

1 **LAPORAN AKHIR**  
2 **PENELITIAN DASAR UNGGULAN PERGURUAN TINGGI**  
3



5 **Potensi Protein Hidrolisat Kacang Polong Hijau (*Pisum sativum*)**  
6 **untuk Terapi Penyakit Ginjal Kronik**  
7

8 **Tahun ke 3 dari rencana 3 tahun**  
9

10 **PENELITI**

11 **Dr. Meilinah Hidayat, dr., M.Kes. -04-0412-6301**

12 **Sijani Prahastuti, dr., M.Kes. -04-0303-6101**

13 **Prof. Andreanus A. Soemardji, DEA. -00-2710-5001**  
14

15 **Dibiayai oleh:**

16 **Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat**  
17 **Deputi Bidang Penguatan Riset dan Pengembangan**  
18 **Kemenristek BRIN**

19 **Sesuai dengan SK Nomor: 8/E1/KPT/2020**  
20 **Dan kontrak Penelitian 018/SP2H/AMD/LT-AMAND/LL4/2020**  
21  
22  
23  
24  
25  
26

27 **UNIVERSITAS KRISTEN MARANATHA**

28 **BANDUNG**

29 **Desember 2020**

30  
31  
32  
33

## HALAMAN PENGESAHAN

---

Judul : Potensi Protein Hidrolisat Kacang Polong Hijau (*Pisum sativum*) untuk Terapi Penyakit Ginjal Kronik

**Peneliti/Pelaksana**

Nama Lengkap : Dr. MEILINAH HIDAYAT, dr., M.Kes.

Perguruan Tinggi : Universitas Kristen Maranatha

NIDN : 0404126301

Jabatan Fungsional : Lektor Kepala

Program Studi : Kedokteran

Nomor HP : 08122163203

Alamat Surel (e-mail) : [mellahidayat@yahoo.com](mailto:mellahidayat@yahoo.com)

**Anggota (1)**

Nama Lengkap : Sijani Prahastuti, dr., M.Kes.

NIDN : 0403036101

Perguruan Tinggi : Universitas Kristen Maranatha

**Anggota (2)**

Nama Lengkap : Prof. Andreanus A. Soemardji DEA

NIDN : 0027105001

Perguruan Tinggi : Institut Teknologi Bandung

**Institusi Mitra (jika ada)** :

Nama Institusi Mitra : -

Alamat : -

Penanggung Jawab : -

Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 3 dari rencana 3 tahun

Biaya tahun berjalan : Rp 206.200.000,-

Seluruh Biaya Penelitian : Rp 446.810.000,-

Mengetahui,  
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian  
Masyarakat UK Maranatha

Ketua Peneliti,

(Dr Teresa Liliana Wargasetia, S.Si.M.Kes)  
NIP/NIK 110325

(Dr. Meilinah Hidayat, dr., M.Kes.)  
NIP/NIK 110165

## RINGKASAN

Peningkatan kualitas hidup masyarakat secara holistik dalam bidang Kesehatan dan Degeneratif berbasis Herbal dan Gizi merupakan salah satu tujuan dari Rencana Induk Penelitian Universitas Kristen Maranatha. Kasus penyakit degeneratif seperti penyakit ginjal kronis (PGK) di Indonesia terus meningkat setiap tahunnya. Data RISKESDAS 2018 menunjukkan bahwa angka kejadian penderita PGK meningkat hampir dua kali lipat dibanding RISKESDAS 2013.

Nutrisi yang tepat berperan penting dalam memperbaiki fungsi, memperlambat progresivitas penyakit ginjal serta meningkatkan kualitas hidup penderita PGK. Hasil penelitian Hidayat dkk sebelumnya, hidrolisat protein kacang polong hijau Indo yang dihidrolisis dengan enzim bromelain (HPPHB) mampu menurunkan kadar Ureum dan kreatinin, parameter kerusakan fungsi ginjal pada tikus Wistar betina yang ginjalnya dirusak dengan cara diinduksi Cisplatin (1).

Pada penelitian PDUPT tahun pertama, sesuai dengan tujuannya, telah didapatkan dosis efektif HPPHB berdasarkan beberapa parameter dan mekanisme kerjanya. Pemberian HPPHB pada 8 kelompok perlakuan tikus Wistar jantan yang diinduksi Gentamicin menunjukkan, HPPHB menunjukkan efek perbaikan terhadap ginjal, berdasarkan parameter terhadap organ: Indeks Organ (IO) jantung dan ginjal, dan analisis sediaan histopatologis ginjal, parameter fungsi ginjal: Ureum, Kreatinin; Hematologi, Profil lipid: Kolesterol Total, LDL, Trigliserida; mekanisme yang diuji: SOD, Atrial Natriuretic Peptide (ANP), COX-1 dan Renin. Simpulan, HPPHB dosis 200 mg/kgBB menunjukkan efek paling baik berdasarkan parameter—parameter tersebut dan disimpulkan sebagai dosis efektif, dan semakin tinggi dosis, efek semakin baik. Untuk mengetahui seberapa besar dosis tertinggi yang masih aman perlu diketahui aspek toksik bahan obat melalui uji toksisitas akut, uji alergenitas dan subkronis dalam penelitian tahun kedua dan ke tiga. Hipotesis mekanisme kerja HPPHB menurut hasil penelitian adalah melalui aktivitas antioksidan dan ANP (1).

Penelitian tahun kedua sudah mencapai target yang direncanakan. Pemeriksaan karakteristik dan analisis HPPHB menggunakan LC- MS-MS, didapat sequence asam amino RGD dari protein Convicilin dalam HPPHB; uji efek antifibrosis membandingkan HPPHB dan standar RGD menunjukkan penurunan kadar TGF- $\beta$ 1 dan Fibronectin pada uji in vitro HPPHB terhadap sel kultur mesangial ginjal SV40 (Glomerular Mesangial Kidney, *Mus musculus*) yang diinduksi glukosa sehingga menjadi model sel ginjal PGK; hasil analisis bioinformatika dengan alat PROSPER didapat sekuens peptida LERGDT, hasil uji toksisitas akut menunjukkan HPPHB tidak menyebabkan gejala toksik pada perilaku dan berat badan mencit Swiss Webster dan didapat LD50 pada dosis >5000mg/kgBB sehingga HPPHB dikategorikan sebagai bahan tidak toksik. Hasil uji alergenitas kulit dan oral pada hewan coba marmut menunjukkan bahwa HPPHB tergolong sebagai zat hipoalergenik.

**C. HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN:** Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian meliputi data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

Tahun ke tiga bertujuan untuk mengetahui efek toksik pemberian subkronis, dan memastikan mekanisme kerja antifibrosis. Pada uji toksisitas subkronis dilakukan pemberian 3 dosis HPPHB (rendah 100, sedang 200 dan tinggi 400 mg/kgBB) selama 28hari dan dilakukan pemeriksaan terhadap berat badan, profil hematologi, biokimia darah, pemeriksaan makro 5 organ utama dan mikropatologi organ ginjal dan hepar dari 60 tikus betina dan 60 tikus jantan galur Sprague Dawley sesuai aturan BPOM 2014. Uji mekanisme kerja diawali dengan sintesis peptida LERGDT sebagai standar pembanding dari HPPHB ini, selanjutnya HPPHB dan peptida LERGDT ini akan diuji pada sel lini mesangial ginjal SV40 MES 13 untuk memastikan mekanismenya sebagai antifibrosis dalam jalur transduksi sinyal TGF-B1, Smad 2, 3, 4 dan 7.

Luaran yang ditargetkan adalah hasil penelitian diterbitkan dalam jurnal internasional bereputasi.

TKT pada saat akhir penelitian adalah 4.

**Keywords:** Hidrolisat Protein Kacang Polong Hijau Bromelain, Uji Toksisitas Subkronis; RGD; TGF-B1; Jalur transduksi Smad

34 Pengisian poin C sampai dengan poin H mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman  
35 namun disarankan sesingkat mungkin. Dilarang menghapus/memodifikasi template ataupun menghapus penjelasan di  
36 setiap poin.

37

### 38 **UJI TOKSISITAS SUBKRONIS** <sup>1-7</sup>

39 Dengan tujuan mengetahui aspek keamanan bahan sampel HPPHB, telah dilakukan uji toksisitas  
40 subkronis selama 28 hari sesuai aturan BPOM 2013 dari hidrolisat protein kacang polong hijau  
41 bromelain (HPPHB) yang dibuat berdasarkan bahan dan metode pembuatan hidrolisat Hidayat,  
42 dkk. <sup>1,2</sup> Uji ini dilakukan dalam 2 tahap, yaitu pemberian perlakuan selama 28 hari pertama terhadap  
43 120 ekor tikus *Sprague Dawley* (60 jantan dan 60 betina). Kelompok perlakuan: kontrol negatif,  
44 dosis rendah HPPHB (100mg/kgBB), dosis sedang (200 mg/kgBB) dan dosis tinggi (400  
45 mg/kgBB). Pada hari ke 28, dilakukan terminasi dan pemeriksaan terhadap 80 ekor tikus dengan  
46 beberapa parameter pengamatan, yaitu: berat badan, berat organ dan indeks organ, hematologi dan  
47 biokimia darah, histopatologis organ hepar dan ginjal. Tahap yang kedua yaitu 28 hari sesudah  
48 perlakuan tahap pertama, sebanyak 40 ekor tikus dibiarkan tanpa perlakuan dan selanjutnya  
49 dilakukan pemeriksaan dengan parameter yang sama seperti tahap pertama. <sup>3-7</sup>

50

### 51 **UJI TOKSISITAS SUBKRONIS SELAMA 28 HARI**

52 **1. BERAT BADAN**

53 Hasil Pengamatan Berat Badan Tikus tertera pada Tabel 1.

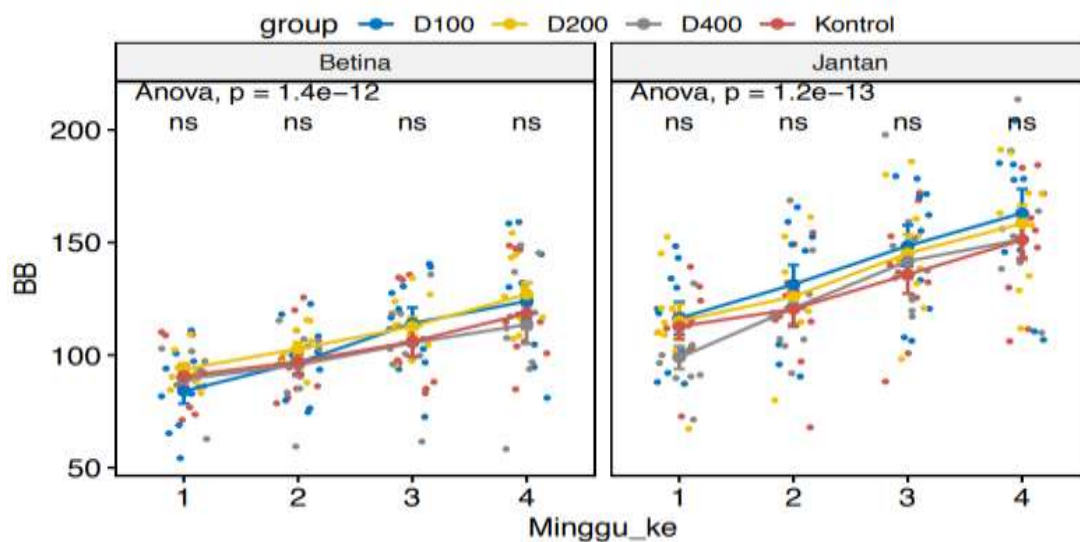
**Tabel 1. Berat Badan Tikus yang diberi Hidrolisat Protein Kacang Polong selama 28 hari (dalam gram) (TAHAP 1)**

No	ID	15 Agustus Minggu I	22 Agustus Minggu II	29-Aug Minggu III	05-Sep Minggu IV
1	KB1	76,8	85,1	88,1	103,9
2	KB2	73,7	81,2	85,1	100,8
3	KB3	86,7	86,2	96,5	106,1
4	KB4	88,8	90,5	97,7	114,7
5	KB5	109,2	120,0	134,5	147,3
6	KB6	108,8	110,9	133,5	146,8
7	KB7	110,2	125,6	135,8	148,6
8	KB8	89,8	94,4	98,7	114,8
9	KB9	71,2	78,6	83,1	84,8
10	KB10	92,0	98,4	107,2	118,1
11	KJ1	103,3	114,9	125,5	130,0
12	KJ2	139,2	154,4	172,1	184,4
13	KJ3	115,8	129,6	140,4	161,0
14	KJ4	130,5	149,3	168,8	183,2
15	KJ5	72,8	67,9	88,3	106,1
16	KJ6	113,0	117,3	136,8	155,4
17	KJ7	124,2	132,2	152,8	171,8
18	KJ8	111,9	115,6	132,4	147,8
19	KJ9	115,5	126,5	140,2	160,2
20	KJ10	100,8	97,2	100,8	111,5
21	1B1	65,3	76,4	93,8	94,7
22	1B2	54,2	74,7	72,6	81,0
23	1B3	100,7	118,1	139,2	158,5
24	1B4	81,7	91,4	102,8	114,2
25	1B5	68,9	79,8	96,8	104,7
26	1B6	84,2	100,0	120,5	130,2
27	1B7	82,8	93,5	116,7	120,2
28	1B8	94,1	101,6	127,6	132,1
29	1B9	111,0	122,7	140,6	159,1
30	1B10	97,3	108,4	130,6	144,8
31	1J1	101,7	121,1	133,3	146,7
32	1J2	134,1	152,5	171,6	185,3
33	1J3	148,4	165,7	179,5	204,1
34	1J4	87,3	90,5	106,4	106,8
35	1J5	120,5	146,4	162,2	178,3
36	1J6	88,0	95,9	107,9	110,5
37	1J7	143,2	159,2	178,4	190,7
38	1J8	130,0	149,1	170,4	184,7
39	1J9	92,1	104,7	120,6	145,8
40	1J10	118,6	128,9	155,2	177,9
41	2B1	102,4	115,3	126,9	144,7
42	2B2	101,7	111,1	123,8	143,4
43	2B3	84,5	91,7	97,5	108,7
44	2B4	94,4	106,3	113,5	130,0
45	2B5	89,3	100,0	105,3	116,8
46	2B6	93,3	102,3	113,3	126,0
47	2B7	83,1	87,8	95,4	107,3

**Keterangan**

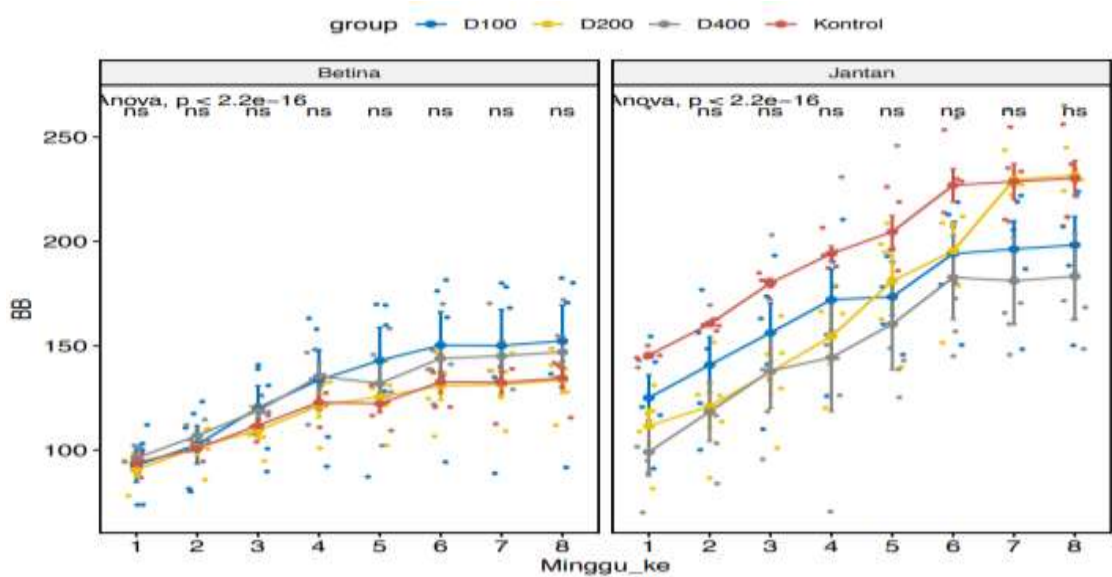
KB	<u>Kontrol Betina</u>
KJ	<u>Kontrol Jantan</u>
1B	<u>Betina dosis 100</u>
1J	<u>Jantan dosis 100</u>
2B	<u>Betina dosis 200</u>
2J	<u>Jantan dosis 200</u>
3B	<u>Betina dosis 400</u>
3J	<u>Jantan dosis 400</u>

48	2B8	90,5	100,8	113,2	122,6
49	2B9	89,1	97,1	104,5	116,4
50	2B10	109,2	115,6	134,2	154,3
51	2J1	152,5	161,4	186,0	191,2
52	2J2	109,8	120,0	138,6	157,7
53	2J3	120,5	130,0	152,9	171,8
54	2J4	67,3	80,0	98,2	111,9
55	2J5	109,0	119,5	131,8	135,2
56	2J6	120,9	136,9	160,5	172,0
57	2J7	145,2	152,7	180,2	190,0
58	2J8	101,5	114,7	120,9	128,8
59	2J9	110,4	120,2	141,1	163,1
60	2J10	114,4	124,3	141,9	163,3
61	3B1	85,8	85,2	99,7	96,8
62	3B2	86,3	95,6	100,5	107,6
63	3B3	86,7	97,4	102,8	111,9
64	3B4	93,2	103,9	111,8	118,9
65	3B5	97,3	106,3	118,4	136,9
66	3B6	92,4	102,7	109,2	117,1
67	3B7	102,9	115,3	135,8	148,9
68	3B8	62,8	59,4	61,6	58,3
69	3B9	83,9	83,4	96,0	93,8
70	3B10	101,7	107,0	118,5	145,4
71	3J1	100,0	118,8	137,5	149,6
72	3J2	91,2	107,1	126,5	143,4
73	3J3	131,9	168,7	197,9	213,6
74	3J4	96,5	116,6	134,3	145,7
75	3J5	101,6	121,2	148,6	152,8
76	3J6	89,8	104,1	119,7	138,3
77	3J7	104,5	127,0	151,7	156,1
78	3J8	90,5	106,9	124,5	141,1
79	3J9	71,4	91,9	117,1	110,0
80	3J10	111,7	146,6	159,2	163,9



54 Hasil analisis statistik berat badan tikus jantan dan betina tahap pertama (28 hari awal) **semua**  
55 **perlakuan tidak berbeda** dengan kontrol (NS)  
56  
57

58 Hasil analisis statistik berat badan tikus jantan dan betina tahap kedua (28 hari selanjutnya) **semua**  
 59 **perlakuan tidak berbeda** dengan kontrol (NS). Terlihat dalam grafik, berat badan tikus betina  
 60 kontrol yang paling rendah, walaupun secara statistik ke empat kelompok tersebut tidak berbeda  
 61 bermakna. Berat badan tikus jantan dosis tinggi menunjukkan berat yang paling rendah, walaupun  
 62 secara statistik ke empat kelompok tersebut tidak berbeda bermakna.  
 63



64  
 65 **2. BERAT ORGAN DAN INDEKS ORGAN**  
 66

67 Berikut hasil pengamatan berat dari lima organ utama tikus (Hati, Limpa, Jantung, Paru-paru,  
 68 Ginjal kanan, Ginjal kiri). Data tertera pada tabel 2.  
 69

70 **Tabel 2 Berat 5 Organ Utama Tikus**

No	ID	Hati	Limpa	Jantung	Paru-paru	Ginjal Kanan	Ginjal Kiri
		Gram					
1	KB1	4,7	0,7	0,5	1,1	0,3	0,4
2	KB2	6,3	1,1	0,4	1,3	0,6	0,6
3	KB3	5,1	1,5	0,4	1,7	0,5	0,5
4	KB4	6,6	1,1	0,6	1,9	0,6	0,7
5	KB5	8,6	1,6	0,5	1,7	0,6	0,8
6	KB6	7,0	0,9	0,5	1,2	0,7	0,7
7	KB7	8,0	1,4	0,6	1,5	0,7	0,7
8	KB8	5,6	1,7	0,5	1,2	0,8	0,6
9	KB9	5,4	0,8	0,4	1,1	0,5	0,5
10	KB10	7,0	1,5	0,6	1,7	0,6	0,6
11	KJ1	5,2	1,1	0,6	1,6	0,8	0,8
12	KJ2	6,9	1,1	1,0	1,2	1,0	0,8
13	KJ3	7,0	0,9	0,6	2,0	0,7	0,8
14	KJ4	8,1	1,1	0,6	2,3	0,9	0,8
15	KJ5	6,3	1,1	0,6	1,3	0,6	0,4
16	KJ6	6,7	1,2	0,4	2,1	0,7	0,7
17	KJ7	7,8	1,0	0,7	1,7	1,0	0,7
18	KJ8	6,6	1,2	0,7	1,5	0,5	0,6

19	KJ9	8,2	0,9	0,5	1,4	0,8	0,9
20	KJ10	5,3	1,0	0,5	2,1	0,6	0,7
21	1B1	4,7	0,8	0,4	1,3	0,6	0,5
22	1B2	4,2	0,9	0,5	1,1	0,6	0,4
23	1B3	7,6	1,4	0,5	1,9	0,7	0,7
24	1B4	5,8	1,2	0,4	1,8	0,7	0,6
25	1B5	5,8	1,3	0,3	1,2	0,5	0,5
26	1B6	7,1	1,2	0,4	1,6	0,7	0,7
27	1B7	7,1	1,3	0,4	1,3	0,6	0,6
28	1B8	6,9	1,2	0,7	1,4	0,6	0,8
29	1B9	7,4	1,5	0,5	2,3	0,8	0,7
30	1B10	8,5	1,9	0,5	2,6	0,8	0,8
31	1J1	7,9	1,4	0,6	1,7	0,8	0,8
32	1J2	8,4	1,3	0,7	1,7	0,9	0,9
33	1J3	9,9	2,4	0,8	1,8	1,1	0,9
34	1J4	5,6	0,8	0,5	1,3	0,5	0,5
35	1J5	7,3	1,1	0,6	1,9	0,8	0,8
36	1J6	6,4	0,9	0,5	1,9	0,7	0,6
37	1J7	11,4	1,9	0,8	1,9	1,0	1,1
38	1J8	7,9	1,1	0,7	2,4	0,9	0,9
39	1J9	7,9	1,4	0,5	2,7	0,9	0,8
40	1J10	7,8	0,9	0,6	1,5	0,9	0,9
41	2B1	8,0	0,9	0,7	1,3	0,8	0,6
42	2B2	6,6	1,2	0,4	1,5	0,6	0,6
43	2B3	5,1	1,0	0,4	1,4	0,7	0,9
44	2B4	5,7	1,1	0,4	1,6	0,8	1,0
45	2B5	9,8	0,8	0,3	1,9	0,5	0,5
46	2B6	7,8	1,3	0,5	1,5	0,7	0,7
47	2B7	5,8	1,4	0,3	1,2	0,7	0,7
48	2B8	5,6	1,0	0,4	0,9	0,7	0,6
49	2B9	6,2	1,1	0,7	2,1	0,7	0,7
50	2B10	7,6	1,5	0,5	2,3	0,9	0,9
51	2J1	8,6	1,2	0,8	1,8	1,0	1,0
52	2J2	7,0	1,6	0,5	1,3	0,8	0,8
53	2J3	7,3	0,8	0,6	1,2	0,9	0,7
54	2J4	5,2	1,7	0,5	1,1	0,7	0,7
55	2J5	7,7	1,3	0,8	1,4	0,8	0,7
56	2J6	8,4	1,1	0,7	1,9	0,8	0,7
57	2J7	7,3	0,7	0,5	1,5	0,8	0,5
58	2J8	5,0	1,1	0,4	1,0	0,8	0,7
59	2J9	8,0	1,5	0,6	2,2	0,8	0,6
60	2J10	7,2	1,2	0,5	1,7	0,8	0,8
61	3B1	5,6	0,6	0,3	1,2	0,5	0,5
62	3B2	4,6	0,5	0,4	1,1	0,6	0,5
63	3B3	6,4	1,1	0,4	1,6	0,6	0,7
64	3B4	5,0	0,9	0,5	1,5	0,5	0,6
65	3B5	7,0	1,3	0,4	1,5	0,7	0,7
66	3B6	6,7	0,9	0,4	1,3	0,7	0,7
67	3B7	9,5	1,5	0,5	1,3	0,7	0,7
68	3B8	2,8	0,4	0,4	0,8	0,5	0,8
69	3B9	5,3	1,2	0,4	1,2	0,4	0,5
70	3B10	7,7	1,3	0,5	1,4	0,7	0,6
71	3J1	6,7	1,4	0,6	1,6	0,7	0,8
72	3J2	5,7	0,6	0,5	1,2	0,7	0,8
73	3J3	10,4	2,4	0,6	2,2	0,9	1,0

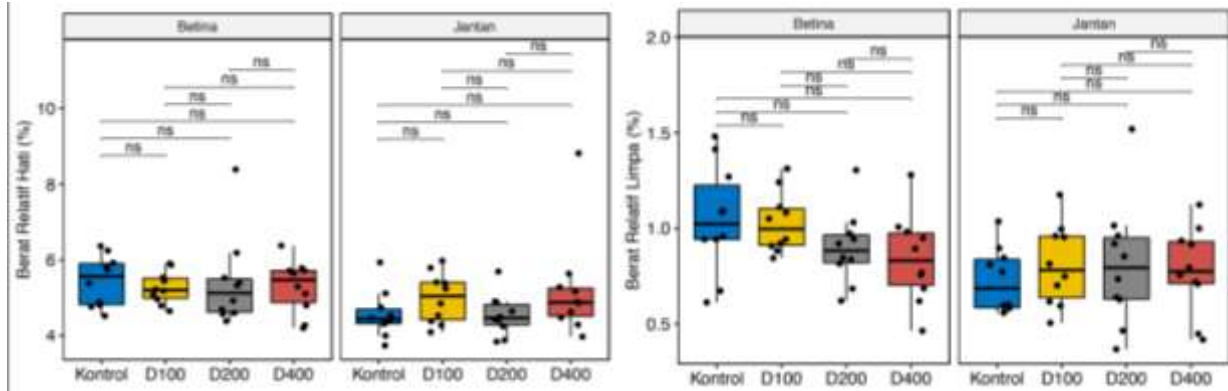


74	3J4	7,7	1,1	0,6	1,5	0,9	0,8
75	3J5	7,9	1,1	0,6	1,4	0,8	0,7
76	3J6	7,8	1,1	0,5	1,8	0,8	0,7
77	3J7	6,7	0,7	0,6	1,6	0,9	0,7
78	3J8	6,9	1,0	0,7	1,9	0,8	0,8
79	3J9	9,7	1,1	0,5	1,4	0,7	0,6
80	3J10	7,6	1,5	0,6	1,8	0,9	0,9

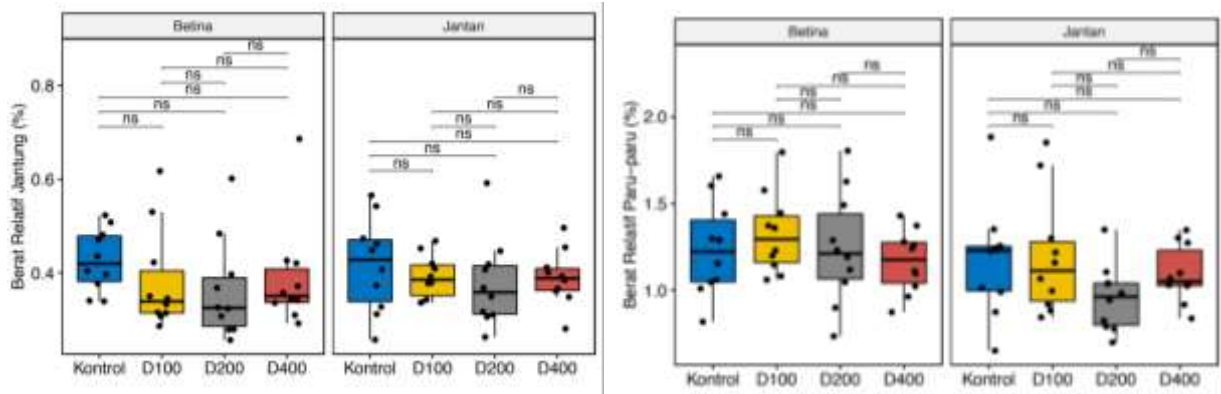
71

72 Hasil analisis statistik dari Indeks Organ (berat organ dibagi berat badan masing-masing  
73 tikus) dari 5 Organ Utama

74



75



76

77

78

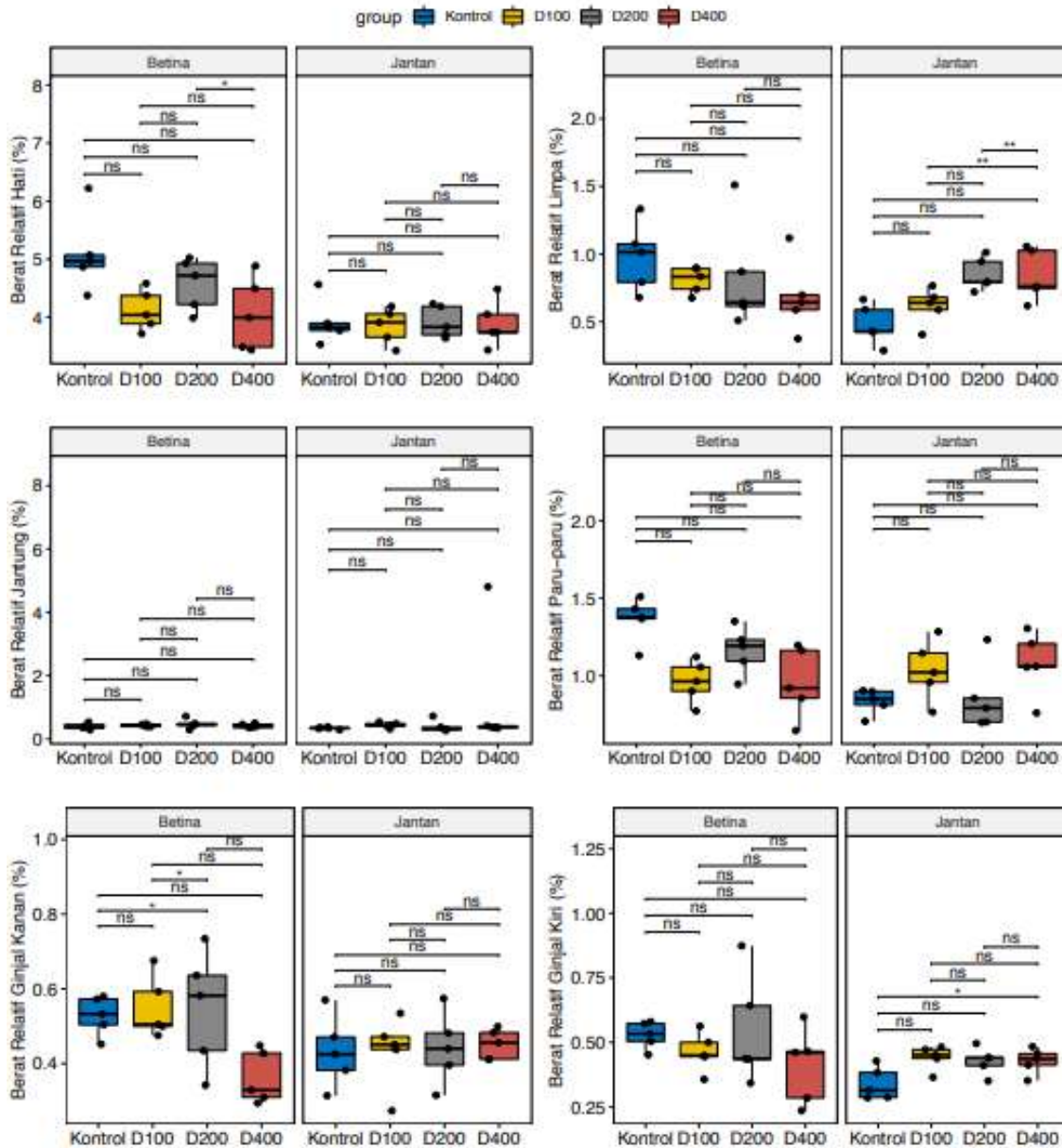
79 Hasil analisis statistika 5 organ utama tahap pertama (28 hari awal) tidak berbeda antara tikus yang  
80 diberi perlakuan dengan kontrol, baik tikus betina maupun jantan

81

82 HASIL SATELIT (28 hari kemudian)

83 Hasil analisis statistika 5 organ utama tahap kedua (28 hari selanjutnya) tidak berbeda antara tikus  
84 yang diberi perlakuan dengan kontrol, baik tikus betina maupun jantan. Perbedaan berat organ  
85 limpa tikus jantan justru terjadi antar kelompok dosis rendah dan tinggi, sedang dang tinggi.

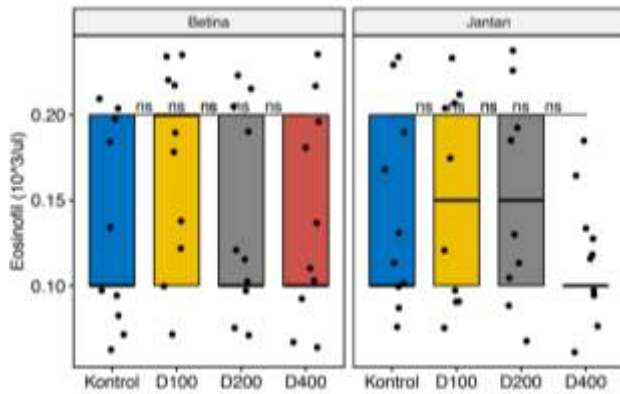
86



87

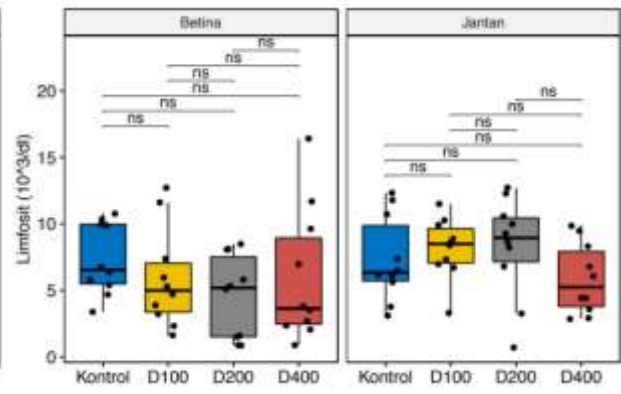
### 88 3. HEMATOLOGI

89 Berikut Hasil Pemeriksaan dan Analisis Hematologi (Eosinofil, Limfosit, Monosit, Neutrofil,  
 90 *Platelet Distribution Width* (PDW), *Red Cell Distribution Width* (RDW), Trombosit, Eritrosit,  
 91 Hematokrit, Hemoglobin, Leukosit, MCV, MCH, MCHC).

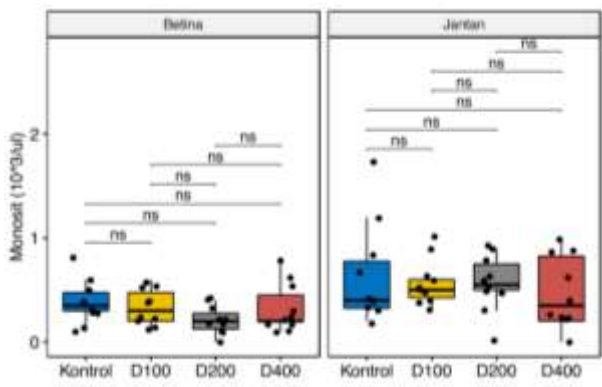


92  
 93  
 94

**Eosinofil: Tidak berbeda bermakna**

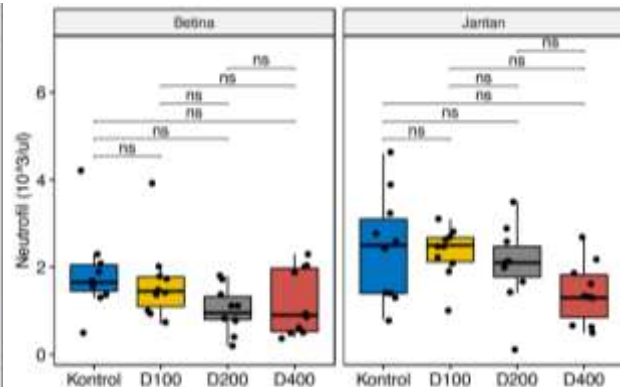


**Limfosit: Tidak berbeda bermakna**

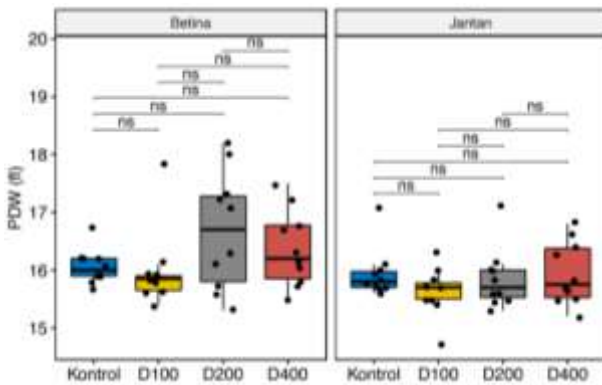


95  
 96  
 97

**Monosit: Tidak berbeda bermakna**

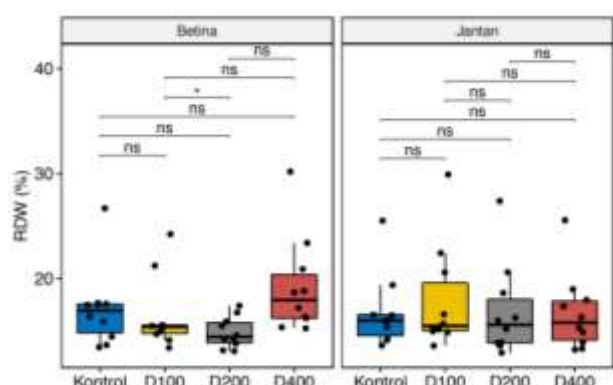


**Neutrofil: Tidak berbeda bermakna**

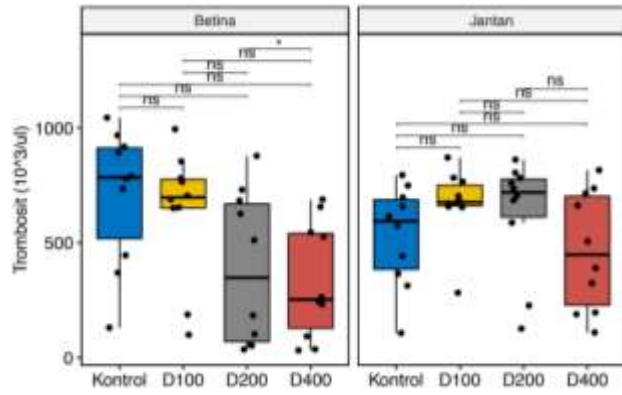


98  
 99

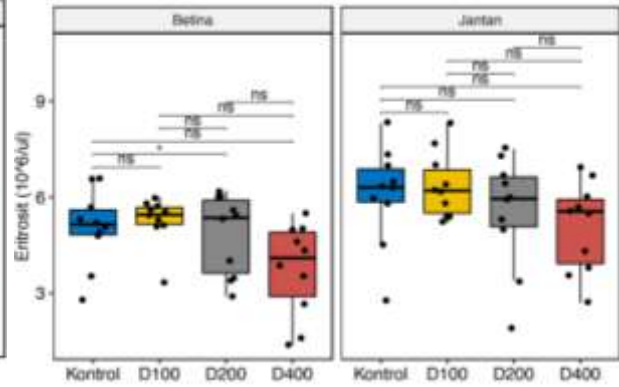
**Platelet Distribution Width (PDW): NS**



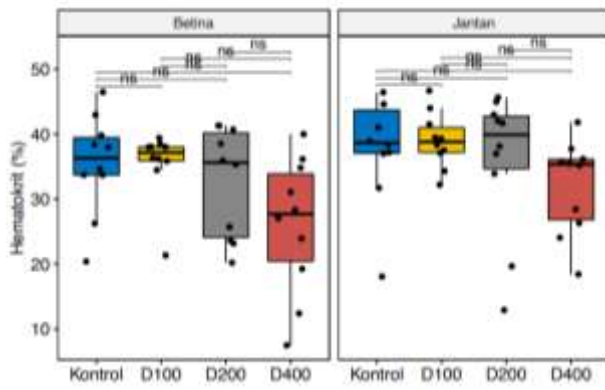
**Red Cell Distribution Width (RDW): NS**



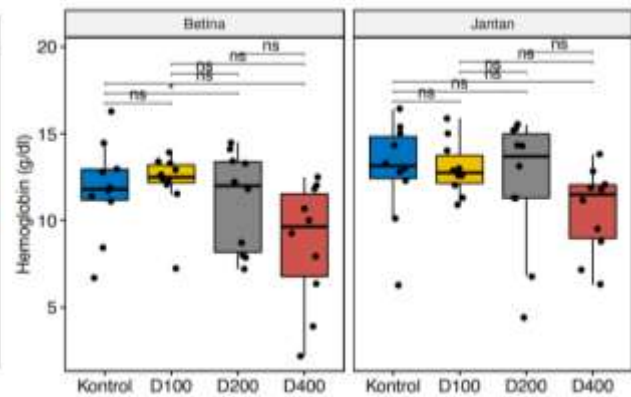
**Trombosit: Tidak berbeda bermakna**



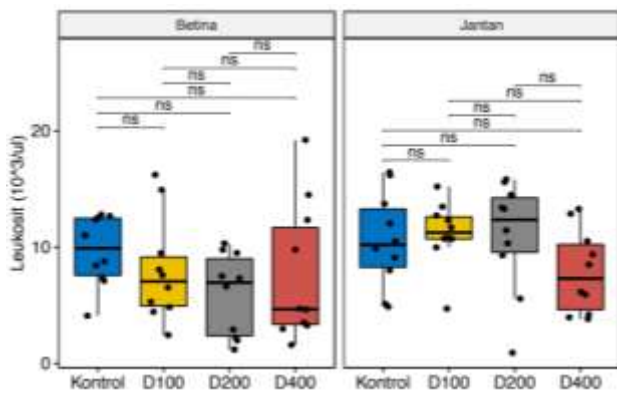
**Eritrosit: Tidak berbeda bermakna**



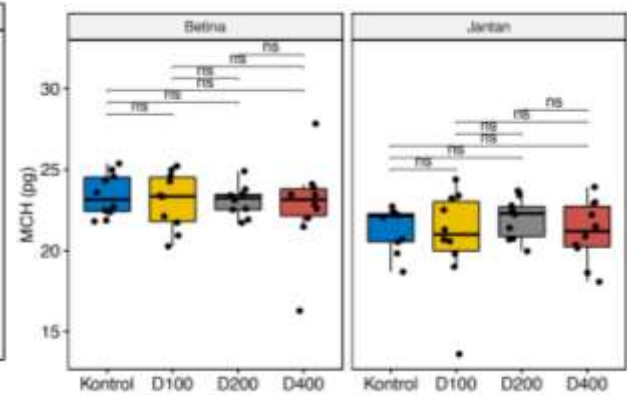
**Hematokrit: Tidak berbeda bermakna**



**Hemoglobin: Tidak berbeda bermakna**



**Leukosit: Tidak berbeda bermakna**

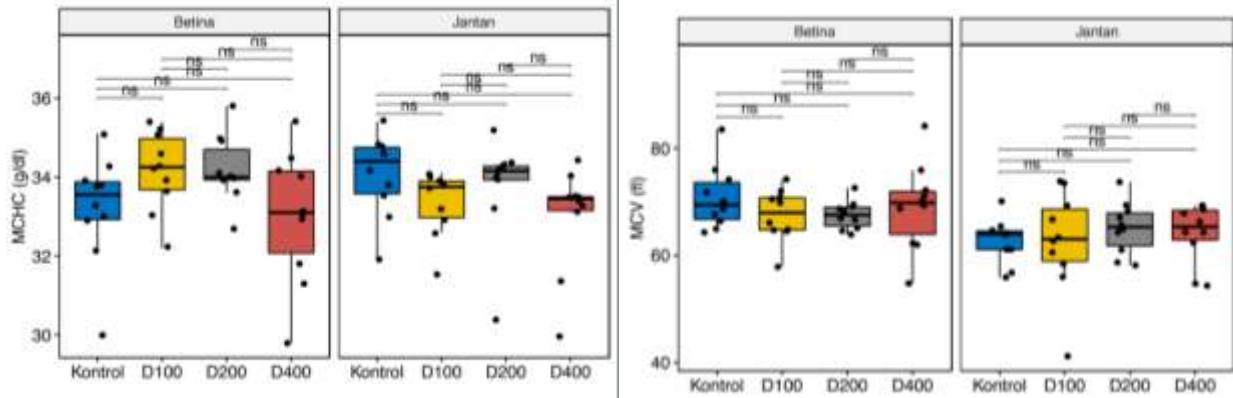


**MCH: Tidak berbeda bermakna**

100  
101  
102

103  
104  
105

106  
107  
108



109

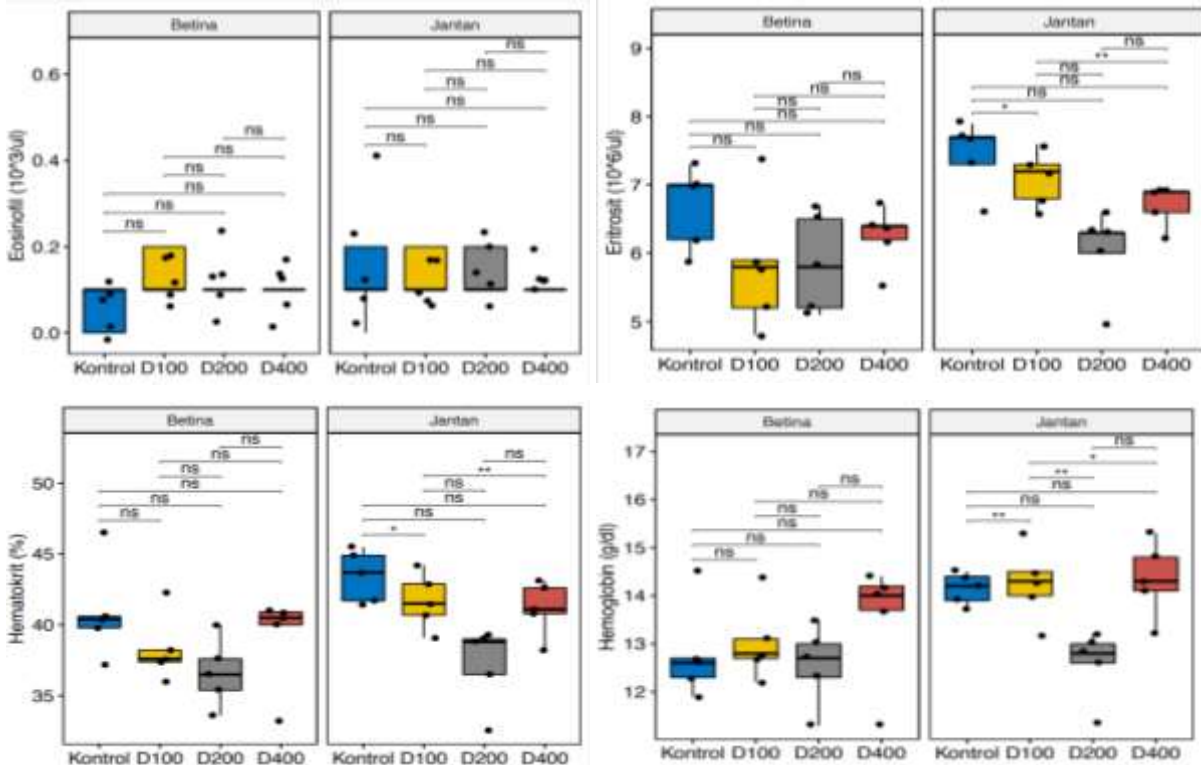
110 **MCHC: Tidak berbeda bermakna**

**MCV: Tidak berbeda bermakna**

111 Hasil analisis hematologi tikus tahap pertama (28 hari awal) semua perlakuan tidak menunjukkan  
 112 perbedaan bermakna dengan kontrol.

113 Hasil analisis hematologi tikus tahap kedua (28 hari selanjutnya) semua perlakuan tidak  
 114 menunjukkan perbedaan bermakna dengan kontrol. Eritrosit tikus jantan antara kontrol dan dosis  
 115 rendah menunjukkan perbedaan bermakna, dimana eritrosit tikus kontrol lebih tinggi, namun  
 116 semua hasil masih dalam rentang yang normal.

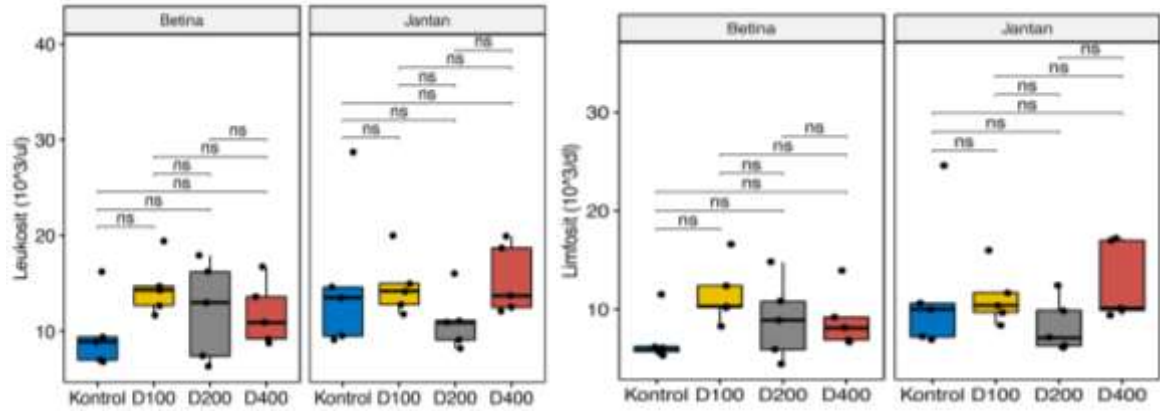
117



118

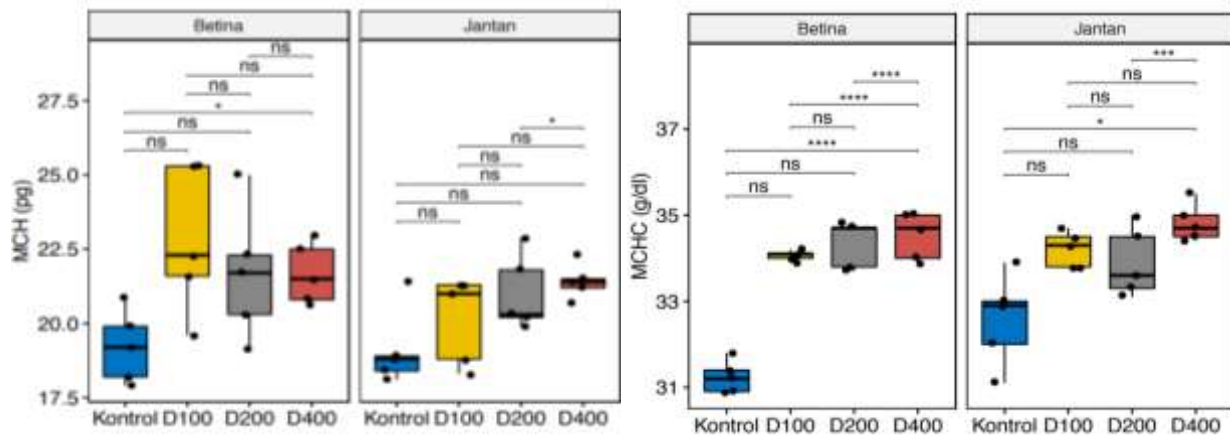
119



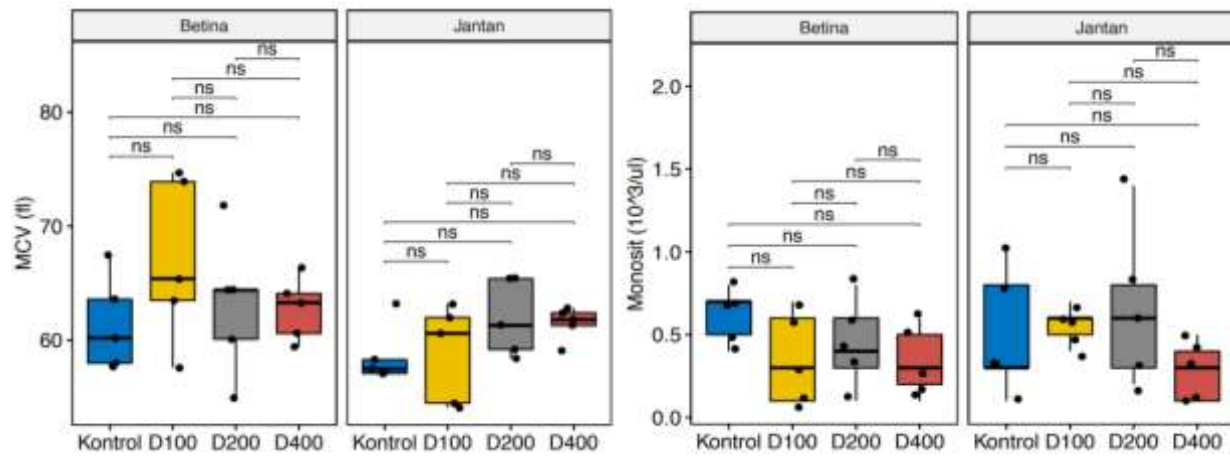


120

121

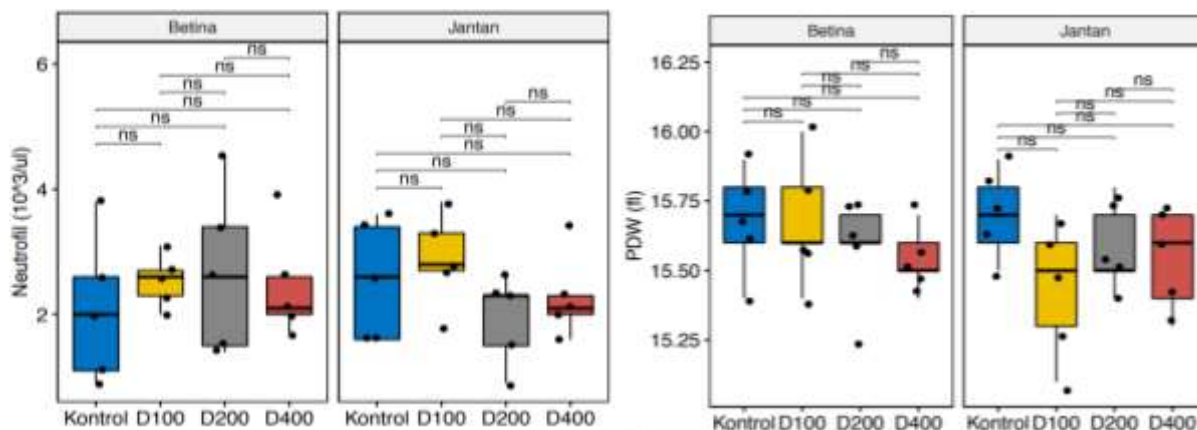


122

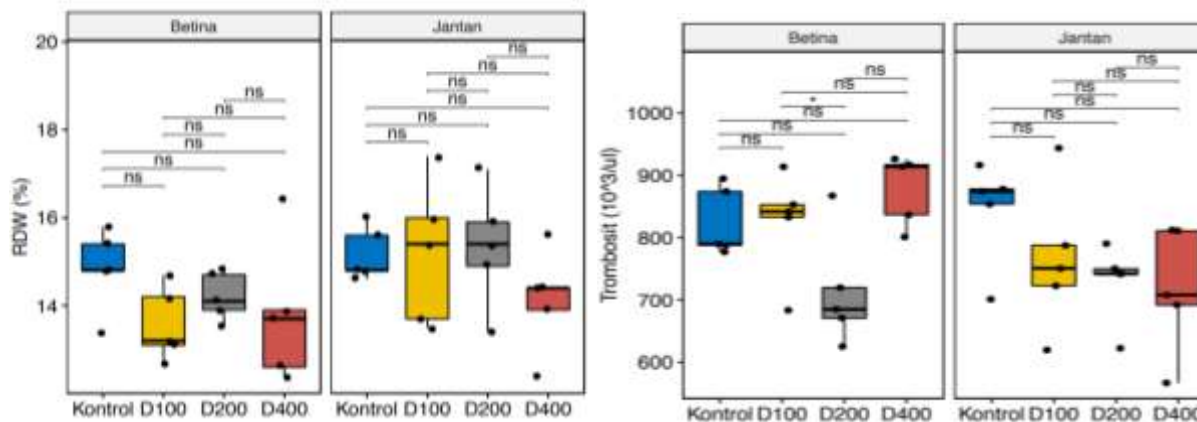


123

124



125



126

127 **4. PEMERIKSAAN BOKIMIA DARAH**

128

129 Biokimia darah tikus diperiksa menggunakan prinsip kolorimetri dengan alat Cobas Roche 133,  
 130 hasilnya dapat dilihat pada Tabel 3.

131

132 **Tabel 3 Hasil Biokimia Darah Tikus *Sprague Dawley* setelah 28 hari perlakuan (TAHAP 1)**

Kelompok	Kode	Kolest	Trig	HDL	LDL	AST	ALT	UREUM	KREAT	AS URAT	GLUKOSA
<b>I</b>	KJ1	62	62	38,7	13,9	130	72	38	0,24	0,92	161
<b>Kontrol</b>	KJ2	55	56	32,4	12,2	162	85	37,5	0,21	0,98	184
<b>Negatif</b>	KJ3	56	42	31,2	16,3	212	105	40,6	0,23	1,01	193
	KJ4	60	70	35,1	11,9	198	96	39,9	0,23	1,16	189
	KJ5	54	80	33,6	12,6	169	90	36,8	0,17	1,21	206
	KB1	66	79	43,6	11,4	221	119	41	0,2	0,93	117
	KB2	67	83	38,7	13,6	180	89	42	0,2	1,4	153
	KB3	58	44	34,7	12,8	132	68	43	0,19	1,3	161
	KB4	57	65	35,1	9,8	133	72	41	0,18	1,12	135
	KB5	54	90	35	9,2	148	77	40	0,16	1,51	146
<b>II</b>	1J1	61	78	33,9	11,9	218	121	48	0,31	1,24	125

<b>Dosis</b>	1J2	59	61	35,1	12,2	207	93	51	0,36	1,21	196
<b>Rendah</b>	1J3	57	34	36,1	14,3	199	73	51	0,36	1,19	157
<b>100mg/kgBB</b>	1J4	53	33	34,3	12,8	200	75	46	0,33	1,08	143
	1J5	49	27	34,8	9,8	201	76	52	0,37	1,02	224
	1B1	63	55	33,3	18,9	168	87	62	0,37	1,91	138
	1B2	46	30	30,6	9,8	156	89	47	0,36	1,11	173
	1B3	59	43	34,1	16,6	169	91	58	0,4	1,37	176
	1B4	44	24	32,5	9,1	170	101	43	0,35	0,96	192
	1B5	58	31	32,1	19,9	145	86	51	0,42	1,04	194
<b>III</b>	2J1	62	61	36,3	13,5	175	72	59	0,39	1,31	141
<b>Dosis</b>	2J2	62	53	32,8	19,2	229	90	55	0,4	1,16	188
<b>Sedang</b>	2J3	55	38	35	10,9	261	100	52	0,39	1,33	136
<b>200mg/kgBB</b>	2J4	59	42	33,8	17,1	149	78	48	0,37	0,99	140
	2J5	63	45	35,1	18,8	110	83	43	0,37	0,72	235
	2B1	61	36	34,2	19,5	198	82	58	0,52	1,67	157
	2B2	56	38	35,1	13,8	190	64	47	0,48	1,39	149
	2B3	50	35	34,7	9,2	216	57	45	0,58	1,61	106
	2B4	68	40	36,3	23,8	208	79	52	0,55	1,63	167
	2B5	71	44	33,9	27,2	197	78	43	0,41	1,15	173
<b>IV</b>	3J1	63	54	33,7	17,8	196	118	38	0,19	1,02	145
<b>Dosis</b>	3J2	59	36	31,1	21,3	138	79	38	0,23	0,98	149
<b>Tinggi</b>	3J3	56	31	25,9	14,9	139	75	37	0,2	1,13	147
<b>400mg/kgBB</b>	3J4	64	50	33,9	10,6	166	84	39	0,19	1,08	156
	3J5	68	41	36,6	18,4	132	75	39	0,21	0,94	183
	3B1	60	36	30,6	14,3	150	68	38	0,2	2,09	111
	3B2	44	56	18,9	12,1	254	65	57	0,15	3,13	159
	3B3	78	37	55	10,3	181	52	53	0,24	2,41	133
	3B4	55	42	31,3	15,3	168	56	45	0,19	1,93	125
	3B5	66	44	32,7	14,3	223	67	49	0,23	2,62	142

133

134 **Tabel 4 Hasil Biokimia Darah Tikus setelah 28 hari berikutnya (SATELIT, TAHAP 2)**

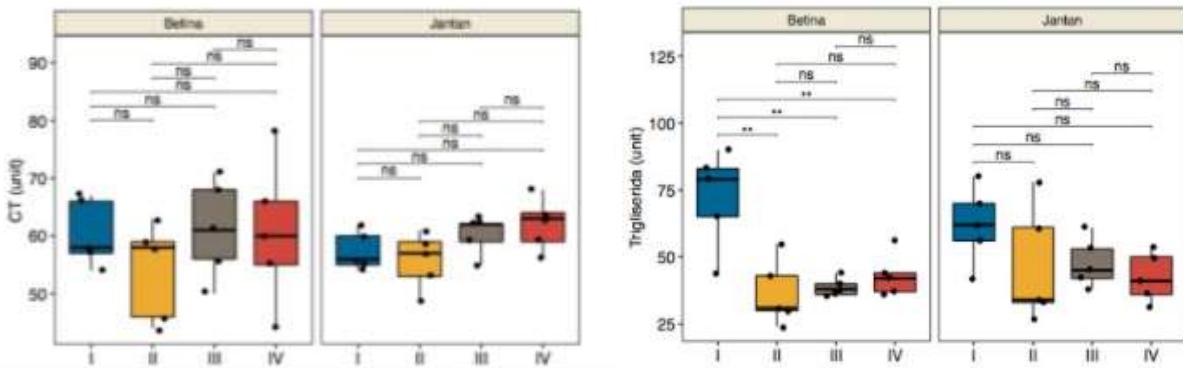
<b>Kelompok</b>	<b>Kode</b>	<b>Kolest</b>	<b>Trig</b>	<b>HDL</b>	<b>LDL</b>	<b>AST</b>	<b>ALT</b>	<b>UREUM</b>	<b>KREAT</b>	<b>AS URAT</b>	<b>GLUKOSA</b>
<b>I</b>	KJ1	60	59	39,3	13,7	133	76	41	0,31	0,99	143
<b>Kontrol</b>	KJ2	56	58	33,2	12,6	155	81	36,3	0,2	0,93	199
<b>Negatif</b>	KJ3	58	46	31,9	17,1	203	99	38,7	0,26	0,97	188
	KJ4	57	65	36,2	11,5	191	93	39,3	0,22	1,11	175
	KJ5	55	82	33	13,4	166	89	37,5	0,21	1,19	186
	KB1	63	75	41,2	11,2	210	115	38,5	0,23	0,9	133
	KB2	65	77	38,9	13,3	178	88	39,2	0,21	1,28	168
	KB3	57	44	34,9	12,9	141	75	41	0,2	1,22	150
	KB4	59	68	35,3	10,3	137	76	40	0,18	1,09	144
	KB5	55	93	34,6	9,6	151	78	41	0,19	1,47	156
<b>II</b>	1J1	60	75	34,3	11,2	189	108	48	0,3	1,2	128
<b>Dosis</b>	1J2	56	60	34,8	10,7	186	88	50	0,35	1,19	188
<b>Rendah</b>	1J3	52	35	34,1	11,9	183	70	45	0,31	1,18	153
<b>100mg/kgBB</b>	1J4	50	31	34,9	10,8	191	71	45	0,31	1,05	147
	1J5	48	30	35,9	8,9	190	73	48	0,33	1,04	198



	1B1	60	55	34,2	15,5	165	85	58	0,34	1,79	144
	1B2	44	29	33,1	9,3	153	87	44	0,33	1,07	170
	1B3	55	44	35	13,7	161	85	55	0,36	1,33	166
	1B4	42	25	34,1	7,8	162	95	43	0,35	0,98	185
	1B5	55	30	34	16,3	141	81	50	0,4	0,89	183
<b>III</b>	2J1	55	54	35,8	11,1	158	61	51	0,36	1,11	148
<b>Dosis</b>	2J2	58	50	34,2	14,8	169	80	52	0,35	1,01	160
<b>Sedang</b>	2J3	50	36	34,2	9,6	206	90	48	0,35	1,08	135
<b>200mg/kgBB</b>	2J4	56	40	34,5	14	144	70	46	0,34	0,96	139
	2J5	54	40	34,9	12,2	98	75	43	0,33	0,73	198
	2B1	55	38	33,1	15,3	181	76	52	0,4	1,23	151
	2B2	53	36	33,8	12,7	178	60	45	0,39	1,07	141
	2B3	48	36	34,9	7,7	185	55	41	0,45	1,17	109
	2B4	60	37	36,5	18,1	171	61	44	0,47	1,21	138
	2B5	61	39	35,5	19,9	179	71	39	0,36	1,05	149
<b>IV</b>	3J1	60	52	35,2	16,2	158	89	36,8	0,18	0,89	140
<b>Dosis</b>	3J2	51	35	32,2	18,8	112	71	37,2	0,21	0,87	145
<b>Tinggi</b>	3J3	54	30	28,1	18,3	130	68	38,1	0,23	1,01	143
<b>400mg/kgBB</b>	3J4	60	46	35,1	14,8	148	71	36,5	0,2	0,98	150
	3J5	62	40	37,8	15,7	125	70	35,9	0,18	0,89	163
	3B1	56	38	31,2	13,8	138	60	33,8	0,17	1,68	130
	3B2	43	49	20,1	10,5	211	58	41,2	0,18	2,65	138
	3B3	70	36	52,3	9,9	155	46	40,6	0,19	2,12	125
	3B4	51	40	32,6	11,4	153	51	38,5	0,17	1,78	118
	3B5	58	39	33,9	14,1	184	60	41,1	0,18	2,09	127

135

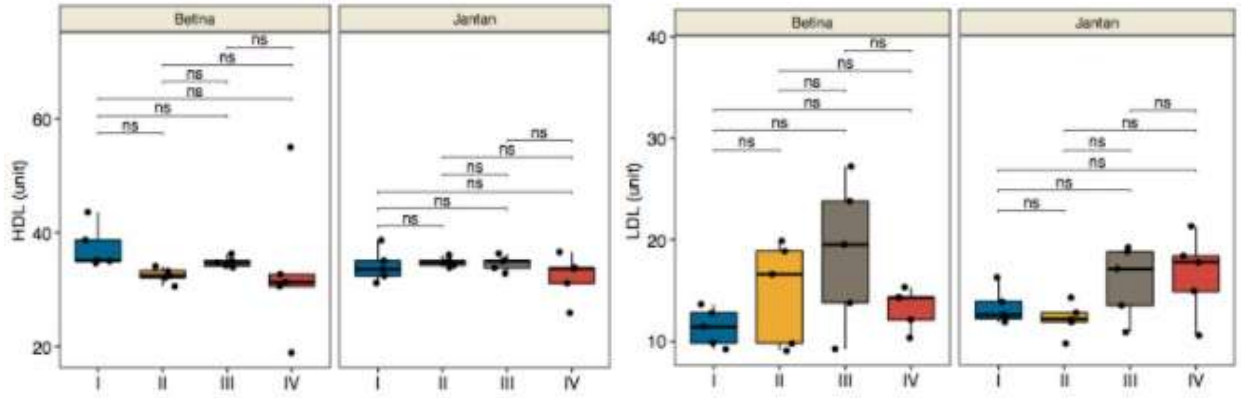
136 Hasil analisis statistika dari masing-masing parameter biokimia darah: Kolesterol total,  
 137 Trigliserida, HDL, LDL, AST, ALT, Ureum, Kreatinin, Asam Urat dan Glukosa.



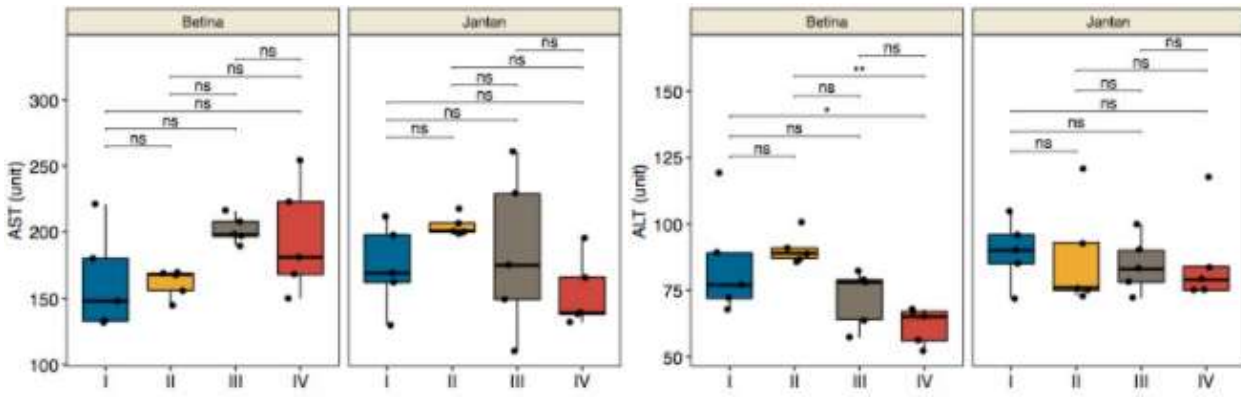
138

139

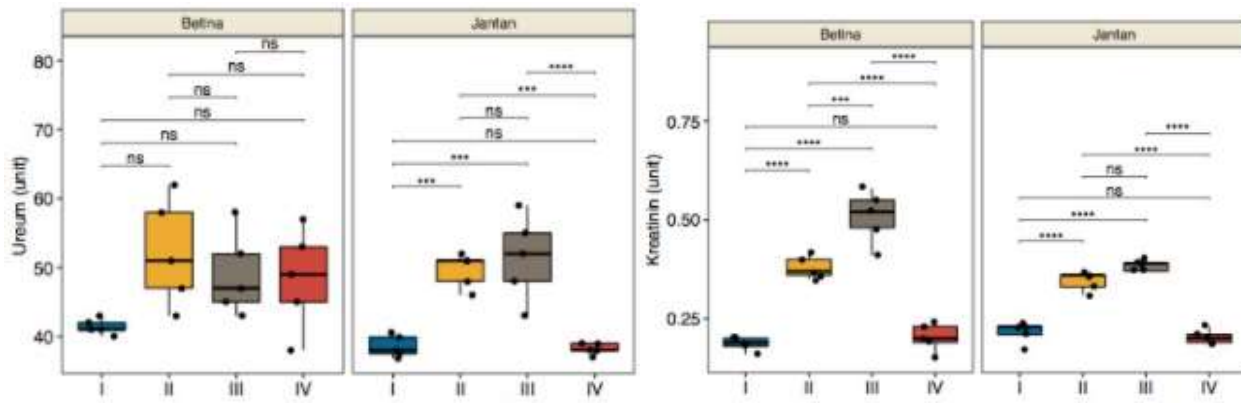
140



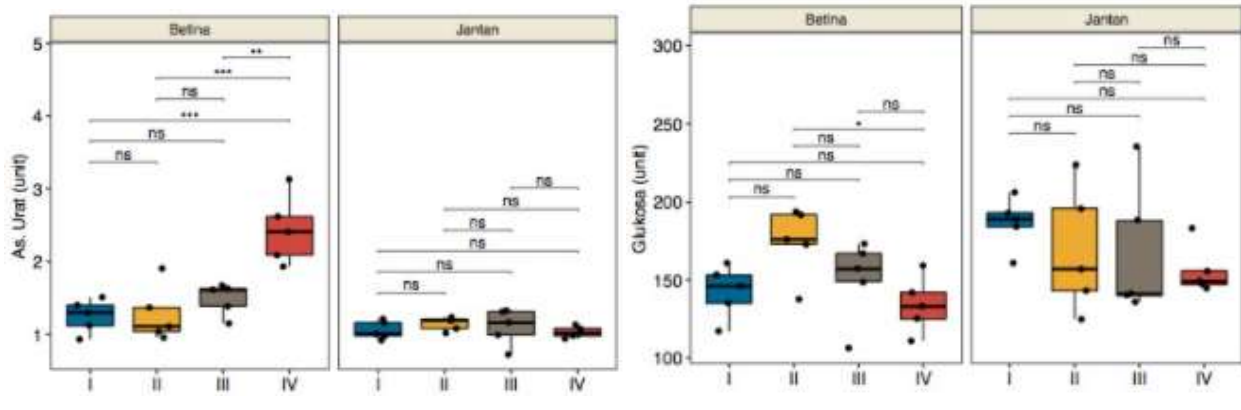
141



142



143



144 Hasil analisis statistika tahap pertama, menunjukkan profil **Trigliserida** tikus betina semua  
145 perlakuan (dosis rendah, sedang dan tinggi) berbeda signifikan dengan kontrol. Trigliserida di  
146 dalam darah membentuk kompleks dengan protein tertentu (apoprotein) sehingga membentuk  
147 lipoprotein. Trigliserida merupakan lemak yang terbentuk dari makanan, dibentuk di organ hati  
148 dan disimpan sebagai lemak di bawah kulit dan di organ-organ lain dan kadarnya meningkat  
149 apabila asupan kalori yang dikonsumsi lebih tinggi daripada yang dibutuhkan.<sup>8,9</sup>

150 Pada tikus yang dipelihara dengan baik, dan asupan makanan yang *ad libitum* atau tidak dibatasi,  
151 dan tidak dipaksa untuk beraktivitas seperti pada penelitian uji toksisitas subkronis ini dapat terjadi  
152 asupan kalori berlebihan (terlihat dari grafik berat badan yang meningkat), sehingga dapat  
153 menimbulkan kondisi hipertrigliseridemia.

154  
155 Profil ALT tikus betina berbeda signifikan antara dosis tinggi dengan kontrol, dimana kadar ALT  
156 nya jauh lebih rendah dibanding kontrol. Hal ini berhubungan dengan efek hepatoprotektif  
157 hidrolisat protein kacang polong ini.

158 Profil ureum tikus jantan semua perlakuan berbeda signifikan, kecuali dosis tinggi, yang hasilnya  
159 tidak berbeda dengan kontrol

160 Profil kreatinin tikus jantan dan betina dosis tinggi, hasilnya tidak berbeda dengan kontrol

161 Profil biokimia darah yang lain tidak berbeda bermakna dibanding kontrol.

162

163 Hasil analisis statistika tahap kedua (28 hari sesudahnya)

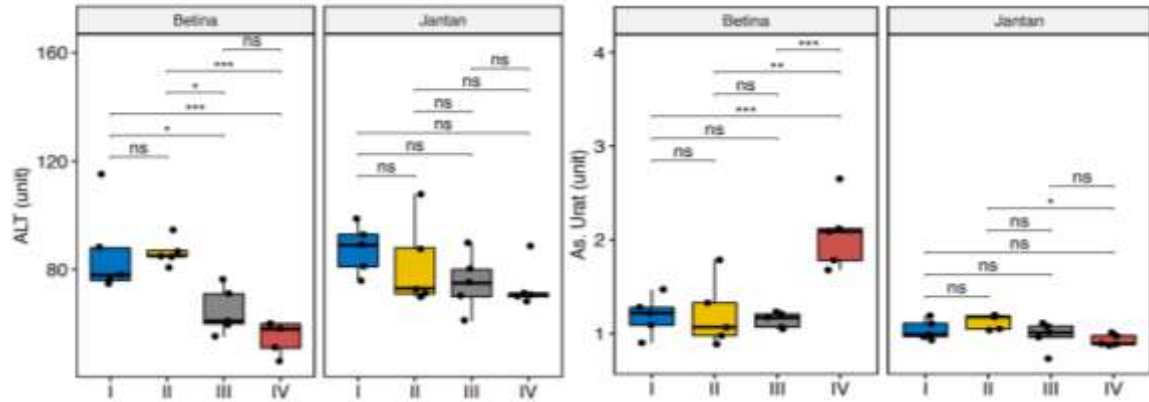
164 Profil ALT tikus betina berbeda signifikan antara dosis tinggi dengan kontrol, dimana kadar ALT  
165 nya jauh lebih rendah dibanding kontrol. Hal ini berhubungan dengan efek hepatoprotektif  
166 hidrolisat protein kacang polong ini. Hasil analisis asam urat tikus betina menunjukkan perbedaan  
167 yang signifikan antara kelompok kontrol dan dosis tinggi. Perlu diwaspadai peningkatan kadar  
168 asam urat ini, walaupun masih dalam rentang yang normal. Pada tikus jantan hal ini tidak terjadi,  
169 hal ini mungkin disebabkan tikus betina jauh lebih peka dibandingkan tikus jantan.

170 Profil ureum tikus jantan semua perlakuan berbeda signifikan, kecuali dosis tinggi, yang hasilnya  
171 tidak berbeda bermakna dengan kontrol. Kemungkinan ini merupakan efek protektif dari HPPHB  
172 dimana dari penelitian terdahulu menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis, profil fungsi ginjal  
173 semakin turun atau menunjukkan perbaikan pada tikus yang diinduksi Gentamicin.

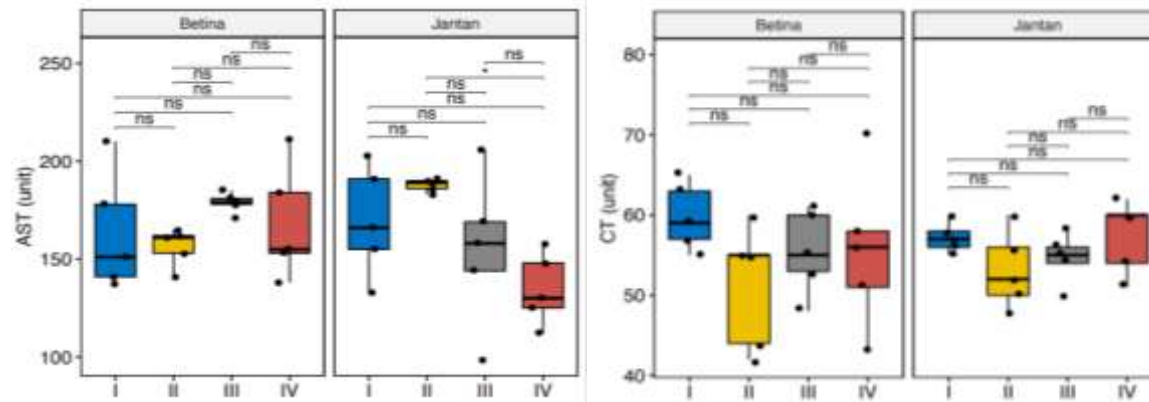
174 Profil kreatinin baik tikus jantan dan betina dosis tinggi, hasilnya tidak berbeda dengan kontrol  
175 padahal dosis rendah dan sedang berbeda bermakna dengan kontrol, kemungkinan merupakan  
176 mekanisme renoprotektif dari sampel HPPHB.

177 Profil biokimia darah yang lain (AST, Profil lipid: Kolesterol total, LDL, HDL; Glukosa), tidak  
178 berbeda bermakna dibanding kontrol.

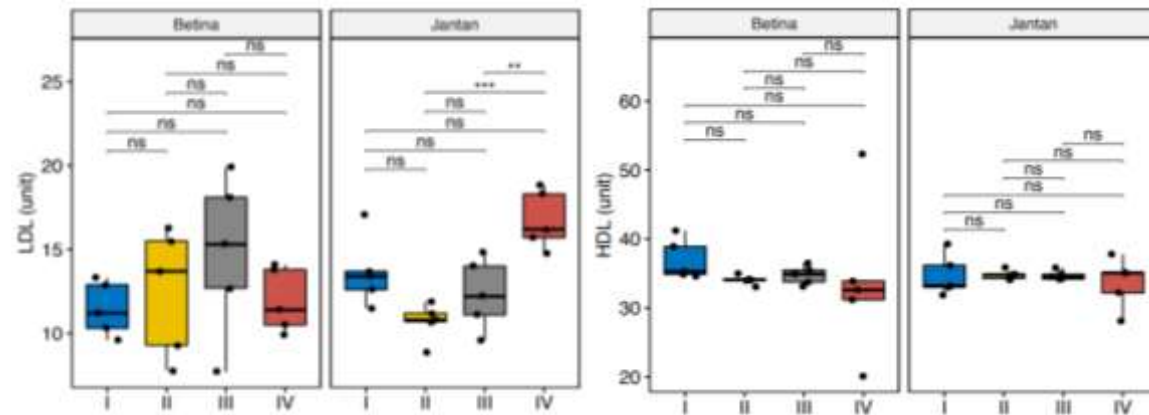
179



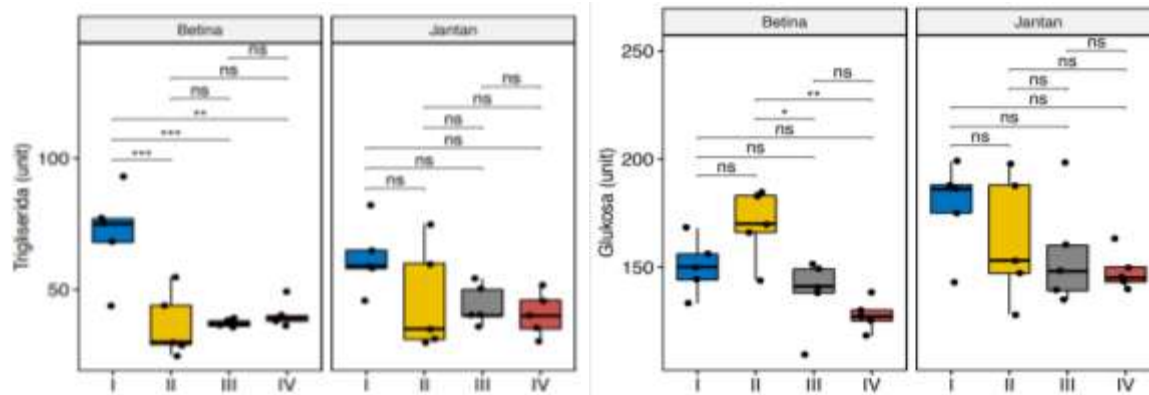
180



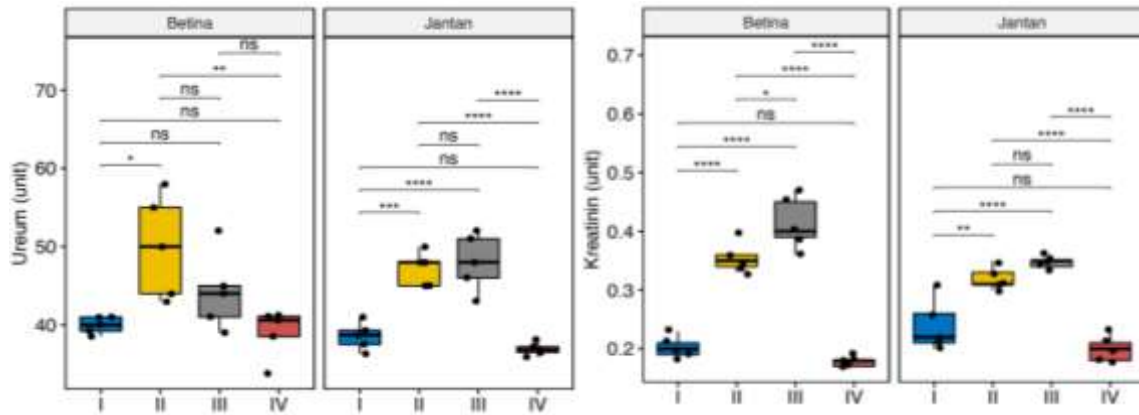
181



182



183



185

186

187 **PEMERIKSAAN HISTOPATOLOGIS HEPAR**

188 Parameter histopatologis yang akan dinilai pada penelitian ini yaitu steatosis, degenerasi balon,  
 189 dan inflamasi lobular yang akan dinilai berdasarkan sistem skoring *nonalcoholic fatty liver disease*  
 190 (NAFLD) dan diperiksa dalam sembilan (9) lapang pandang.<sup>10</sup>

191 **Steatosis** disebut juga sebagai *fatty change* yang disebabkan oleh akumulasi abnormal trigliserida  
 192 pada sel parenkim hepar. Gambaran histopatologis steatosis yaitu sel hepar menjadi besar dengan  
 193 warna putih karena terisi lemak dan nukleus terdesak ke pinggir.<sup>11</sup> Penilaian Steatosis:

- 194 • Skor 0 : Luas daerah yang mengalami steatosis kurang dari 5%
- 195 • Skor 1 : Luas daerah yang mengalami steatosis 5-33%
- 196 • Skor 2 : Luas daerah yang mengalami steatosis lebih dari 33-66%
- 197 • Skor 3 : Luas daerah yang mengalami steatosis lebih dari 66%

198 **Degenerasi balon** adalah gambaran sel hepar yang mengalami pembengkakan dengan warna  
 199 sitoplasma yang pucat.<sup>11</sup> Penilaian degenerasi balon :

- 200 • Skor 0 : Tidak ada
- 201 • Skor 1 : Beberapa sel yang mengalami degenerasi balon
- 202 • Skor 2 : Banyak sel yang mengalami degenerasi balon

203 **Inflamasi lobular** ditandai dengan adanya sel-sel radang pada lobular hepar.<sup>11</sup> Penilaian  
 204 inflamasi lobular :

- 205 • Skor 0 : Tidak ada fokus inflamasi
- 206 • Skor 1 : Ditemukan kurang dari 2 fokus inflamasi
- 207 • Skor 2 : Ditemukan 2-4 fokus inflamasi
- 208 • Skor 3 : Ditemukan lebih dari 4 fokus inflamasi

209

210 **Hasil Pengamatan**

Jantan/ Kelompok	KN	Satelit	I	II	III	Satelit
Steatosis	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0
	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0
	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0
Degenerasi Balon	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0
	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0
	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0

Inflamasi Lobular	1/1/1	0/0/0	2/2/2	1/1/1	3/3/3	0/0/0
	1/1/1	0/0/0	1/1/1	2/2/2	2/2/2	1/1/1
	1/1/1	0/0/0	2/2/2	1/1/1	3/3/3	0/0/0
Jumlah skor	9	0	15	12	24	3

211

212 Pada semua kelompok, baik kelompok kontrol maupun perlakuan tidak ada yang menunjukkan  
 213 gejala steatosis dan degenerasi balon. Pada penelitian ini yang terjadi hanya inflamasi lobular.  
 214 Parameter inflamasi lobular menunjukkan adanya proses peradangan yang terjadi pada sel hepar.  
 215 Kelompok kontrol menunjukkan adanya inflamasi dengan ditemukan 2 fokus peradangan pada  
 216 tiap lapang pandang (jumlah skor 9) hal ini mungkin saja disebabkan kondisi sekeliling lab  
 217 penelitian tikus menimbulkan stress. Dosis rendah menunjukkan fokus inflamasi yang lebih  
 218 banyak (jumlah skor 15), namun dosis sedang (200 mg/kgBB) menunjukkan inflamasi yang lebih  
 219 sedikit (skor 12). Pada dosis tinggi, sebagaimana diperkirakan ditemukan fokus inflamasi lebih  
 220 dari 4 pada tiap lapang pandang (jumlah skor 24). Setelah pemulihan selama 28 hari, kelompok  
 221 satelit kontrol sudah tidak menunjukkan adanya inflamasi sama sekali (skor 0), sedangkan  
 222 kelompok satelit dosis tinggi menunjukkan perbaikan yang nyata (jumlah skor semula 24 menjadi  
 223 hanya skor 3).

224

Betina/ Kelompok	KN	Satelit	I	II	III	Satelit
Steatosis	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0
	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0
	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0
Degenerasi Balon	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0
	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0
	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0
Inflamasi Lobular	1/1/1	0/0/0	1/1/1	0/0/0	3/3/3	0/0/0
	1/1/1	0/0/0	1/1/1	0/0/0	2/2/2	2/2/2
	0/0/0	0/0/0	1/1/1	0/0/0	3/3/3	0/0/0
Jumlah skor	6	0	9	0	24	6

225

226 Pada semua kelompok (KN, I, II dan III) tidak ada yang menunjukkan gejala steatosis dan  
 227 degenerasi balon. Kelompok kontrol menunjukkan adanya inflamasi dengan ditemukan 2 fokus  
 228 peradangan pada tiap lapang pandang (jumlah skor 6). Dosis rendah menunjukkan fokus inflamasi  
 229 yang lebih banyak, namun pada dosis sedang (200 mg/kgBB) yang merupakan dosis optimal malah  
 230 tidak menunjukkan inflamasi sama sekali (jumlah skor 0). Pada dosis tinggi, sebagaimana  
 231 diperkirakan ditemukan fokus inflamasi lebih dari 4. Setelah pemulihan selama 28 hari kelompok  
 232 satelit kontrol sudah tidak menunjukkan adanya inflamasi, sedangkan kelompok satelit dosis tinggi  
 233 menunjukkan perbaikan yang nyata (semula jumlah skor 24 menjadi 6). Disimpulkan dosis optimal  
 234 HPPHB 200mg/kgBB tergolong cukup aman terhadap organ hepar.

235

236

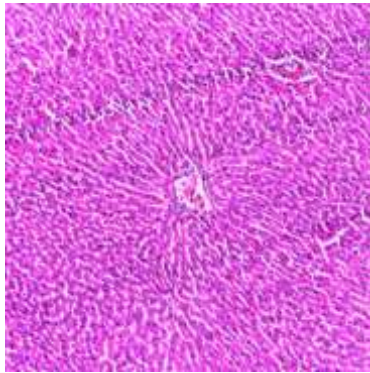
237

238

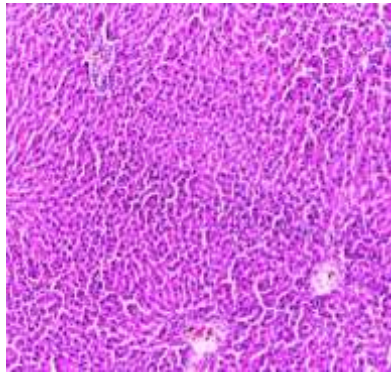
239



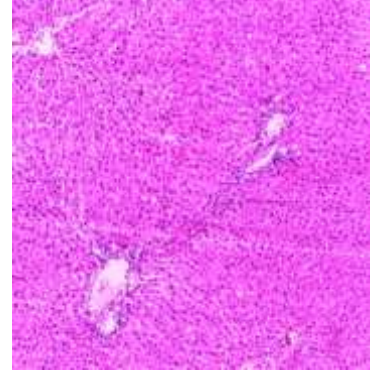
240 **Gambaran Histopatologis Hepar Tikus *Sprague Dawley* Jantan yang Diberi Perlakuan**  
241



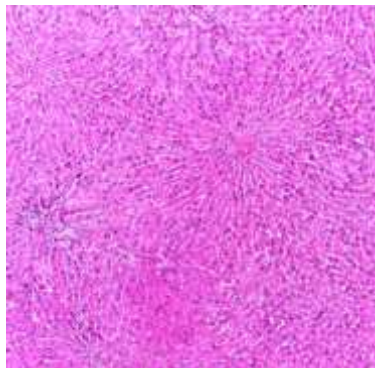
242 **Kelompok I**



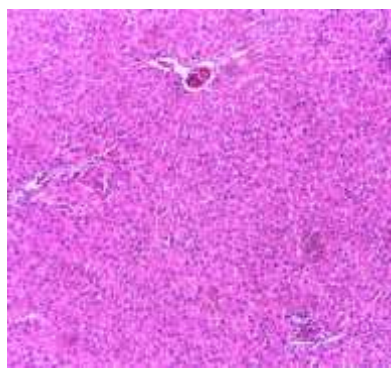
243 **Kelompok II**



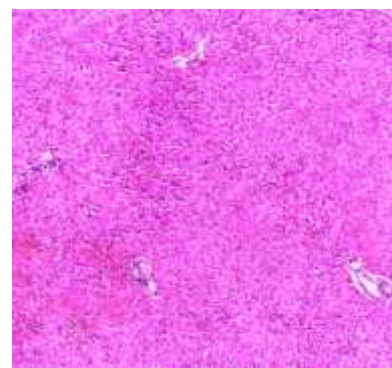
244 **Kelompok III**



245 **Kontrol Negatif (KN)**

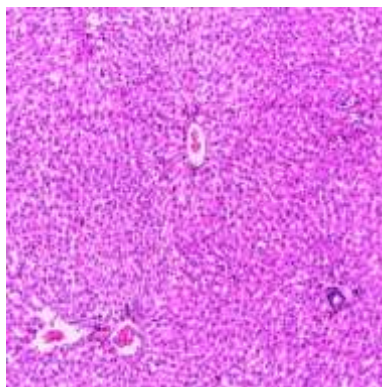


246 **Satelit KN**

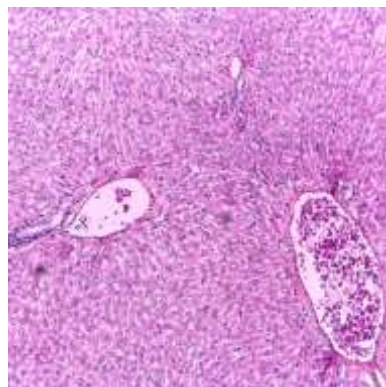


247 **Satelit Kelompok III**

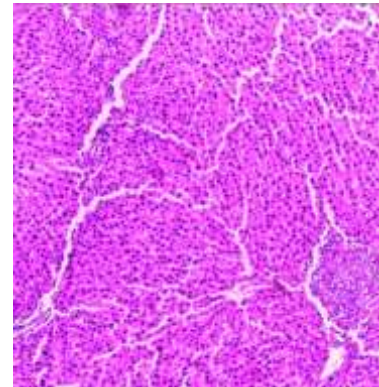
248 **Gambaran Histopatologis Hepar Tikus *Sprague Dawley* Betina yang Diberi Perlakuan**



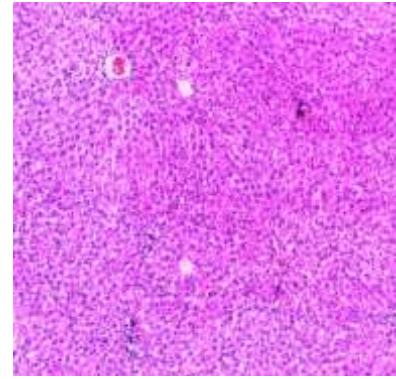
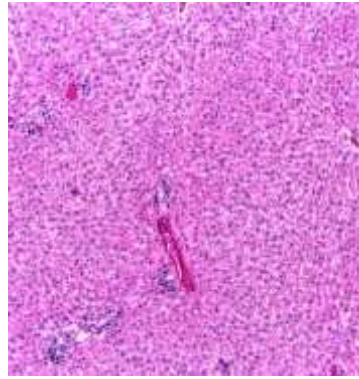
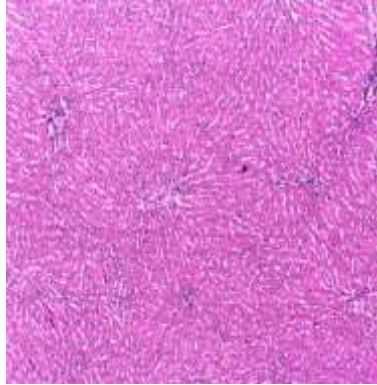
249 **Kelompok I**



250 **Kelompok II**



**Kelompok III**



251

252

**Kontrol Negatif (KN)**

**Satelit KN**

**Satelit Kelompok III**

253

254 **PEMERIKSAAN HISTOPATOLOGIS GINJAL**

255 Parameter yang diperiksa dalam gambaran histopatologis ginjal tikus Sprague Dawley yang  
 256 dilakukan uji toksisitas subkronis adalah degenerasi tubulus bengkak keruh, nekrosis inti, *hyaline*  
 257 *cast* dan fibrosis. Pengamatan histopatologis dilakukan pada 3 preparat setiap kelompok perlakuan  
 258 melalui mikroskop cahaya perbesaran objektif 10 dan 40 kali, pada 5 lapang pandang selanjutnya  
 259 diinterpretasi dalam bentuk skoring. Parameter yang diamati adalah Degenerasi tubulus (bengkak  
 260 keruh), Nekrosis inti, *Hyaline cast* dan Fibrosis.

- 261 • **Degenerasi tubulus (bengkak keruh)** adalah gangguan metabolisme energi dalam sel,  
 262 terutama mekanisme transpor aktif pada Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase sehingga sel tidak mampu  
 263 memompa ion Na keluar sel. Dinyatakan dalam bentuk skor 0 untuk tidak ada, 1 untuk  
 264 fokal dan 2 untuk difus.<sup>12</sup>
- 265 • **Nekrosis inti** adalah kematian inti sel yang dimulai dari piknosis yang ditandai kromatin  
 266 inti menebal. Dinyatakan dalam bentuk skor 0 untuk tidak ada, 1 untuk fokal dan 2 untuk  
 267 difus.<sup>12</sup>
- 268 • ***Hyaline cast*** terbentuk karena adanya inflamasi sel tubulus ginjal sehingga terjadi  
 269 kebocoran protein. Dinyatakan dalam bentuk skor 0 untuk tidak ada, 1 untuk <50% dan 2  
 270 untuk ≥50%.<sup>12</sup>
- 271 • **Fibrosis** timbul melalui dua mediator yaitu tumor necrotic factor (TNF- $\alpha$ ) dan angiotensin  
 272 II. Tumor necrotic factor  $\alpha$  merupakan sitokin menyebabkan inflamasi yang diproduksi  
 273 oleh makrofag, dan sel-sel epitel ginjal mesangial dan tubular. Angiotensin II merupakan  
 274 peptida utama dari sistem renin angiotensin sebagai faktor pertumbuhan yang mengatur  
 275 proliferasi sel, apoptosis, dan fibrosis. Dinyatakan dalam bentuk skor 0 untuk tidak ada, 1  
 276 untuk fokal dan 2 untuk difus.<sup>13</sup>

277

278 **Hasil Pengamatan**

279

Jantan/ Kelompok	KN	Satelit	I	II	III	Satelit
Bengkak Keruh	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0
Nekrosis Inti	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0
Hyalin Cast	0/0/0	0/0/0	0/1/1	1/1/1	1/1/1	0/0/0
Fibrosis	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0



280 Pada semua kelompok, baik kelompok kontrol maupun perlakuan tidak ada yang menunjukkan  
 281 gejala bengkak keruh, nekrosis inti dan fibrosis. Kelainan yang timbul pada kelompok perlakuan  
 282 adalah *hyaline cast* yang menandakan terdapat inflamasi pada tubulus ginjal, baik pada pemberian  
 283 dosis rendah, sedang maupun tinggi; namun peradangan yang terjadi tergolong kategori ringan,  
 284 yaitu kurang dari 50% per 5 lapang pandang (skor 1). Setelah pemulihan selama 28 hari kelompok  
 285 satelit dosis tinggi menunjukkan perbaikan yang nyata (jumlah skor 0).

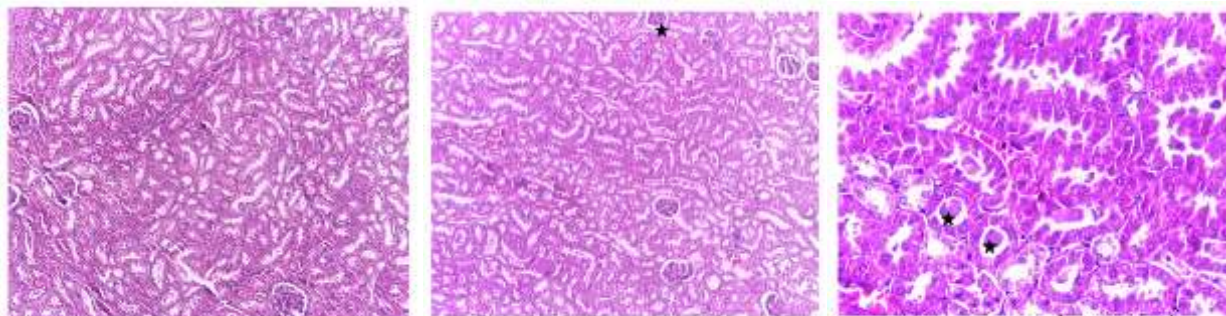
286

Betina/ Kelompok	KN	Satelit	I	II	III	Satelit
Bengkak Keruh	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0
Nekrosis Inti	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0
Hyalin Cast	0/0/0	0/0/0	0/0/1	1/0/1	1/1/1	0/0/0
Fibrosis	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0

287

288 Pada semua kelompok, baik kelompok kontrol maupun perlakuan tidak ada yang menunjukkan  
 289 gejala bengkak keruh, nekrosis inti dan fibrosis. Kelainan yang timbul pada kelompok perlakuan  
 290 adalah *hyaline cast* yang menandakan terdapat inflamasi pada tubulus ginjal, pada pemberian dosis  
 291 sedang dan tinggi; namun inflamasi yang terjadi hanya kategori ringan, yaitu kurang dari 50% per  
 292 5 lapang pandang (skor 1). Setelah pemulihan selama 28 hari kelompok satelit dosis tinggi  
 293 menunjukkan perbaikan yang nyata (jumlah skor 0).

294 **Gambaran Histopatologis Ginjal Tikus *Sprague Dawley* Yang Diberi Perlakuan**



295 Gambar *Hyaline cast* skor 0 (Objektif 10x)

Gambar *Hyaline cast* skor 1 (Tanda ★) (Objektif 10x)

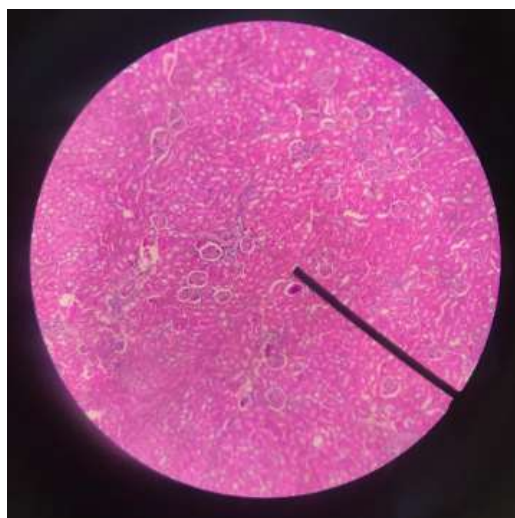
Gambar *Hyaline cast* skor 1 (Tanda ★) (Objektif 40x)



296

297 **Hyalin Cast score 1 (10x)**

**Hyalin Cast score 1 (40x)**



KN Betina



KN Jantan

299

300

### 301 PENELITIAN MEKANISME ANTIFIBROTIK

302 Telah dilakukan sintesis peptida LERGDT dan setelah melalui proses HR-TOF-MS, Analytical  
303 RP-HPLC, Semi Preparative RP-HPLC dan *Freeze Dry*. Didapat hasil peptida LERGDT

304



305

306

307

- I. Didapat hasil 3,8 mg peptide LERGDT dengan kemurnian 70%



308

309

310

311

312 Peptida LERGDT dan sampel HPPHB kemudian diuji coba ke sel MES 13 SV40 Mesangial ginjal  
313 yang diinduksi glukosa. Telah dilakukan penelitian induksi peptida LERGDT dan HPPHB pada  
314 sel mesangial terinduksi glukosa sebagai model sel ginjal PGK.

315

- II. Didapat hasil 18 mg peptide LERGDT dengan kemurnian >95%

316 **KULTUR SEL LINI SV40 MES13 (ATCC CRL-197™)**



317 Gbr 1. Kultur sel lini SV40 MES13 (40x)

Gbr 2. Kultur sel lini SV40 MES13 (100x)  
318 Pemberian LERGDT dan hidrolisat kacang polong pada sel mesangial terinduksi glukosa.<sup>14-18</sup>  
319 Hari ke-0 perlakuan

320 Hari ke-0 perlakuan



321 Gbr 3. sel lini SV40MES hari 0 (40x)

Gbr 4. sel lini SV40MES Hari 3 (40x)

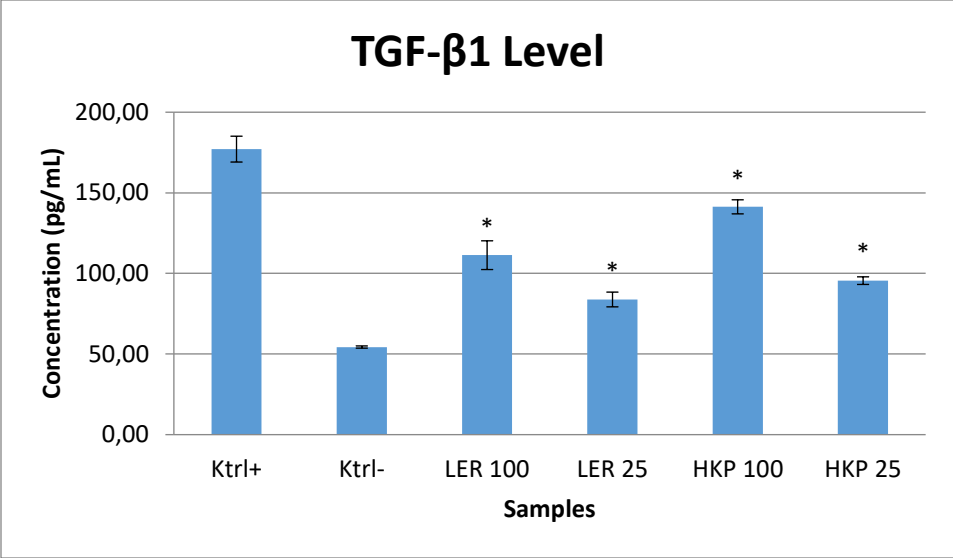
322 Perlakuan induksi LERGDT dan hidrolisat pada sel mesangial terinduksi glukosa (mengulang)  
323 Hari ke-0 perlakuan



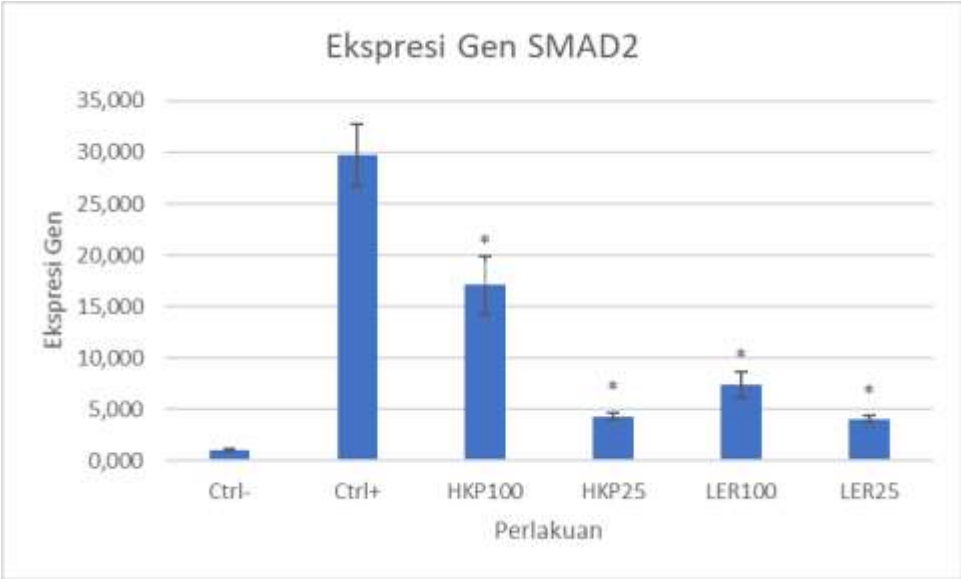
326 Gambar 5. sel lini SV40MES Hari ke-0 perlakuan (perbesaran 40x)

327 Hasil:  
328 Pada perlakuan pertama, semua sel mati termasuk kontrol negatif pada hari ke-3. Hal ini  
329 diasumsikan pada saat plating (*seeding* sel) jumlah sel yang ditanam di 6 well-plate terlalu  
330 banyak (*over-confluent*). Perlakuan kembali diulang dan saat ini sel lini segera akan ditreatment,  
331 untuk kemudian akan dilihat kadar TGF- $\beta$ 1 dan ekspresi gen Smad 2,3,4 dan 7.<sup>19,20</sup>

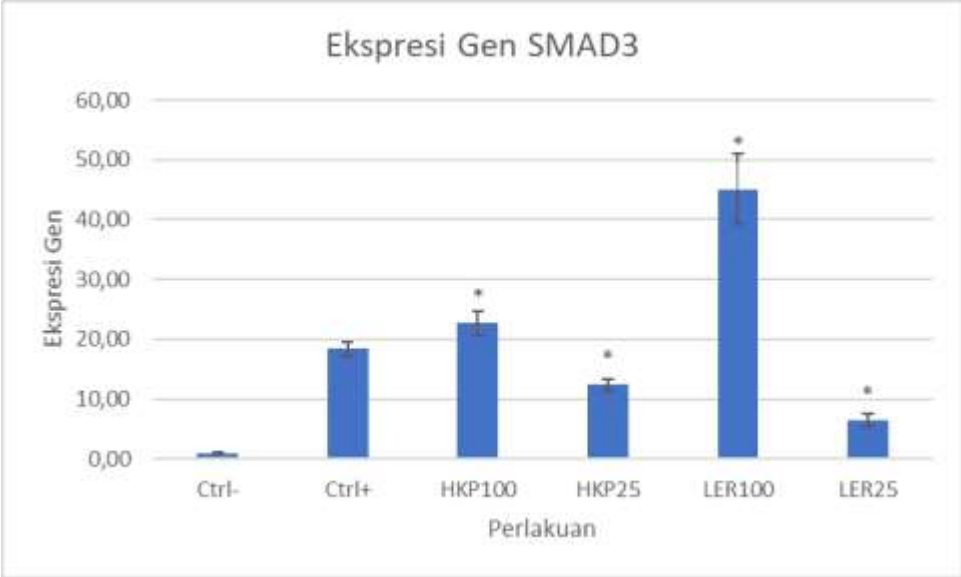
332  
333  
334  
335 **Kadar TGF-  $\beta$ 1 dan ekspresi gen Smad 2,3,4 dan 7**



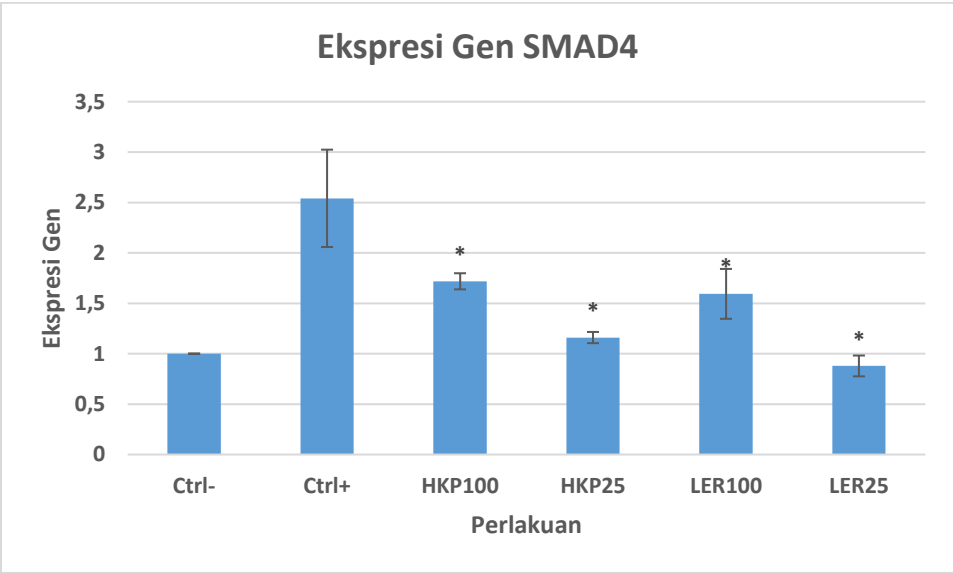
336  
337



338  
339

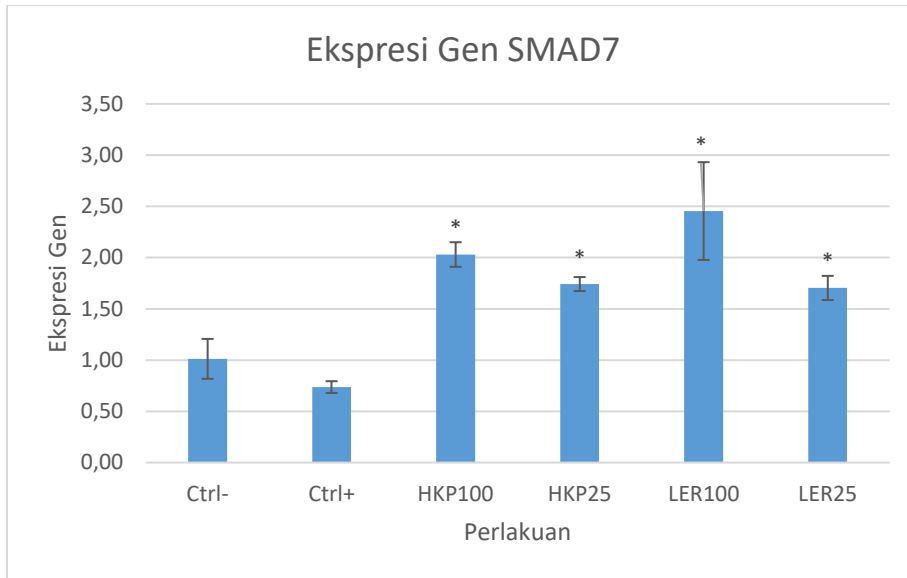


340  
341



342  
343





344  
345  
346  
347

Data disajikan dalam mean  $\pm$  standar deviasi. Tanda asterisk tunggal (\*) menunjukkan perbedaan signifikansi dengan kontrol positif pada level signifikansi 0.05

348  
349  
350

## SIMPULAN

351  
352  
353

Uji Toksisitas subkronis selama 28 hari dari Hidrolisat Kacang Polong Hijau Bromelain (HKPHB) menunjukkan bahwa HKPHB dosis rendah, sedang dan tinggi tidak menunjukkan gejala toksik, tidak mempengaruhi berat badan, berat organ dan indeks organ dan hematologi.

354  
355

■ Pemeriksaan biokimia darah menunjukkan perubahan dan kenaikan bbrp parameter, terutama pada pemberian dosis tinggi, akan tetapi pada kondisi satelit menunjukkan hasil reversible.

356  
357

■ Pemeriksaan histopatologis hepar dan ginjal, terjadi adalah inflamasi ringan, terutama pada dosis tinggi tapi setelah 28 hari kemudian, satelit dosis tinggi menunjukkan perbaikan atau reversible.

358

Pada histopatologis ginjal sama sekali tidak tampak kondisi fibrosis.

359  
360

■ Pemeriksaan uji mekanisme antifibrotik, semua hasil pemeriksaan TGF-  $\beta$ 1 dan ekspresi gen Smad 2,3,4 dan 7, HPKPB menunjukkan berbeda signifikan dengan kontrol positif, sehingga

361  
362

disimpulkan HPKPB mempunyai potensi yang menjanjikan sebagai terapi antifibrotik, khususnya untuk penyakit ginjal kronis.

363  
364

**D. STATUS LUARAN:** Tuliskan jenis, identitas dan status ketercapaian setiap luaran wajib dan luaran tambahan (jika ada) yang dijanjikan. Jenis luaran dapat berupa publikasi, perolehan kekayaan intelektual, hasil pengujian atau luaran lainnya yang telah dijanjikan pada proposal. Uraian status luaran harus didukung dengan bukti kemajuan ketercapaian luaran sesuai dengan luaran yang dijanjikan. Lengkapi isian jenis luaran yang dijanjikan serta mengunggah bukti dokumen ketercapaian luaran wajib dan luaran tambahan


melalui Simlitabmas.

365 Luaran yang dijanjikan pada proposal adalah publikasi di jurnal internasional bereputasi.

- 366 1. Hasil penelitian tahun lalu sudah terbit (*published*) dalam jurnal intemasional bereputasi yang terbit  
367 13 Juni 2020 di *Acta Medica Iranica* (Scopus Q3) *Acta Med Iran.* 57(12):690-697. URL:  
368 <https://acta.tums.ac.ir/index.php/acta/article/view/7692>. Judul: Effect of Green Peas Protein  
369 Hydrolysate on Antihyperlipidemia and Antinephrotoxicity of Gentamicin-Induced Wistar Rats.  
370 2. Draft manuskrip sebagian hasil penelitian tahun ini disubmit tanggal 6 Juli 2020 ke *Iranian*  
371 *Journal of Basic Medical Sciences* (Scopus Q2) <http://ijbms.mums.ac.ir/>

372

Manuscript Submission (#IBMS-2007-11459) yahoo/inbox ★

 Iranian Journal of Basic Medical Sciences <ijbms@mums.ac.ir>  
Tel: melahidayat@yahoo.com Wed, 8 Jul at 1:43 pm ★

Manuscript ID: IBMS-2007-11459

Manuscript Title: **Protein Hydrolysate of Green Peas (*Pisum sativum*) as an Antifibrotic Treatment for Chronic Kidney Disease**

Authors: Meilinah Hidayat, Sijani Prahastuti, Muhammad Yusuf, Khomaini Hassan

Dear Dr. **Meilinah Hidayat**

I wish to acknowledge the receipt of the above mentioned manuscript.

Submission of a manuscript to the Iranian Journal of Basic Medical Sciences (IBMS) implies that the work reported therein has not received prior publication and is not under consideration for publication elsewhere in any medium, including electronic journals and computer databases of a public nature. This manuscript is being considered with the understanding that it is submitted on an exclusive basis.

All the manuscript submitted to IBMS are checked by authenticate for possible plagiarism. The authors are expected to check their manuscript for plagiarism before submission. In publishing only original research, IBMS is committed to deterring plagiarism, including self-plagiarism.

Please noted that:

**Starting with July 2020 IBMS levies an article-processing charge of 15,000,000 RIs, for each original and short communication article accepted for publication. Please note that these charges apply only to accepted articles of Iranian authors. All other articles are exempt from these charges.**

Our editorial decision will be brought to your attention once the paper has been reviewed due the reviewer considerations.

Regards

Bibi Sedigheh Fazly Bazzaz, Ph.D.

Editor-in-Chief  
Iranian Journal of Basic Medical Sciences

373

**E. PERAN MITRA:** Tuliskan realisasi kerjasama dan kontribusi Mitra baik *in-kind* maupun *in-cash* (untuk Penelitian Terapan, Penelitian Pengembangan, PTUPT, PPUPT serta KRUPT). Bukti pendukung realisasi kerjasama dan realisasi kontribusi mitra dilaporkan sesuai dengan kondisi yang sebenarnya. Bukti dokumen realisasi kerjasama dengan Mitra diunggah melalui Simlitabmas.

Dalam penelitian ini tidak ada mitra

.....  
.....  
.....  
.....  
.....

**F. KENDALA PELAKSANAAN PENELITIAN:** Tuliskan kesulitan atau hambatan yang dihadapi selama melakukan penelitian dan mencapai luaran yang dijanjikan, termasuk penjelasan jika pelaksanaan penelitian dan luaran penelitian tidak sesuai dengan yang direncanakan atau dijanjikan.

1. Dalam situasi pandemi Covid 19 ini beberapa hal menjadi kendala, seperti lokasi penelitian yang semula direncanakan di lab hewan coba Sekolah Farmasi ITB, terpaksa dialihkan, karena lab masih belum dapat digunakan secara maksimal dan diutamakan untuk penelitian internal mahasiswa S1, S2 dan S3 ITB. Lokasi penelitian terpaksa dialihkan ke lab IRATCO, Dramaga Bogor, yang memiliki fasilitas lengkap dan memadai, namun terkendala jarak yang cukup jauh dari Bandung. Hewan coba yang semula direncanakan galur Wistar, terpaksa diganti menjadi galur *Sprague Dawley*, karena breeding hewan terkendala situasi Covid 19.
2. Waktu penelitian untuk sebuah uji toksisitas subkronis menurut aturan BPOM 2013, ada dua pilihan yaitu 90 hari atau 28 hari. Semula kami merencanakan uji penelitian selama 90 hari, namun terkendala oleh situasi pandemi ini, akhirnya kami memutuskan untuk melakukan uji toksisitas subkronis selama 28 hari saja, dengan pengamatan kontrol satelit selama 28 hari sesudahnya. Sejauh ini penelitian masih sesuai aturan BPOM yang berlaku tersebut.
3. Dana penelitian yang kami terima sangat terlambat, yaitu baru kami terima di bulan **September 2020**. Kami terpaksa menalangi banyak dana untuk keperluan penelitian ini padahal saat situasi pandemi kegiatan dan laboratorium banyak sekali kendala, mohon hal ini dapat menjadi masukan dan evaluasi untuk kemajuan DIKTI di kemudian hari. Terima kasih

**G. RENCANA TAHAPAN SELANJUTNYA:** Tuliskan dan uraikan rencana penelitian di tahun berikutnya berdasarkan indikator luaran yang telah dicapai, rencana realisasi luaran wajib yang dijanjikan dan tambahan (jika ada) di tahun berikutnya serta *roadmap* penelitian keseluruhan. Pada bagian ini diperbolehkan untuk melengkapi penjelasan dari setiap tahapan dalam metoda yang akan direncanakan termasuk jadwal berkaitan dengan strategi untuk mencapai luaran seperti yang telah dijanjikan dalam proposal. Jika diperlukan, penjelasan dapat juga dilengkapi dengan gambar, tabel, diagram, serta pustaka yang relevan. Jika laporan kemajuan merupakan laporan pelaksanaan tahun terakhir, pada bagian ini dapat dituliskan rencana penyelesaian target yang belum tercapai.

Penelitian tahun ke 3 ini merupakan tahun penelitian terakhir. Telah banyak hasil dan temuan yang didapat dari penelitian selama 3 tahun ini. Temuan yang didapat: metode pembuatan hidrolisat kacang polong, dosis efektif, manfaat dan efektivitas hidrolisat, aspek keamanan serta mekanisme kerja hidrolisat kacang polong ini telah diketahui. Perlu dilakukan uji efektivitas hidrolisat kacang polong hijau pada subjek manusia sebagai penelitian selanjutnya. Perlu adanya hilirisasi, yaitu



rencana kongkrit dari hasil penelitian ini dengan cara menggandeng perusahaan farmasi yang berminat untuk mengaplikasikan temuan ini pada masyarakat yang membutuhkan, khususnya penderita penyakit ginjal kronis.

**H. DAFTAR PUSTAKA:** Penyusunan Daftar Pustaka berdasarkan sistem nomor sesuai dengan urutan pengutipan. Hanya pustaka yang disitasi pada laporan kemajuan yang dicantumkan dalam Daftar Pustaka.

1. RISKESDAS. 2018. Riset Kesehatan Dasar Republik Indonesia
2. Hidayat M. Pembuatan dan Pengujian Hidrolisat Protein Kacang Polong Hijau menggunakan Bromelain untuk Perbaikan Fungsi Ginjal. Hak Cipta. EC00201810615. Kementerian Hukum dan Hak Asasi Manusia Republik Indonesia, 2018
3. Hidayat M, Prahastuti S, Riyani D.U, et al.. Kidney Therapeutic Potential of Peptides Derived from the Bromelain Hydrolysis of Green Peas Protein. *Iranian journal of basic medical sciences*. 2019; 22: 1016-1025
4. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo. BPOM 2013 : 1–16.
5. Badan POM RI. 2014. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No. 13 Tahun 2014 tentang Pedoman Uji Klinik Obat Herbal. Berita Negara RI Tahun 2014, No. 1262. Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia Republik Indonesia. Jakarta.
6. Badan POM RI. 2014. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No. 7 Tahun 2014 tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik secara In Vivo. Berita Negara RI Tahun 2014, No. 875. Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia Republik Indonesia. Jakarta.
7. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) guideline for testing of chemicals. 406. 1992.
8. Fauziah, Y. N., & Suryanto. (2012). Perbedaan Kadar Triglisericid pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2 Terkontrol dengan Diabetes Melitus Tipe 2 Tidak Terkontrol. *Mutiara Medika*, Vol. 12, No. 3, 188-195.
9. Hidayat M, Darsono L, Tjandra S. 2016. Buku Nutrisi untuk Penderita Penyakit Ginjal. Talenta Indonesia Mandiri. Jogjakarta.
10. Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, Belt P, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) Activity Score and the Histopathologic Diagnosis in NAFLD: Distinct Clinicopathologic Meanings. 2011; Available from: <https://aasldpubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/hep.24127>
11. Abbas A., Aster J., Kumar V. Buku Ajar Patologi Robbins. 9th ed. Elsevier; 2015. p 602–605.
12. Fitrianda MI. Digital Repository Universitas Jember. 2013.
13. Siahaan GS, Lintong PM, Loho LL. Gambaran histopatologik ginjal tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi gentamisin dan diberikan ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L. Poir). *J e-Biomedik*. 2016;4(1).
14. Widowati W, Wijaya, L., Murti H, et al. Conditioned medium from normoxia (WJMScs-norCM) and hypoxia treated WJMScs (WJMScs-hypoCM) in inhibiting cancer cell proliferation. *Biomarkers and genomic medicine*. 2015; 7: 8 – 17.
15. Prahastuti S, Hidayat M, Hasiana ST, et al. Ethanol Extract of Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* L.) as Therapy for Chronic Kidney Disease in In Vitro Model. *Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences*. 2019; 88: 229 – 235.
16. Okuda S, Languino L.R, Ruoslahti E, et al. Elevated expression of transforming growth factor-beta and proteoglycan production in experimental glomerulonephritis. Possible role in expansion of the mesangial extracellular matrix. *Journal of clinical investigation* 1990; 86: 453-462.
17. Meng X.M, Nikolic-Paterson D.J, Lan H.Y. TGF-β1: the master regulator of fibrosis. *Nature reviews nephrology*. 2016; 12: 325–338.
18. Shi M.L, J. Zhu J, R. Wang R, et al. Latent TGF-β structure and activation. *Nature*. 2011; 474: 343–349.
19. Lan HY. 2012. Smads as therapeutic targets for chronic kidney disease. *Kidney Research and Clinical Practice* 31(1):4–11. DOI: 10.1016/j.krcp.2011.12.001
20. Lan, HY. 2011. Diverse roles of TGF-B1/Smads in renal fibrosis and inflammation. [International journal of biological sciences](https://doi.org/10.7150/ijbs.7.1056) 7(7):1056-67. DOI: [10.7150/ijbs.7.1056](https://doi.org/10.7150/ijbs.7.1056)



