demikian, hilangnya gejala klinis tidak menunjukkan bahwa fungsi ginjal telah pulih sepenuhnya, karena kadar BUN dan kreatinin pada kelompok K(-) masih berada di atas nilai normal. Hilangnya gejala tersebut menunjukkan adanya perbaikan kondisi fisiologis setelah penghentian induksi parasetamol dan pemberian perlakuan selama tujuh hari. Perbaikan kondisi pada kelompok yang memperoleh ekstrak maupun kombinasi diduga berkaitan dengan aktivitas antioksidan senyawa metabolit sekunder serta vitamin C yang mampu menekan pembentukan radikal bebas dan mengurangi kerusakan sel akibat stres oksidatif [12].

Tabel 3. Hasil pengamatan gejala toksik pada tikus putih jantan (*Rattus novvergicus*)

Kelompok	Jumlah tikus	Gejala klinis (Tahap 1 Adaptasi)					Gejala klinis (Tahap 2 Paracetamol)					Gejala klinis (Tahap 3 Kombinasi)				
		Gelisah	Tremor	Kejang	Lemas	Bulu rontok	Gelisah	Tremor	Kejang	Lemas	Bulu rontok	Gelisah	Tremor	Kejang	Lemas	Bulu rontok
Kn	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K (-)	4	-	-	-	-	-	✓	✓	-	✓	✓	-	-	-	-	-
K (+1)	4	-	-	-	-	-	✓	✓	-	✓	✓	-	-	-	-	-
K (+2)	4	-	-	-	-	-	✓	✓	-	✓	✓	-	-	-	-	-
K (+3)	4	-	-	-	-	-	✓	✓	-	✓	✓	-	-	-	-	-
P1	4	-	-	-	-	-	✓	✓	-	✓	✓	-	-	-	-	-
P2	4	-	-	-	-	-	✓	✓	-	✓	✓	-	-	-	-	-
P3	4	-	-	-	-	-	✓	✓	-	✓	✓	-	-	-	-	-

b. Berat badan tikus

Perubahan berat badan diamati pada setiap tahap penelitian sebagai salah satu indikator kondisi fisiologis dan efek toksik yang dialami hewan uji. Penimbangan dilakukan setelah masa adaptasi, setelah induksi parasetamol, dan setelah pemberian perlakuan untuk mengetahui perubahan berat badan selama penelitian berlangsung.

Tabel 4. Berat badan rata-rata tikus putih (*Rattus novvergicus*)

Kelompok	Jml. tikus	Berat badan rata-rata ± SD (gram)		
		Tahap 1	Tahap 2	Tahap 3
Kn	4	147.2 ± 15.457	153.0 ± 14.765	156.5 ± 14.888
K (-)	4	172.2 ± 28.698	158.2 ± 21.360	159.0 ± 20.412
K (+1)	4	177.8 ± 16.070	165.5 ± 21.252	166.5 ± 17.597
K (+2)	4	197.2 ± 1.708	186.0 ± 3.367	190.8 ± 4.031
K (+3)	4	188.5 ± 13.478	164.5 ± 16.114	181.0 ± 13.663
P1	4	165.8 ± 9.535	148.8 ± 6.994	155.0 ± 3.916
P2	4	186.2 ± 10.436	173.0 ± 11.518	179.0 ± 10.424
P3	4	188.0 ± 6.683	177.8 ± 6.551	183.5 ± 7.141

Berdasarkan data pada Tabel 4, rata-rata berat badan tikus pada tahap adaptasi masih berada dalam kisaran normal, yaitu antara 100–200 gram. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa seluruh hewan uji memenuhi kriteria penelitian dan telah mampu beradaptasi dengan lingkungan pemeliharaan sehingga siap digunakan pada tahap perlakuan berikutnya. Setelah pemberian parasetamol dosis 1500 mg/kgBB selama tujuh hari, hampir seluruh kelompok perlakuan mengalami penurunan berat badan dibandingkan tahap adaptasi. Penurunan tersebut diduga disebabkan oleh efek toksik parasetamol yang meningkatkan stres oksidatif, mengganggu proses metabolisme, serta menurunkan kondisi fisiologis hewan uji [6]. Berbeda halnya dengan kelompok normal yang tidak mendapat induksi parasetamol tetap mengalami peningkatan berat badan sebagai bagian dari proses pertumbuhan normal.

Tahap pemberian perlakuan, sebagian besar kelompok yang memperoleh vitamin C, ekstrak kulit batang turi putih, maupun kombinasi keduanya mengalami peningkatan berat badan dibandingkan tahap sebelumnya. Peningkatan tersebut menunjukkan adanya perbaikan kondisi fisiologis setelah pemberian perlakuan. Sebaliknya, kelompok kontrol negatif hanya mengalami perubahan berat badan yang relatif kecil. Hasil ini mengindikasikan bahwa pemberian ekstrak kulit batang turi putih, baik secara tunggal maupun dikombinasikan dengan vitamin C, berpotensi membantu memperbaiki kondisi tubuh tikus yang sebelumnya mengalami penurunan berat badan akibat induksi parasetamol [7]. Sebelum dilakukan analisis statistik parametrik, data berat badan tikus terlebih dahulu diuji normalitas untuk mengetahui apakah distribusi data pada setiap kelompok memenuhi asumsi normalitas. Uji normalitas dilakukan pada setiap tahap pengamatan, yaitu fase adaptasi, fase induksi parasetamol, dan fase pemberian perlakuan. Data dinyatakan berdistribusi normal apabila nilai signifikansi ($p > 0,05$), sehingga layak dianalisis menggunakan uji parametrik [6].

Tabel 5. Analisis Uji Normalitas Berat Badan

Kelompok	Tahap 1		Tahap 2		Tahap 3	
	Df	Signifikan	Df	Signifikan	Df	Signifikan
Kn	4	0,426	4	0,529	4	0,583
K (-)	4	0,111	4	0,212	4	0,137
K (+1)	4	0,321	4	0,286	4	0,576
K (+2)	4	0,850	4	1,000	4	0,796
K (+3)	4	0,340	4	0,508	4	0,850
P1	4	0,715	4	0,925	4	0,850
P2	4	0,647	4	0,885	4	0,983
P3	4	0,765	4	0,034	4	0,086

Berdasarkan hasil uji normalitas pada Tabel 5, sebagian besar data berat badan tikus pada seluruh kelompok perlakuan menunjukkan distribusi normal. Pada tahap adaptasi, seluruh kelompok memiliki nilai signifikansi lebih besar dari 0,05, yang menunjukkan bahwa kondisi awal hewan uji relatif homogen dan tidak terdapat penyimpangan distribusi data. Kondisi ini mengindikasikan bahwa proses adaptasi mampu meminimalkan pengaruh stres akibat perpindahan lingkungan sehingga berat badan tikus berada dalam kondisi yang stabil. Setelah induksi parasetamol dosis 1500 mg/kgBB selama tujuh hari, hampir seluruh kelompok masih memenuhi asumsi normalitas. Namun, kelompok P3 menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,034 ($p < 0,05$), sehingga data pada kelompok tersebut tidak berdistribusi normal. Ketidaknormalan ini diduga disebabkan oleh variasi respons biologis masing-masing hewan uji terhadap induksi parasetamol, bukan semata-mata akibat pemberian parasetamol, karena kelompok perlakuan lainnya tetap menunjukkan distribusi data yang normal. Pada tahap pemberian perlakuan, seluruh kelompok kembali memiliki nilai signifikansi lebih besar dari 0,05. Berdasarkan hasil uji tersebut, sebagian besar data berat badan menunjukkan distribusi normal sehingga persyaratan untuk dilakukan analisis statistik parametrik telah terpenuhi. Dari keseluruhan 24 data pengamatan, hanya satu data yang tidak berdistribusi normal, sedangkan data lainnya memenuhi asumsi normalitas. Kondisi ini menunjukkan bahwa data yang diperoleh memiliki kualitas yang memadai dan dapat digunakan sebagai dasar dalam analisis statistik berikutnya.

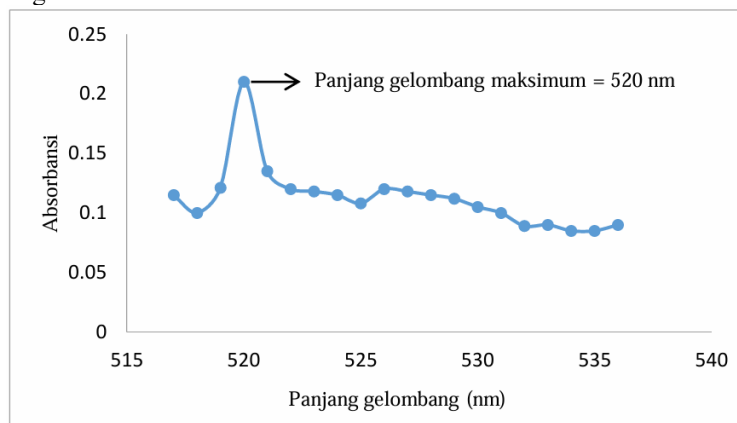
3. Aktivitas antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak kulit batang turi putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers.) pada penelitian ini dievaluasi melalui pengukuran kadar malondialdehid (MDA) dalam serum tikus. Malondialdehid merupakan produk akhir peroksidasi lipid yang banyak digunakan sebagai biomarker stres oksidatif. Semakin tinggi kadar MDA menunjukkan semakin besar kerusakan oksidatif yang terjadi pada membran sel, sedangkan penurunan kadar MDA setelah pemberian perlakuan mengindikasikan adanya aktivitas antioksidan yang mampu menghambat pembentukan radikal bebas [13]. Tahap awal sebelum pengukuran kadar MDA meliputi penentuan panjang gelombang maksimum

dan penyusunan kurva standar. Kedua tahapan tersebut dilakukan untuk memastikan bahwa proses analisis menghasilkan data yang akurat, konsisten, dan dapat dipertanggungjawabkan.

a. Penentuan panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk memperoleh panjang gelombang yang menghasilkan absorbansi tertinggi sehingga pengukuran kadar MDA dapat dilakukan secara optimal. Pengujian dilakukan pada rentang panjang gelombang 517–536 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Berdasarkan grafik pada Gambar 1, menunjukkan bahwa puncak absorbansi dicapai pada panjang gelombang 520 nm, sehingga nilai tersebut ditetapkan sebagai panjang gelombang maksimum. Hasil ini mendukung temuan penelitian sebelumnya [6] yang juga memperoleh panjang gelombang maksimum pada 520 nm. Atas dasar tersebut, seluruh pengukuran kadar MDA dalam penelitian ini dilakukan pada panjang gelombang 520 nm agar hasil analisis lebih akurat.

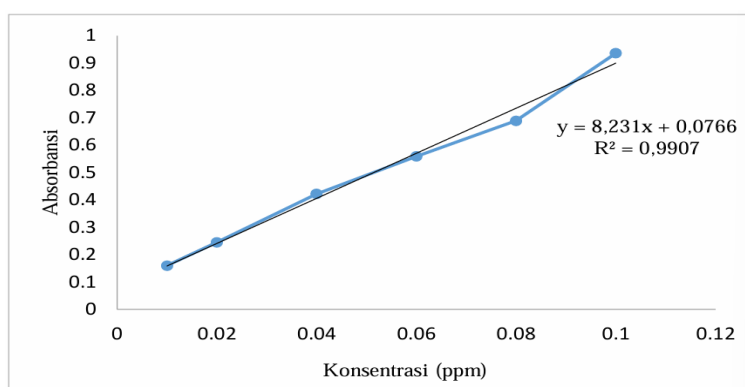


Gambar 1. Kurva Panjang Gelombang Maksimum

b. Pembuatan kurva standart

Kurva standar dibuat menggunakan larutan standar 1,1,3,3-tetramethoxypropane (TMP) sebagai dasar untuk menghitung kadar MDA dalam sampel serum tikus. Pembuatan kurva standar bertujuan memperoleh hubungan linier antara konsentrasi larutan standar dengan nilai absorbansi sehingga hasil pengukuran dapat dihitung secara kuantitatif [6].

Berdasarkan Gambar 2 diperoleh persamaan regresi linier $y = 8,321x + 0,0766$ dengan nilai koefisien determinasi ($R^2 = 0,9907$). Nilai R^2 yang mendekati 1 menunjukkan adanya hubungan linier yang sangat kuat antara konsentrasi larutan standar dengan absorbansi yang dihasilkan. Hal tersebut mengindikasikan bahwa kurva standar memiliki tingkat linearitas yang sangat baik sehingga layak digunakan sebagai dasar dalam menentukan kadar MDA pada sampel serum tikus. Dengan demikian, hasil pengukuran yang diperoleh memiliki tingkat akurasi dan ketelitian yang tinggi.



Gambar 2. Kurva standart MDA

c. **Pengukuran aktivitas antioksidan (kadar MDA) ekstrak kulit batang turi putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers.)**

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan melalui analisis kadar MDA serum tikus pada tiga tahap penelitian, yaitu setelah masa adaptasi, setelah induksi parasetamol dosis 1500 mg/kgBB, dan setelah pemberian Na-CMC, vitamin C, ekstrak kulit batang turi putih, maupun kombinasi keduanya. Pengukuran dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm untuk mengetahui perubahan kadar MDA sebagai indikator stres oksidatif.

Tabel 6. Kadar MDA

Kelompok	Jml. tikus	Kadar MDA rata-rata $\pm$ SD (ppm)		
		Tahap 1	Tahap 2	Tahap 3
Kn	4	0,2035 $\pm$ 0,0017	0,2040 $\pm$ 0,0029	0,2035 $\pm$ 0,0024
K (-)	4	0,2085 $\pm$ 0,0045	0,3063 $\pm$ 0,0017	0,2950 $\pm$ 0,0029
K (+1)	4	0,2080 $\pm$ 0,0036	0,3158 $\pm$ 0,0025	0,2993 $\pm$ 0,0046
K (+2)	4	0,2158 $\pm$ 0,0025	0,3168 $\pm$ 0,0038	0,2880 $\pm$ 0,0034
K (+3)	4	0,2093 $\pm$ 0,0034	0,3083 $\pm$ 0,0034	0,2843 $\pm$ 0,0034
P1	4	0,2128 $\pm$ 0,0063	0,3118 $\pm$ 0,0063	0,2818 $\pm$ 0,0063
P2	4	0,2135 $\pm$ 0,0105	0,3135 $\pm$ 0,0105	0,2785 $\pm$ 0,0105
P3	4	0,2083 $\pm$ 0,0090	0,3083 $\pm$ 0,0090	0,2683 $\pm$ 0,0090

Berdasarkan data pada Tabel 6, kadar MDA pada seluruh kelompok perlakuan selama tahap adaptasi menunjukkan nilai yang relatif seragam, yaitu berada pada rentang 0,2035–0,2158. Kelompok normal (Kn) memiliki kadar MDA terendah sebesar 0,2035, sedangkan kadar MDA tertinggi terdapat pada kelompok kontrol positif vitamin C (K+2), yaitu 0,2158. Perbedaan nilai antar kelompok pada tahap ini relatif kecil sehingga menunjukkan bahwa seluruh hewan uji memiliki kondisi fisiologis yang hampir sama sebelum diberikan induksi parasetamol maupun perlakuan. Keseragaman kadar MDA tersebut mengindikasikan bahwa proses adaptasi selama tiga hari berlangsung dengan baik dan belum terjadi peningkatan stres oksidatif yang dapat memengaruhi kondisi awal tikus. Setelah seluruh kelompok, kecuali kelompok normal, diinduksi parasetamol dosis 1500 mg/kgBB selama tujuh hari, terjadi peningkatan kadar MDA pada hampir seluruh kelompok perlakuan. Kelompok normal (Kn) tetap menunjukkan kadar MDA yang relatif stabil, yaitu 0,2040, sedangkan kelompok kontrol negatif (K-) mengalami peningkatan dari 0,2085 menjadi 0,3063.

Peningkatan kadar MDA juga terlihat pada kelompok K(+1), K(+2), K(+3), P1, P2, dan P3. Meningkatnya kadar MDA pada tahap ini menunjukkan bahwa induksi parasetamol dosis toksik berhasil memicu terjadinya stres oksidatif yang ditandai dengan meningkatnya proses peroksidasi lipid pada membran sel [12]. Pembentukan metabolit reaktif N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI) menyebabkan cadangan glutathione menurun sehingga produksi *reactive oxygen species* (ROS) meningkat dan memicu terbentuknya MDA sebagai produk akhir peroksidasi lipid. Setelah pemberian Na-CMC, vitamin C, ekstrak kulit batang turi putih, maupun kombinasi keduanya selama tujuh hari, kadar MDA pada seluruh kelompok perlakuan mengalami penurunan dibandingkan dengan tahap setelah induksi parasetamol. Penurunan terbesar terjadi pada kelompok P3 dengan kadar MDA 0,2683, kemudian diikuti kelompok P2 sebesar 0,2785, P1 sebesar 0,2818, K(+3) sebesar 0,2843, dan K(+2) sebesar 0,2880.

Sementara itu, kelompok kontrol negatif (K-) dan kontrol positif Na-CMC (K+1) masih menunjukkan kadar MDA yang relatif lebih tinggi, masing-masing sebesar 0,2950 dan 0,2993. Adapun kelompok normal tetap memiliki kadar MDA yang stabil pada kisaran 0,2035. Penurunan kadar MDA pada kelompok yang memperoleh ekstrak maupun kombinasi menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan mampu menghambat pembentukan radikal bebas serta menekan proses peroksidasi lipid akibat induksi parasetamol. Apabila dibandingkan dengan kondisi setelah induksi parasetamol, seluruh kelompok yang memperoleh ekstrak kulit batang turi putih menunjukkan penurunan kadar MDA. Penurunan tersebut juga tampak lebih optimal pada kelompok yang menerima kombinasi ekstrak dan vitamin C. Kelompok P3 menjadi kelompok dengan kadar MDA paling rendah, sehingga kombinasi ekstrak kulit batang turi putih dosis 1000 mg/kgBB dan vitamin C dosis 500 mg/kgBB diduga memiliki kemampuan antioksidan yang paling baik dalam menekan stres oksidatif. Efek tersebut diduga berkaitan dengan kerja sinergis senyawa flavonoid, fenolik, tanin, alkaloid, saponin, steroid, dan triterpenoid yang terkandung dalam ekstrak kulit batang turi putih bersama vitamin C dalam menetralkan radikal bebas, sehingga kerusakan membran sel akibat proses peroksidasi lipid dapat diminimalkan.

Sebelum dilakukan analisis statistik parametrik, data kadar malondialdehid (MDA) terlebih dahulu diuji normalitas menggunakan uji Shapiro-Wilk untuk mengetahui apakah distribusi data pada setiap kelompok memenuhi asumsi normalitas. Data dinyatakan berdistribusi normal apabila memiliki nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p > 0,05$), sehingga dapat dilanjutkan dengan analisis parametrik menggunakan uji One-Way ANOVA.

Tabel 7. Analisis Uji Normalitas Kadar MDA (Antioksidan)

Kelompok	Tahap 1		Tahap 2		Tahap 3	
	Df	Signifikan	Df	Signifikan	Df	Signifikan
Kn	4	0,024	4	0,348	4	0,488
K (-)	4	0,230	4	0,850	4	0,734
K (+1)	4	0,405	4	0,911	4	0,691
K (+2)	4	0,911	4	0,976	4	1,000
K (+3)	4	0,556	4	0,556	4	0,556
P1	4	0,641	4	0,641	4	0,641
P2	4	0,099	4	0,099	4	0,099
P3	4	0,319	4	0,319	4	0,319

Berdasarkan hasil uji normalitas pada Tabel 7, sebagian besar data kadar MDA pada seluruh kelompok perlakuan menunjukkan distribusi normal. Pada tahap adaptasi (Tahap 1), kelompok normal (Kn) memiliki nilai signifikansi sebesar 0,024 ($p < 0,05$) sehingga data pada kelompok tersebut tidak berdistribusi normal. Sementara itu, kelompok K(-), K(+1), K(+2), K(+3), P1, P2, dan P3 memiliki nilai signifikansi masing-masing sebesar 0,230; 0,405; 0,911; 0,556; 0,641; 0,099; dan 0,319 ($p > 0,05$), yang menunjukkan bahwa data pada kelompok tersebut berdistribusi normal. Ketidaknormalan pada kelompok normal diduga dipengaruhi oleh variasi biologis antar individu tikus, mengingat seluruh hewan uji masih berada pada kondisi fisiologis normal dan belum mendapatkan perlakuan yang dapat memengaruhi kadar MDA. Pada tahap setelah induksi parasetamol (Tahap 2), seluruh kelompok menunjukkan nilai signifikansi lebih besar dari 0,05, yaitu Kn (0,348), K(-) (0,850), K(+1) (0,911), K(+2) (0,976), K(+3) (0,556), P1 (0,641), P2 (0,099), dan P3 (0,319). Hasil tersebut menunjukkan bahwa seluruh data kadar MDA pada tahap ini telah memenuhi asumsi distribusi normal. Kondisi yang sama juga terlihat pada tahap setelah pemberian Na-CMC, vitamin C, ekstrak kulit batang turi putih, maupun kombinasi perlakuan (Tahap 3). Seluruh kelompok memiliki nilai signifikansi lebih besar dari 0,05, yaitu Kn (0,488), K(-) (0,734), K(+1) (0,691), K(+2) (1,000), K(+3) (0,556), P1 (0,641), P2 (0,099), dan P3 (0,319). Dengan demikian, data kadar MDA pada tahap kedua dan ketiga memenuhi asumsi normalitas sehingga layak dianalisis menggunakan uji statistik parametrik. Setelah diketahui bahwa sebagian besar data memenuhi asumsi normalitas, analisis dilanjutkan menggunakan uji One-Way ANOVA untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan kadar MDA antar kelompok perlakuan pada setiap tahap penelitian.

Tabel 8. Analisis Uji One Way Anova Kadar MDA

Tahap	Sig.Anova	Kesimpulan
Adaptasi	0,162	Tidak terdapat perbedaan signifikan
Parasetamol	0,000	Terdapat perbedaan signifikan
Kombinasi	0,000	Terdapat perbedaan signifikan

Berdasarkan hasil uji One-Way ANOVA pada Tabel 14, tahap adaptasi menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,162 ($p > 0,05$), sehingga tidak terdapat perbedaan kadar MDA yang bermakna antar kelompok perlakuan. Hasil tersebut menunjukkan bahwa seluruh hewan uji memiliki kondisi awal yang relatif homogen sebelum diberikan induksi parasetamol maupun perlakuan, sehingga perubahan kadar MDA yang terjadi pada tahap berikutnya dapat dikaitkan dengan perlakuan yang diberikan selama penelitian. Sebaliknya, pada tahap setelah induksi parasetamol diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$) yang menunjukkan adanya perbedaan kadar MDA yang signifikan antar kelompok. Hasil ini mengindikasikan bahwa pemberian parasetamol dosis 1500 mg/kgBB mampu meningkatkan stres oksidatif yang ditandai dengan perubahan kadar MDA pada hewan uji. Peningkatan kadar MDA tersebut terjadi akibat terbentuknya metabolit reaktif *N-acetyl-p-benzoquinone imine* (NAPQI) yang menghabiskan cadangan glutathione (GSH), sehingga pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) meningkat dan memicu terjadinya peroksidasi lipid pada membran sel.

Analisis pada tahap setelah pemberian perlakuan juga menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$), yang menandakan adanya perbedaan kadar MDA yang bermakna antar kelompok setelah pemberian Na-CMC, vitamin C, ekstrak kulit batang turi putih, maupun kombinasi keduanya. Hasil tersebut menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan memberikan respons yang berbeda dalam menurunkan kadar MDA sebagai indikator stres oksidatif. Oleh karena itu, analisis dilanjutkan menggunakan uji lanjut Tukey HSD untuk mengetahui pasangan kelompok yang memiliki perbedaan secara signifikan yaitu MDA perlakuan parasetamol yang memiliki perbedaan signifikan kelompok 1 dan 2, kelompok 1 dan 3, kelompok 1 dan 4, kelompok 1 dan 5, kelompok 1 dan 6, kelompok 1 dan 7, kelompok 1 dan 8. Kemudian MDA perlakuan kombinasi yang memiliki perbedaan signifikan kelompok 1 dan 2, kelompok 1 dan 3, kelompok 1 dan 4, kelompok 1 dan 5, kelompok 1 dan 6, kelompok 1 dan 7, kelompok 1 dan 8, kelompok 2 dan 7, kelompok 2 dan 8, kelompok 3 dan 5, kelompok 3 dan 6, kelompok 3 dan 7, kelompok 3 dan 8, kelompok 4 dan 8, kelompok 5 dan 8. Secara keseluruhan, hasil uji One-Way ANOVA menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kulit batang turi putih, baik secara tunggal maupun dikombinasikan dengan vitamin C, memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar MDA pada tikus yang diinduksi parasetamol, sehingga berpotensi memberikan efek antioksidan dalam mengurangi stres oksidatif.

4. Kadar BUN dan Kreatinin

a. Kadar Blood Urea Nitrogen

Blood Urea Nitrogen (BUN) merupakan salah satu parameter biokimia yang digunakan untuk mengevaluasi fungsi ginjal melalui pengukuran kadar urea dalam darah. Urea merupakan hasil akhir metabolisme protein yang disintesis di hati dan diekskresikan oleh ginjal. Peningkatan kadar BUN umumnya mengindikasikan adanya penurunan kemampuan filtrasi ginjal akibat kerusakan jaringan atau gangguan fungsi nefron [14]. Oleh karena itu, pengukuran kadar BUN pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek nefroprotektif ekstrak kulit batang turi putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers.) yang diberikan secara tunggal maupun dikombinasikan dengan vitamin C terhadap tikus yang diinduksi parasetamol dosis toksik.

Berdasarkan hasil pengamatan pada Tabel 9, kadar BUN pada tahap adaptasi (Tahap 1) berada pada kisaran 30,6–46,0 mg/dL. Sebagian besar kelompok masih berada dalam rentang normal kadar BUN tikus, yaitu 36,2–49 mg/dL. Nilai tertinggi dijumpai pada kelompok P2 sebesar $46,0 \pm 2,88$ mg/dL, sedangkan nilai terendah terdapat pada kelompok P1 sebesar $30,6 \pm 8,41$ mg/dL. Meskipun terdapat sedikit variasi antar kelompok, kondisi tersebut menunjukkan bahwa fungsi ginjal seluruh hewan uji masih relatif normal sebelum diberikan induksi parasetamol maupun perlakuan, sehingga setiap kelompok memiliki kondisi awal yang sebanding. Setelah pemberian parasetamol dosis 1500 mg/kgBB selama tujuh hari (Tahap 2), kadar BUN meningkat pada hampir seluruh kelompok perlakuan, sedangkan kelompok normal (Kn) justru mengalami sedikit penurunan. Pada kelompok K(-), kadar BUN meningkat dari 45,0 mg/dL menjadi 68,8 mg/dL, atau bertambah 23,8 mg/dL (52,9%). Peningkatan juga terjadi pada kelompok K(+1), yaitu dari 41,3 mg/dL menjadi 69,9 mg/dL atau sebesar 28,6 mg/dL (69,2%), yang merupakan salah satu peningkatan tertinggi. Kelompok K(+2) meningkat sebesar 26,1 mg/dL (74,4%), sedangkan kelompok K(+3) mengalami kenaikan 28,7 mg/dL (84,7%). Pada kelompok kombinasi, peningkatan kadar BUN terjadi sebesar 30,0 mg/dL (98,0%) pada P1, 22,2 mg/dL (48,3%) pada P2, dan 20,1 mg/dL (53,5%) pada P3. Sebaliknya, kelompok Kn mengalami penurunan ringan dari 45,1 mg/dL menjadi 43,6 mg/dL atau sekitar 3,3%, yang masih berada dalam rentang fisiologis normal dan diduga dipengaruhi oleh variasi metabolisme protein, proses ekskresi urea, maupun kondisi hidrasi hewan uji selama pemeliharaan.

Tabel 9. Hasil Kadar BUN

Kelompok	Jml. tikus	Hasil BUN rata-rata $\pm$ SD (mg/dl)		
		Tahap 1	Tahap 2	Tahap 3
Kn	4	45,1 $\pm$ 1,23	43,6 $\pm$ 2,01	41,8 $\pm$ 1,61
K (-)	4	45,0 $\pm$ 2,03	68,8 $\pm$ 10,55	61,5 $\pm$ 11,07
K (+1)	4	41,3 $\pm$ 7,41	69,9 $\pm$ 10,53	66,7 $\pm$ 11,86
K (+2)	4	35,1 $\pm$ 10,76	61,2 $\pm$ 5,09	44,5 $\pm$ 2,63
K (+3)	4	33,9 $\pm$ 5,98	62,6 $\pm$ 8,80	49,6 $\pm$ 4,28
P1	4	30,6 $\pm$ 8,41	60,6 $\pm$ 6,19	53,4 $\pm$ 4,80
P2	4	46,0 $\pm$ 2,88	68,2 $\pm$ 23,27	52,1 $\pm$ 18,79
P3	4	37,6 $\pm$ 11,71	57,7 $\pm$ 5,38	41,2 $\pm$ 5,61
Nilai Normal : 36,2-49 mg/dl [15].				

Berdasarkan hasil pengamatan pada Tabel 9, kadar BUN pada tahap adaptasi (Tahap 1) berada pada kisaran 30,6–46,0 mg/dL. Sebagian besar kelompok masih berada dalam rentang normal kadar BUN tikus, yaitu 36,2–49 mg/dL. Nilai tertinggi dijumpai pada kelompok P2 sebesar $46,0 \pm 2,88$ mg/dL, sedangkan nilai terendah terdapat pada kelompok P1 sebesar $30,6 \pm 8,41$ mg/dL. Meskipun terdapat sedikit variasi antar kelompok, kondisi tersebut menunjukkan bahwa fungsi ginjal seluruh hewan uji masih relatif normal sebelum diberikan induksi parasetamol maupun perlakuan, sehingga setiap kelompok memiliki kondisi awal yang sebanding. Setelah pemberian parasetamol dosis 1500 mg/kgBB selama tujuh hari (Tahap 2), kadar BUN meningkat pada hampir seluruh kelompok perlakuan, sedangkan kelompok normal (Kn) justru mengalami sedikit penurunan. Pada kelompok K(-), kadar BUN meningkat dari 45,0 mg/dL menjadi 68,8 mg/dL, atau bertambah 23,8 mg/dL (52,9%). Peningkatan juga terjadi pada kelompok K(+1), yaitu dari 41,3 mg/dL menjadi 69,9 mg/dL atau sebesar 28,6 mg/dL (69,2%), yang merupakan salah satu peningkatan tertinggi. Kelompok K(+2) meningkat sebesar 26,1 mg/dL (74,4%), sedangkan kelompok K(+3) mengalami kenaikan 28,7 mg/dL (84,7%). Pada kelompok kombinasi, peningkatan kadar BUN terjadi sebesar 30,0 mg/dL (98,0%) pada P1, 22,2 mg/dL (48,3%) pada P2, dan 20,1 mg/dL (53,5%) pada P3. Sebaliknya, kelompok Kn mengalami penurunan ringan dari 45,1 mg/dL menjadi 43,6 mg/dL atau sekitar 3,3%, yang masih berada dalam rentang fisiologis normal dan diduga dipengaruhi oleh variasi metabolisme protein, proses ekskresi urea, maupun kondisi hidrasi hewan uji selama pemeliharaan.

Peningkatan kadar BUN setelah induksi parasetamol menunjukkan terjadinya gangguan fungsi ginjal akibat akumulasi metabolit toksik N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI). Pada dosis toksik, pembentukan NAPQI meningkat dan menyebabkan cadangan glutathione (GSH) menurun sehingga metabolit tersebut tidak dapat didetoksifikasi secara optimal. Akumulasi NAPQI selanjutnya memicu pembentukan *reactive oxygen species* (ROS), meningkatkan stres oksidatif, serta menyebabkan kerusakan sel-sel ginjal. Kerusakan tersebut mengurangi kemampuan ginjal mengekskresikan produk sisa metabolisme nitrogen, termasuk urea, sehingga kadar BUN dalam sirkulasi darah meningkat. Setelah pemberian Na-CMC, vitamin C, ekstrak kulit batang turi putih, maupun kombinasi keduanya selama tujuh hari (Tahap 3), kadar BUN mengalami penurunan pada seluruh kelompok perlakuan. Kelompok normal (Kn) kembali mengalami sedikit penurunan dari 43,6 mg/dL menjadi 41,5 mg/dL atau sekitar 4,8%, yang menunjukkan bahwa fungsi ginjal tetap stabil selama penelitian. Pada kelompok K(-), kadar BUN menurun dari 68,8 mg/dL menjadi 61,5 mg/dL atau sebesar 10,6%, sedangkan kelompok K(+1) hanya mengalami penurunan 4,6%, mengindikasikan bahwa Na-CMC tidak memberikan efek perlindungan terhadap ginjal. Sebaliknya, kelompok K(+2) mengalami penurunan sebesar 27,3%, kelompok K(+3) sebesar 20,8%, kelompok P1 sebesar 11,9%, kelompok P2 sebesar 23,6%, dan kelompok P3 sebesar 28,6%. Penurunan terbesar dijumpai pada kelompok P3, sedangkan penurunan terkecil terdapat pada kelompok K(+1).

Apabila dibandingkan dengan nilai normal kadar BUN tikus (36,2–49 mg/dL), pada Tahap 3 kelompok P3 (41,2 mg/dL) dan K(+2) (44,5 mg/dL) telah kembali berada dalam rentang normal. Kelompok K(+3) memiliki kadar 49,6 mg/dL, yang mendekati batas atas nilai normal, sedangkan kelompok P1, P2, K(-), dan K(+1) masih menunjukkan kadar BUN di atas rentang normal. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak kulit batang turi putih dosis 1000 mg/kgBB dan vitamin C dosis 500 mg/kgBB (P3) memberikan efek paling baik dalam memperbaiki gangguan fungsi ginjal akibat induksi parasetamol. Jika diamati secara keseluruhan mulai dari tahap adaptasi hingga akhir perlakuan, kelompok P3 menunjukkan pola perbaikan kadar BUN yang paling optimal dibandingkan kelompok kombinasi lainnya. Pada tahap adaptasi, kadar BUN kelompok P3 masih berada dalam kisaran normal (37,6 mg/dL), kemudian meningkat menjadi 57,7 mg/dL setelah induksi parasetamol, dan kembali menurun menjadi 41,2 mg/dL setelah pemberian kombinasi perlakuan. Nilai akhir tersebut lebih rendah dibandingkan kelompok P1 (53,4 mg/dL) maupun P2 (52,1 mg/dL), sehingga menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak dosis tinggi dengan vitamin C dosis lebih rendah lebih efektif dalam memperbaiki fungsi ginjal.

Efektivitas kelompok P3 diduga berkaitan dengan tingginya kandungan metabolit sekunder pada ekstrak kulit batang turi putih, terutama flavonoid, senyawa fenolik, dan tanin, yang memiliki aktivitas antioksidan kuat. Senyawa-senyawa tersebut mampu mendonorkan elektron untuk menetralkan radikal bebas, menghambat proses peroksidasi lipid, serta melindungi sel-sel ginjal dari kerusakan akibat stres oksidatif yang dipicu oleh metabolit toksik NAPQI. Selain itu, vitamin C sebagai antioksidan nonenzimatik berperan menangkap radikal bebas dan membantu regenerasi sistem antioksidan endogen sehingga proses pemulihan jaringan ginjal berlangsung lebih optimal.

Kelompok P2, yang menerima vitamin C dalam jumlah lebih besar dibandingkan ekstrak kulit batang turi putih, masih memperlihatkan kadar Blood Urea Nitrogen (BUN) yang belum kembali ke rentang

normal, meskipun terjadi penurunan dibandingkan setelah induksi parasetamol. Temuan tersebut menunjukkan bahwa peningkatan dosis vitamin C tidak selalu berbanding lurus dengan peningkatan efek nefroprotektif. Fenomena ini diduga berkaitan dengan sifat vitamin C dan beberapa senyawa fenolik yang pada konsentrasi tinggi dapat beralih dari antioksidan menjadi prooksidan, sehingga kemampuan dalam menekan stres oksidatif menjadi kurang optimal. Adapun pada kelompok P1, dosis ekstrak dan vitamin C yang sama besar diduga belum mampu menyediakan kapasitas antioksidan yang cukup untuk memperbaiki kerusakan ginjal secara maksimal.

Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak kulit batang turi putih dosis 1000 mg/kgBB dengan vitamin C dosis 500 mg/kgBB memberikan efek sinergis dalam menurunkan kadar BUN dan memperbaiki fungsi ginjal. Hubungan sinergis tersebut menunjukkan bahwa kedua komponen saling melengkapi dalam menekan stres oksidatif sehingga memberikan efek nefroprotektif yang lebih baik dibandingkan pemberian ekstrak maupun vitamin C secara tunggal. Meskipun kelompok K(+2) yang diberikan vitamin C tunggal menunjukkan penurunan kadar BUN yang sedikit lebih besar secara absolut, yaitu sebesar 16,7 mg/dL dibandingkan kelompok P3 sebesar 16,5 mg/dL, perbedaan tersebut relatif kecil sehingga diduga dipengaruhi oleh variasi biologis antar hewan uji. Akan tetapi, apabila dilihat berdasarkan kadar BUN akhir setelah perlakuan, kelompok P3 memiliki nilai yang lebih rendah, yaitu 41,2 mg/dL dibandingkan kelompok K(+2) sebesar 44,5 mg/dL, serta berada lebih dekat dengan rentang normal kadar BUN tikus.

Selain itu, jika dibandingkan antar kelompok kombinasi, kelompok P3 juga menunjukkan hasil yang paling baik dibandingkan P1 dan P2. Hal ini mengindikasikan bahwa kombinasi ekstrak kulit batang turi putih dosis 1000 mg/kgBB dengan vitamin C dosis 500 mg/kgBB memberikan efek nefroprotektif yang lebih optimal. Kondisi tersebut diduga karena kandungan senyawa antioksidan pada ekstrak, seperti flavonoid, fenolik, dan tanin, bekerja bersama vitamin C dalam menekan pembentukan radikal bebas dan mengurangi stres oksidatif akibat metabolit toksik parasetamol. Dengan demikian, efektivitas perlakuan tidak hanya ditentukan oleh besarnya penurunan kadar BUN, tetapi juga oleh kemampuan perlakuan dalam mengembalikan kadar BUN mendekati kondisi fisiologis normal. Sebelum dilakukan analisis komparatif, data kadar BUN diuji normalitas menggunakan uji Shapiro–Wilk untuk memastikan bahwa data memenuhi asumsi analisis parametrik.

Hasil uji normalitas (Tabel 10) menunjukkan bahwa pada Tahap 1 seluruh kelompok memiliki nilai signifikansi lebih dari 0,05, dengan rentang 0,246–0,849, sehingga seluruh data berdistribusi normal. Hasil yang sama juga diperoleh pada Tahap 2 dengan nilai signifikansi 0,117–0,980, serta pada Tahap 3 dengan rentang 0,055–0,966. Dengan demikian, seluruh data kadar BUN memenuhi asumsi normalitas sehingga layak dianalisis menggunakan uji One-Way ANOVA.

Tabel 10. Analisis Uji Normalitas Kadar BUN dan Kreatinin

Kelompok	Tahap 1			Tahap 2			Tahap 3		
	Df	BUN	Kreatinin	Df	BUN	Kreatinin	Df	BUN	Kreatinin
Kn	4	0,564	0,070	4	0,053	0,066	4	0,508	0,845
K (-)	4	0,597	0,743	4	0,750	0,898	4	0,095	0,296
K (+1)	4	0,246	0,575	4	0,980	0,272	4	0,710	0,918
K (+2)	4	0,803	0,561	4	0,140	0,900	4	0,966	0,479
K (+3)	4	0,849	0,272	4	0,888	0,079	4	0,168	0,677
P1	4	0,801	0,216	4	0,452	0,149	4	0,783	0,554
P2	4	0,430	0,555	4	0,117	0,798	4	0,129	0,945
P3	4	0,613	0,522	4	0,312	0,653	4	0,055	0,827

Tabel 11. Analisis Uji One Way Anova dan Games Howell Kadar BUN

Tahap	Sig. BUN	Kesimpulan
Adaptasi	0,036	ada pasangan berbeda
Paracetamol	0,047	Kn ↔ K(+2) berbeda signifikan
Kombinasi	0,006	ada pasangan berbeda

Hasil uji One-Way ANOVA menunjukkan bahwa pada tahap adaptasi diperoleh nilai signifikansi 0,036 ($p < 0,05$), yang menunjukkan adanya perbedaan rata-rata kadar BUN antar kelompok. Namun demikian, hasil uji lanjut Games-Howell tidak menunjukkan adanya pasangan kelompok yang berbeda secara

signifikan, sehingga perbedaan tersebut tidak berasal dari perbedaan nyata antara dua kelompok tertentu. Pada tahap setelah induksi parasetamol diperoleh nilai signifikansi 0,047 ($p < 0,05$), yang menunjukkan adanya perbedaan kadar BUN antar kelompok. Uji Games-Howell memperlihatkan bahwa hanya pasangan kelompok Kn dan K(+2) yang berbeda secara signifikan, sedangkan kelompok lainnya tidak menunjukkan perbedaan bermakna. Setelah pemberian perlakuan, nilai signifikansi sebesar 0,006 ($p < 0,05$) kembali menunjukkan adanya perbedaan kadar BUN antar kelompok. Meskipun demikian, uji lanjut Games-Howell tidak menemukan pasangan kelompok yang berbeda nyata, yang mengindikasikan bahwa kadar BUN pada seluruh kelompok mulai mendekati kondisi yang lebih seragam setelah pemberian perlakuan. Hasil ini memperkuat bahwa pemberian ekstrak kulit batang turi putih, vitamin C, maupun kombinasi keduanya berkontribusi terhadap perbaikan fungsi ginjal yang terganggu akibat induksi parasetamol.

b. Kadar Kreatinin

Kreatinin merupakan salah satu biomarker yang paling banyak digunakan untuk mengevaluasi fungsi filtrasi ginjal. Senyawa ini merupakan hasil akhir metabolisme kreatin fosfat di otot yang diproduksi secara relatif konstan dan diekskresikan hampir seluruhnya melalui proses filtrasi glomerulus. Oleh karena itu, peningkatan kadar kreatinin dalam darah mencerminkan penurunan laju filtrasi glomerulus (glomerular filtration rate/GFR) dan mengindikasikan adanya gangguan fungsi ginjal. Pada penelitian ini, pengukuran kadar kreatinin dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan ekstrak kulit batang turi putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers.), baik secara tunggal maupun dalam kombinasi dengan vitamin C, dalam memperbaiki fungsi ginjal tikus yang mengalami kerusakan akibat induksi parasetamol dosis toksik [16].

Berdasarkan Tabel 12, seluruh kelompok pada tahap adaptasi (Tahap 1) memiliki kadar kreatinin berkisar 0,34–0,51 mg/dL. Nilai tersebut masih berada dalam rentang fisiologis kreatinin tikus (0,2–0,8 mg/dL), sehingga menunjukkan bahwa fungsi ginjal hewan uji masih normal sebelum dilakukan induksi maupun pemberian perlakuan. Keseragaman kondisi awal ini menjadi dasar bahwa perubahan kadar kreatinin pada tahap berikutnya merupakan respons terhadap induksi parasetamol maupun pemberian perlakuan. Setelah induksi parasetamol dosis 1500 mg/kgBB selama tujuh hari (Tahap 2), hampir seluruh kelompok mengalami peningkatan kadar kreatinin. Pada kelompok normal (Kn), kadar kreatinin meningkat dari 0,46 mg/dL menjadi 0,88 mg/dL, atau bertambah 0,42 mg/dL (91,3%). Kelompok kontrol negatif (K-) meningkat dari 0,51 mg/dL menjadi 0,94 mg/dL, atau sebesar 84,3%. Adanya peningkatan kadar kreatinin pada kelompok normal (Kn) menunjukkan bahwa parameter biokimia pada hewan coba tidak sepenuhnya bersifat statis. Fluktuasi nilai pada kelompok Kn dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti variasi biologis individu, perubahan konsumsi pakan dan air minum, tingkat aktivitas, stres akibat handling selama perlakuan dan pengambilan sampel, serta perbedaan laju metabolisme antar hewan uji. Selain itu, jumlah sampel yang relatif sedikit ($n=4$) menyebabkan perubahan nilai pada satu ekor tikus dapat memberikan pengaruh yang cukup besar terhadap rata-rata kelompok. Oleh karena itu, peningkatan dan penurunan yang terjadi pada kelompok Kn kemungkinan merupakan variasi fisiologis dan bukan akibat adanya kerusakan ginjal.

Meskipun kelompok Kn menunjukkan adanya fluktuasi kadar kreatinin, perubahan tersebut tidak meniadakan keberhasilan penelitian ini. Hal ini karena tujuan utama penelitian adalah membandingkan respons antar kelompok perlakuan yang sama-sama mendapatkan induksi parasetamol dan kemudian diberikan perlakuan yang berbeda. Kelompok P3 tetap menunjukkan efektivitas yang paling baik karena mampu menurunkan kadar kreatinin dari 0,90 mg/dL menjadi 0,36 mg/dL (60,0%) dan menghasilkan nilai akhir yang paling mendekati kelompok normal, bahkan lebih rendah dibandingkan kelompok K(+2), P1, dan P2. Selain itu, pada parameter lain seperti BUN dan MDA, kelompok P3 juga secara konsisten menunjukkan perbaikan yang lebih optimal dibandingkan kelompok kombinasi lainnya. Dengan demikian, fluktuasi pada kelompok Kn lebih mencerminkan adanya variasi fisiologis selama penelitian, sedangkan efektivitas perlakuan tetap dinilai berdasarkan pola perubahan yang terjadi pada kelompok yang diinduksi parasetamol.

Peningkatan paling tinggi terjadi pada kelompok K(+1), yaitu dari 0,45 mg/dL menjadi 1,38 mg/dL, meningkat 0,93 mg/dL (206,7%). Sementara itu, kelompok K(+2) mengalami peningkatan sebesar 122,4%, K(+3) sebesar 111,9%, kelompok P1 sebesar 102,3%, kelompok P2 sebesar 52,4%, dan kelompok P3 sebesar 164,7%. Sebagian besar kelompok bahkan memiliki kadar kreatinin melebihi batas normal, yang menunjukkan bahwa pemberian parasetamol dosis toksik berhasil mengganggu fungsi filtrasi ginjal. Peningkatan kadar kreatinin tersebut diduga terjadi akibat pembentukan metabolit reaktif *N-acetyl-p-benzoquinone imine* (NAPQI) selama proses metabolisme parasetamol. Pada kondisi overdosis, cadangan *glutathione* (GSH) mengalami penurunan sehingga NAPQI tidak dapat didetoksifikasi secara optimal dan akhirnya memicu peningkatan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS). Akumulasi ROS selanjutnya menyebabkan stres oksidatif yang merusak sel-sel tubulus ginjal, mengganggu proses filtrasi, serta

menurunkan kemampuan ginjal dalam mengekskresikan kreatinin. Akibatnya, kreatinin tertahan di dalam sirkulasi darah sehingga kadarnya meningkat.

Tabel 12. Hasil Kadar Kreatinin

Kelompok	Jml. tikus	Hasil Kreatinin rata-rata $\pm$ SD (mg/dl)		
		Tahap 1	Tahap 2	Tahap 3
Kn	4	0,46 $\pm$ 0,10	0,88 $\pm$ 0,04	0,37 $\pm$ 0,08
K (-)	4	0,51 $\pm$ 0,09	0,94 $\pm$ 0,08	0,87 $\pm$ 0,06
K (+1)	4	0,45 $\pm$ 0,08	1,38 $\pm$ 0,29	1,19 $\pm$ 0,31
K (+2)	4	0,49 $\pm$ 0,12	1,09 $\pm$ 0,22	0,66 $\pm$ 0,36
K (+3)	4	0,42 $\pm$ 0,06	0,89 $\pm$ 0,01	0,39 $\pm$ 0,05
P1	4	0,44 $\pm$ 0,08	0,89 $\pm$ 0,07	0,49 $\pm$ 0,12
P2	4	0,42 $\pm$ 0,15	0,64 $\pm$ 0,40	0,41 $\pm$ 0,10
P3	4	0,34 $\pm$ 0,09	0,90 $\pm$ 0,03	0,36 $\pm$ 0,05

Nilai Normal : 0,2-0,8 mg/dl [7].

Setelah pemberian perlakuan selama tujuh hari (Tahap 3), sebagian besar kelompok menunjukkan penurunan kadar kreatinin. Kelompok K(-) mengalami penurunan dari 0,94 mg/dL menjadi 0,87 mg/dL, atau sebesar 7,4%, namun nilainya masih berada di atas kisaran normal. Kelompok K(+1) yang hanya memperoleh Na-CMC 1% mengalami penurunan sebesar 13,8%, dari 1,38 mg/dL menjadi 1,19 mg/dL, tetapi tetap menjadi kelompok dengan kadar kreatinin tertinggi. Kondisi ini menunjukkan bahwa Na-CMC hanya berfungsi sebagai bahan pensuspensi dan tidak memiliki aktivitas nefroprotektif. Kelompok K(+2) yang memperoleh vitamin C mengalami penurunan kadar kreatinin dari 1,09 mg/dL menjadi 0,66 mg/dL, atau sebesar 39,4%, sehingga kembali berada dalam kisaran normal. Penurunan tersebut menunjukkan bahwa vitamin C mampu mengurangi kerusakan oksidatif melalui mekanisme penangkapan radikal bebas, regenerasi sistem antioksidan endogen, serta mempertahankan cadangan *glutathione* (GSH). Dengan demikian, kerusakan sel-sel ginjal akibat paparan metabolit toksik parasetamol dapat diminimalkan sehingga fungsi filtrasi ginjal kembali membaik.

Kelompok K(+3) yang diberikan ekstrak kulit batang turi putih dosis 1000 mg/kgBB mengalami penurunan kadar kreatinin yang lebih besar, yaitu dari 0,89 mg/dL menjadi 0,39 mg/dL, atau sebesar 56,2%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang turi putih memiliki kemampuan yang lebih baik dibandingkan vitamin C tunggal dalam memperbaiki fungsi ginjal. Efek tersebut diduga berasal dari kandungan flavonoid, fenolik, dan tanin yang bekerja sebagai antioksidan kuat sehingga mampu menekan pembentukan ROS, menghambat peroksidasi lipid, dan melindungi sel-sel tubulus ginjal dari kerusakan oksidatif. Pada kelompok kombinasi, P1 mengalami penurunan kadar kreatinin dari 0,89 mg/dL menjadi 0,49 mg/dL atau sebesar 44,9%, sedangkan kelompok P2 menurun dari 0,64 mg/dL menjadi 0,41 mg/dL atau sebesar 35,9%. Penurunan terbesar diperoleh pada kelompok P3, yaitu dari 0,90 mg/dL menjadi 0,36 mg/dL, atau turun sebesar 60,0% sehingga nilainya mendekati kelompok normal. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak kulit batang turi putih dengan vitamin C, khususnya pada kelompok P3, memberikan efek nefroprotektif yang paling baik dalam memperbaiki fungsi ginjal setelah kerusakan akibat induksi parasetamol.

Apabila dibandingkan sejak tahap adaptasi hingga akhir perlakuan, kelompok P3 menunjukkan pola perbaikan kadar kreatinin yang paling optimal dibandingkan kelompok kombinasi lainnya. Pada tahap adaptasi kadar kreatinin kelompok P3 sebesar 0,34 mg/dL, kemudian meningkat menjadi 0,90 mg/dL setelah induksi parasetamol, dan kembali menurun menjadi 0,36 mg/dL setelah pemberian kombinasi perlakuan. Nilai akhir tersebut lebih rendah dibandingkan kelompok P1 (0,49 mg/dL) maupun P2 (0,41 mg/dL), sehingga menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak dosis tinggi dengan vitamin C dosis lebih rendah memberikan efek perlindungan ginjal yang lebih baik. Efektivitas kelompok P3 diduga berkaitan dengan komposisi dosis ekstrak kulit batang turi putih yang lebih tinggi dibandingkan vitamin C. Kandungan flavonoid, senyawa fenolik, dan tanin yang lebih banyak memungkinkan aktivitas antioksidan berlangsung lebih optimal melalui mekanisme donasi elektron, penghambatan peroksidasi lipid, serta perlindungan terhadap sel-sel tubulus ginjal dari kerusakan akibat metabolit toksik NAPQI. Di sisi lain, vitamin C sebagai antioksidan larut air membantu menangkap radikal bebas, mempertahankan kadar *glutathione*, serta mendukung regenerasi sistem antioksidan endogen sehingga proses pemulihan jaringan ginjal berlangsung lebih efektif.

Sebaliknya, pada kelompok P2 dengan komposisi vitamin C lebih tinggi daripada ekstrak, kadar kreatinin memang kembali ke kisaran normal, namun penurunannya masih lebih kecil dibandingkan

kelompok P3. Hal tersebut menunjukkan bahwa peningkatan dosis vitamin C tidak selalu menghasilkan efek nefroprotektif yang lebih baik. Pada konsentrasi tertentu, vitamin C dapat menunjukkan aktivitas prooksidan melalui interaksi dengan ion logam transisi sehingga berpotensi meningkatkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS). Sementara itu, pada kelompok P1 dengan perbandingan dosis 1:1, jumlah senyawa aktif dari ekstrak diduga belum cukup optimal untuk memberikan perlindungan maksimal terhadap kerusakan ginjal. Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak kulit batang turi putih dosis 1000 mg/kgBB dan vitamin C dosis 500 mg/kgBB memberikan efek sinergis dalam memperbaiki fungsi ginjal. Sinergisme tersebut terlihat dari kemampuan kedua komponen dalam menekan stres oksidatif, mengurangi kerusakan sel ginjal, serta mengembalikan kadar kreatinin mendekati kondisi normal. Oleh karena itu, kombinasi dengan perbandingan dosis 2:1 dapat dianggap sebagai perlakuan yang paling efektif dalam memberikan efek nefroprotektif terhadap kerusakan ginjal akibat induksi parasetamol. Sebelum dilakukan analisis statistik parametrik, data kadar kreatinin diuji menggunakan uji Shapiro–Wilk untuk mengetahui apakah data pada setiap kelompok berdistribusi normal.

Tabel 13. Analisis Uji Normalitas Kadar BUN dan Kreatinin

Kelompok	Tahap 1			Tahap 2			Tahap 3		
	Df	BUN	Kreatinin	Df	BUN	Kreatinin	Df	BUN	Kreatinin
Kn	4	0,564	0,070	4	0,053	0,066	4	0,508	0,845
K (-)	4	0,597	0,743	4	0,750	0,898	4	0,095	0,296
K (+1)	4	0,246	0,575	4	0,980	0,272	4	0,710	0,918
K (+2)	4	0,803	0,561	4	0,140	0,900	4	0,966	0,479
K (+3)	4	0,849	0,272	4	0,888	0,079	4	0,168	0,677
P1	4	0,801	0,216	4	0,452	0,149	4	0,783	0,554
P2	4	0,430	0,555	4	0,117	0,798	4	0,129	0,945
P3	4	0,613	0,522	4	0,312	0,653	4	0,055	0,827

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa seluruh kelompok pada Tahap 1 memiliki nilai signifikansi lebih dari 0,05, yaitu berkisar antara 0,070–0,743, sehingga data berdistribusi normal. Kondisi yang sama juga diperoleh pada Tahap 2 dengan nilai signifikansi 0,066–0,900, serta Tahap 3 dengan rentang 0,296–0,945. Dengan demikian, seluruh data kadar kreatinin memenuhi asumsi normalitas sehingga dapat dianalisis menggunakan uji One-Way ANOVA.

Tabel 14. Analisis Uji One Way Anova dan Games Howell Kadar Kreatinin

Tahap	Sig. Kreatinin	Kesimpulan
Adaptasi	0,385	Tidak terdapat perbedaan signifikan
Paracetamol	0,000	Terdapat perbedaan signifikan
Kombinasi	0,000	Terdapat perbedaan signifikan

Hasil uji One-Way ANOVA menunjukkan bahwa pada tahap adaptasi diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,385 ($p>0,05$), sehingga tidak terdapat perbedaan kadar kreatinin yang bermakna antar kelompok. Hal tersebut menunjukkan bahwa seluruh hewan uji memiliki kondisi fungsi ginjal yang relatif homogen sebelum diberikan induksi parasetamol. Sebaliknya, pada tahap setelah induksi parasetamol diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p<0,05$) yang menunjukkan adanya perbedaan kadar kreatinin yang signifikan antar kelompok. Peningkatan kadar kreatinin mengindikasikan bahwa induksi parasetamol dosis toksik berhasil menyebabkan gangguan fungsi ginjal melalui pembentukan metabolit NAPQI yang memicu stres oksidatif dan kerusakan sel tubulus ginjal. Setelah pemberian perlakuan, nilai signifikansi tetap menunjukkan 0,000 ($p<0,05$), yang berarti masih terdapat perbedaan kadar kreatinin antar kelompok. Hasil ini mengindikasikan bahwa vitamin C, ekstrak kulit batang turi putih, maupun kombinasi keduanya memberikan efektivitas yang berbeda dalam memperbaiki fungsi ginjal. Aktivitas nefroprotektif ekstrak kulit batang turi putih diduga berasal dari berbagai metabolit sekunder yang berhasil diidentifikasi melalui uji fitokimia, terutama flavonoid, senyawa fenolik, tanin, saponin, alkaloid, steroid, dan triterpenoid. Flavonoid bersama senyawa fenolik berkontribusi sebagai antioksidan dengan cara mendonorkan elektron maupun atom hidrogen untuk menstabilkan radikal bebas. Mekanisme tersebut membantu menekan proses peroksidasi lipid sekaligus menjaga kestabilan membran sel ginjal dari kerusakan akibat stres oksidatif. Di sisi lain, tanin dan saponin berperan dalam meredakan respons inflamasi sehingga kerusakan jaringan dapat diminimalkan [17]. Sementara itu, alkaloid, steroid, dan triterpenoid diduga mendukung proses perbaikan jaringan melalui peningkatan sistem pertahanan antioksidan endogen serta stimulasi regenerasi sel. Sinergi

berbagai senyawa bioaktif tersebut berkontribusi dalam mengurangi kerusakan tubulus ginjal, memperbaiki proses filtrasi glomerulus, dan menurunkan kadar kreatinin dalam sirkulasi darah [12].

Perbedaan tersebut menjadi dasar bahwa kombinasi ekstrak kulit batang turi putih dosis 1000 mg/kgBB dan vitamin C dosis 500 mg/kgBB memiliki potensi nefroprotektif yang paling baik dalam menurunkan kadar kreatinin akibat induksi parasetamol. Kombinasi tersebut diduga memberikan efek sinergis, di mana senyawa antioksidan dalam ekstrak bekerja melindungi jaringan ginjal dari kerusakan oksidatif, sedangkan vitamin C membantu meregenerasi antioksidan endogen dan mempertahankan kadar *glutathione* (GSH), sehingga proses pemulihan fungsi ginjal berlangsung lebih optimal.

5. Makroskopis ginjal

Hari ke-18 penelitian, tikus dieutanasia dengan metode dislokasi servikal, kemudian dilakukan pembedahan untuk mengambil organ ginjal. Selanjutnya, ginjal diamati secara makroskopis melalui penimbangan berat, pengukuran ukuran, pengamatan warna dan tekstur permukaan, serta didokumentasikan. Pengamatan ini dilakukan untuk mengetahui kondisi ginjal setelah pemberian perlakuan, mengingat ginjal merupakan organ yang sensitif terhadap paparan zat toksik dan dapat mencerminkan adanya perubahan fungsi maupun struktur organ.

Tabel 15. Hasil Pengamatan Makroskopis Ginjal Tikus

Kelompok	Jml. tikus	Pengamatan			
		Warna	Konsistensi	Tekstur	Bentuk
Kn 	4	Merah kecokelatan	Kenyal	Permukaan halus dan licin	Bentuk seperti kacang, utuh, simetris
K (-) 	4	Merah kecokelatan	Kenyal	Permukaan halus dan licin	Bentuk seperti kacang, utuh, simetris
K (+1) 	4	Merah kecokelatan	Kenyal	Permukaan halus dan licin	Bentuk seperti kacang, utuh, simetris
K (+2) 	4	Merah kecokelatan	Kenyal	Permukaan halus dan licin	Bentuk seperti kacang, utuh, simetris
K (+3) 	4	Merah kecokelatan	Kenyal	Permukaan halus dan licin	Bentuk seperti kacang, utuh, simetris
P1 	4	Merah kecokelatan	Kenyal	Permukaan halus dan licin	Bentuk seperti kacang, utuh, simetris
P2 	4	Merah kecokelatan	Kenyal	Permukaan halus dan licin	Bentuk seperti kacang, utuh, simetris
P3 	4	Merah kecokelatan	Kenyal	Permukaan halus dan licin	Bentuk seperti kacang, utuh, simetris

Berdasarkan Tabel 15, seluruh kelompok menunjukkan gambaran makroskopis ginjal yang serupa, yaitu berwarna merah kecokelatan, bertekstur halus dan licin, berkonsistensi kenyal, serta berbentuk seperti kacang, utuh, dan simetris. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian parasetamol dosis 1500 mg/kgBB maupun perlakuan menggunakan Na-CMC, vitamin C, ekstrak kulit batang turi putih, dan kombinasinya

tidak menimbulkan perubahan morfologi ginjal yang dapat diamati secara makroskopis. Karakteristik tersebut sesuai dengan gambaran ginjal normal yang memiliki warna merah kecokelatan, permukaan halus, dan konsistensi kenyal. Tidak ditemukannya perubahan makroskopis diduga karena kerusakan akibat induksi parasetamol belum cukup berat untuk menyebabkan perubahan anatomi yang tampak secara visual. Selain itu, kandungan flavonoid, fenolik, tanin, dan saponin pada ekstrak kulit batang turi putih serta aktivitas antioksidan vitamin C diduga berperan dalam mengurangi stres oksidatif sehingga membantu mempertahankan integritas jaringan ginjal [11].

IV. SIMPULAN

Kombinasi ekstrak kulit batang turi putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers.) dan vitamin C terbukti memiliki aktivitas antioksidan serta efek nefroprotektif terhadap tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi parasetamol dosis toksik. Pemberian kombinasi tersebut mampu memperbaiki kondisi fisiologis hewan uji yang ditandai dengan penurunan kadar malondialdehyde (MDA), Blood Urea Nitrogen (BUN), dan kreatinin, serta mempertahankan gambaran makroskopis ginjal tetap normal. Di antara seluruh kelompok perlakuan, kombinasi ekstrak kulit batang turi putih dosis 1000 mg/kgBB dan vitamin C dosis 500 mg/kgBB (P3; rasio 2:1) menunjukkan efektivitas paling baik dalam memperbaiki fungsi ginjal. Efek tersebut diduga berkaitan dengan adanya interaksi sinergis antara senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak dan vitamin C dalam menekan stres oksidatif akibat pembentukan metabolit toksik *N-acetyl-p-benzoquinone imine* (NAPQI). Hasil analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$), sehingga kombinasi tersebut berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai kandidat agen nefroprotektif alami.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Negeri Surabaya, Laboratorium Hewan Coba, Laboratorium Farmakologi, dan Laboratorium Patologi Klinik Prodi Teknologi Laboratorium Medis Universitas Muhammadiyah Sidoarjo yang telah mendukung dan memfasilitasi penelitian ini serta pihak-pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian.

REFERENSI

- [1] Marina Silalahi, "Utilization *Sesbania grandiflora* (L.) Pers. as traditional medicine and its bioactivity," *World J. Biol. Pharm. Heal. Sci.*, vol. 13, no. 1, pp. 242–249, 2023, doi: 10.30574/wjbphs.2023.13.1.0272.
- [2] N. Piko, S. Bevc, R. Hojs, and R. Ekart, "The Role of Oxidative Stress in Kidney Injury," pp. 1–13, 2023.
- [3] R. Inês, M. Marta, C. Carolina, C. Carmen Do, and G. Clara, "Paracetamol Poisoning: Need to Remember Nephrotoxicity," *Int. J. Pediatr. Res.*, vol. 8, no. 1, pp. 1–5, 2022, doi: 10.23937/2469-5769/1510094.
- [4] J. Lee, J. Lim, Y. Jeon, D. Yun, Y. Lee, and D. Kim, "Extract of Wheatgrass and Aronia Mixture Ameliorates Atopic Dermatitis-Related Symptoms by Suppressing Inflammatory Response and Oxidative Stress In Vitro and In Vivo," 2023.
- [5] Q. Zhang, L. Li, L. Chen, and S. Liu, "Effects of Sequential Enzymolysis and Glycosylation on the Structural Properties and Antioxidant Activity of Soybean Protein Isolate," 2023.
- [6] R. Filaili Alhafiz and J. Rohmah, "Antioxidant Activity of Turi Bark Extract (*Sesbania Grandiflora* (L.) Pers.) Against Kidney Organs BUN and Creatinine Parameters in Rats Induced by Toxic Doses of Paracetamol [Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Batang Turi (*Sesbania Grandiflora* (L.) Pers.), pp. 1–14, 2025.
- [7] Agam Gelar Panggayo, Jamilatur Rohmah *, "Antioxidant Activity Of White Turi (*Sesbania Grandiflora* (L.) Pers.) Leaf Extract On The Kidney Organ Of White Rats, BUN And Creatinin Parameters Induced By Toxic Doses Of Paracetamol [Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Turi Putih (*Sesbania grandiflora* (L.))," 2025.
- [8] K. Chikrista, M. I. Ilmiawan, and M. Handini, "Efek protektif kombinasi minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) dan madu pada ginjal tikus yang diberi pajanan cisplatin," *J. Cerebellum*, vol. 6, no. 4, p. 115, 2021, doi: 10.26418/jc.v6i4.47803.
- [9] M. S. Patil, K. P. Chittam, and S. B. Patil, "Phytochemical screening of *Sesbania grandiflora* L . bark," vol. 10, no. 4, pp. 153–158, 2021.
- [10] J. Park, S. Do, M. Lee, S. Ha, and K. G. Lee, "Preparation of turmeric powder with various extraction and drying methods," *Chem. Biol. Technol. Agric.*, pp. 1–9, 2022, doi: 10.1186/s40538-022-00307-1.
- [11] M. Rudrapal, S. J. Khairnar, J. Khan, and A. Bin Dukhyil, "Dietary Polyphenols and Their Role in Oxidative Stress-Induced Human Diseases : Insights Into Protective Effects , Antioxidant Potentials and Mechanism (s) of Action," vol. 13, no. February, pp. 1–15, 2022, doi: 10.3389/fphar.2022.806470.
- [12] S. Alsawaf *et al.*, "Plant Flavonoids on Oxidative Stress-Mediated Kidney Inflammation," 2022.

- [13] Y. Serang, V. Laili, and C. Java, "Measuring the Antioxidant Effect of Limnocharis Flava on Malondialdehyde Activities in Livers of Alloxan-induced Diabetic Rats," vol. 19, pp. 181–186, 2021, doi: 10.31965/infokes.Vol19Iss2.534.
- [14] I. Water and S. Robot, "Intelligent Water Shooting Robot," 2021.
- [15] E. D. Cahyani, R. A. Prasetya, I. Ma, D. Nanda, T. Widia, and T. Sri, "In vivo nephroprotective effect of herbal plants towards gentamicin - induced nephrotoxicity : A literature review Kajian literatur efek nefroprotektif tanaman herbal terhadap nefrotoksisitas yang diinduksi gentamisin secara in vivo Farmasi Surabaya" vol. 18, no. 2, pp. 178–191, 2022.
- [16] J. L. Martin, D. Saredakis, A. D. Hutchinson, G. B. Crawford, and T. Loetscher, "Virtual Reality in Palliative Care : A Systematic Review," pp. 1–15, 2022, doi: 10.17605/OSF.IO/5JQUX.
- [17] S. Ro *et al.*, "Arsenic Toxicity on Metabolism and Autophagy in Adipose and Muscle Tissues," pp. 1–20, 2022.

Conflict of Interest Statement:

The author declares that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.