

## The Provision of Hydrolyzed Gelatin Kampung Chicken Shank to the Structure of Liver and Kidneys of Osteoporosis Rats (*Rattus norvegicus*)

### Pemberian Gelatin Hidrolisat Shank Ayam Kampung (*Gallus gallus domesticus*) terhadap Struktur Hati dan Ginjal Tikus (*Rattus norvegicus*) Osteoporosis

Yasmi Purnamasari Kuntana<sup>1)</sup>, Ita Krissanti<sup>2)</sup>, Ragaluh Dewantara<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan ilmu pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran

<sup>2)</sup>Departemen Anatomi dan Embriologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Padjadjaran  
Jalan Raya Bandung - Sumedang KM. 21, Jatinangor, Sumedang, Jawa Barat, Indonesia 45363

Email: [y.purnamasari@unpad.ac.id](mailto:y.purnamasari@unpad.ac.id)

---

#### ABSTRAK

Osteoporosis adalah kelainan pada tulang berupa penurunan substansi dan kepadatan tulang yang mengakibatkan pengurangan massa dan perubahan struktur tulang. Hal ini karena sel osteosit dalam jaringan tulang mengalami kematian sehingga jaringan tulang menjadi berpori. Penderita osteoporosis akan mengalami rasa nyeri dan kesulitan mobilitas. Pencegahan dan pengobatan osteoporosis yang ada sekarang adalah obat-obatan yang hanya mengurangi rasa nyeri, belum terbukti efektivitasnya dan memiliki efek samping yang nyata. Kolagen merupakan alternatif yang aman untuk mencegah dan mengobati osteoporosis karena sel osteosit pada tulang membutuhkan kolagen dalam pembentukannya. Kolagen dapat diperoleh dari gelatin hidrolisat yang berasal dari shank ayam kampung (*Gallus gallus domesticus*). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui keamanan konsumsi gelatin hidrolisat shank ayam kampung pada tikus (*Rattus norvegicus*) osteoporosis dilihat dari kondisi histologis hati dan ginjalnya. Hati dan ginjal adalah organ yang dipilih karena kedua organ ini memetabolisme setiap zat yang dikonsumsi. Sebanyak 25 ekor tikus putih jantan (*R. norvegicus*) galur wistar dibagi menjadi lima kelompok terdiri dari P1 (Kontrol negatif *Potato Dextrose Broth* 0,5 mL / g BB), P2 (Kontrol positif *CCl<sub>4</sub>* 0,14 mL / g BB), P3-P5 (gelatin hidrolisat dosis 0,25; 0,5; 0,75 mL / g BB). Parameter yang diamati meliputi jumlah sel hepatosit yang nekrosis, diameter vena sentralis, jumlah sel tubulus proksimal yang nekrosis, dan diameter kapsula bowman. Data dianalisis dengan menggunakan ANAVA dan uji *Duncan* pada P 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian gelatin hidrolisat shank ayam dosis 0,25 mL/g BB aman untuk dimetabolisme hati dan ginjal tikus (*R. norvegicus*) osteoporosis. Gelatin hidrolisat shank ayam kampung mengandung glisin yang baik untuk hati dan ginjal.

**Keywords:** Gelatin hidrolisat, Shank Ayam Kampung, Osteoporosis, Hati, Ginjal

---

#### PENDAHULUAN

Osteoporosis merupakan kelainan kondisi di mana tulang mengalami penurunan substansi dan kepadatan tulang, yang mengakibatkan pengurangan massa tulang dan perubahan struktur tulang menjadi berpori. Kondisi ini membuat tulang semakin rawan mengalami fraktur (Kristiningrum, 2020). Menurut *International Osteoporosis Foundation* (IOF), terdapat 200 juta penderita osteoporosis di seluruh dunia. Di Indonesia sendiri, prevalensi osteoporosis menurut Badan Litbang Gizi Departemen Kesehatan Republik Indonesia (2006) adalah setinggi 10,3%, dan data dari "*Indonesia White Paper*" PEROSI, menunjukkan bahwa prevalensi osteoporosis di Indonesia pada tahun 2007 mencapai 28,8% untuk pria dan 32,3% untuk wanita (Dwi Alifatul & Santi, 2013; Kristiningrum, 2020). Osteoporosis bisa disebabkan oleh beberapa faktor, di antaranya karena usia, jenis kelamin, dan kurangnya aktivitas fisik. Selain faktor-faktor tersebut, osteoporosis juga bisa diakibatkan oleh kurangnya asupan nutrisi, penggunaan

obat-obatan tertentu dalam jangka waktu panjang, kurangnya paparan sinar matahari, dan terkena paparan radikal bebas (Amertaning *et al.*, 2019; Kristiningrum, 2020).

Kehadiran radikal bebas memicu gangguan pada sistem endokrin dan kekebalan tubuh. Kehadiran *Reactive Oxygen Species* (ROS) mengakibatkan patofisiologis jaringan khususnya membran sel yang memiliki kerentanan yang tinggi terhadap efek ROS. Radikal bebas dalam tubuh bersifat sangat reaktif dan hasil interaksinya di dalam tubuh bersifat destruktif. Semakin tinggi jumlah radikal bebas yang ada di dalam tubuh akan mengakibatkan penurunan imunitas tubuh yang diikuti oleh gangguan homeostasis jaringan (Sozen *et al.*, 2017). Salah satu senyawa yang bersifat radikal bebas adalah karbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>). Senyawa ini dapat menyebabkan kerusakan musculoskeletal yang menghambat dan merusak pertumbuhan kolagen pada otot dan tulang. Paparan CCl<sub>4</sub> menyebabkan penghambatan proliferasi sel rawan dan penurunan diameter trabekula di jaringan tulang (Kuntana *et al.*, 2016). Senyawa CCl<sub>4</sub> menyebabkan kerusakan membran sel hati sehingga enzim (*alanine aminotransferase* (ALT), *aspartate aminotransferase* (AST), *alkaline phosphatase* (ALP) dan *gamma-glutamyl transferase* (Gamma-GT)) keluar dari sitoplasma sel yang rusak (Morovvati & Armand, 2019; Srilakshmi *et al.*, 2010). Salah satu fungsi ALP adalah meningkatkan proses osteogenesis sel tulang (Pan, *et al.*, 2019).

Selama ini pencegahan dan pengobatan osteoporosis bergantung pada obat-obatan yang disetujui FDA, seperti obat dari golongan bifosfonat, kalsitonin, estrogen, raloksifen, dan hormon paratiroid. Penggunaan obat-obatan tersebut terbukti menimbulkan efek samping seperti obat dari golongan bifosfonat mengakibatkan osteonekrosis pada tulang rahang yang sulit disembuhkan. Penggunaan kalsitonin menyebabkan efek mual, sedangkan penggunaan estrogen dan raloksifen mengakibatkan tromboemboli dan kanker payudara (Herawati, 2013).

Pencegahan dan pengobatan osteoporosis dapat dilakukan dengan menambah asupan kolagen ke dalam tulang. Osteoporosis terjadi saat tulang kehilangan komponen utamanya, yaitu sel osteosit dan sel kondroblast. Selama ini pencegahannya hanya berfokus pada struktur luar tulang dan bukan kondisi sel osteosit. Sel osteosit berperan dalam mengatur efisiensi resorpsi tulang dan manajemen aktivitas hormon pada struktur tulang. Sel osteosit berperan dalam mengirimkan sinyal antar sel osteosit dalam memproses metabolisme tulang. Apoptosis sel osteosit merupakan hal yang umum terjadi dalam osteoporosis (Bonewald, 2004). Dalam pembentukannya, sel osteosit memerlukan kolagen.

Kolagen tidak dapat dikonsumsi secara langsung akan tetapi perlu diolah menjadi gelatin melalui proses hidrolisis. Kolagen adalah bahan penyusun utama untuk jaringan konektif pada tulang dan kulit (Schrieber and Gareis, 2007). Menurut Guillen *et al.* (2011), sumber kolagen yang menjadi bahan dasar gelatin umumnya diperoleh dari jaringan kulit dan tulang hewan ternak mamalia, yaitu dari sapi, dengan tingkat penggunaan kulit dan tulangnya secara berturut-turut sebanyak 29,4% dan 23,1%, dan dari babi, dengan tingkat penggunaan kulit sebanyak 46%. Munculnya masalah zoonosis seperti *Mad Cow Disease* pada kolagen dari gelatin yang berasal dari sapi dan kehalalan pada kolagen dari gelatin yang berasal dari babi, maka sumber alternatif lainnya yang aman adalah shank (ceker) ayam (Almeida *et al.*, 2012; Zhou *et al.*, 2016). Hal ini karena shank ayam memiliki kandungan kolagen (33%), kalsium dan fosfat sehingga bisa

dikonversi melalui proses hidrolisis enzimatis menjadi gelatin hidrolisat (Oesser *et al.*, 1999). Gelatin hidrolisat bersifat antioksidan. Potensi gelatin hidrolisat asal shank ayam memiliki prospek baik karena ayam merupakan hewan ternak dengan jumlah populasi terbesar di dunia (25,9 miliar ekor) (FAO, 2021). Indonesia memiliki  $\pm$  308 juta ekor ayam kampung (DPKH, 2020). Menurut Shandra (2016) kolagen, kalsium, dan fosfat merupakan unsur yang penting dalam mencegah osteoporosis. Hal tersebut dikuatkan oleh Ismail (2020), gelatin hidrolisat dari shank ayam kampung dapat menstimulasi peningkatan kolagen tipe II yaitu jaringan tulang rawan yang terdiri atas sel kondrosit.

Pada penelitian ini, konsumsi gelatin hidrolisat shank ayam kampung diberikan secara oral pada tikus. Hal ini bertujuan untuk mendapatkan gambaran yang paling mendekati dengan proses pencernaan dalam tubuh manusia. Organ hati dan ginjal dipilih sebagai organ target karena fungsi kedua organ tersebut berhubungan langsung dengan proses pencernaan. Hati dan ginjal berfungsi sebagai pusat detoksifikasi bahan yang dicerna. Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengkaji pengaruh gelatin shank ayam dan aspek keamanannya terhadap struktur histologis hati dan ginjal tikus (*Rattus novergicus*) osteoporosis.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental dan deskriptif kuantitatif di laboratorium dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan hewan uji tikus putih (*R. novergicus*) jantan berusia 2-3 bulan dan bobot badan antara 180-200 gram (koefisien keragaman  $\leq$  10%) berjumlah 25 ekor. Tikus diambil secara acak lalu dikelompokkan ke dalam 5 kelompok perlakuan dengan lima kali ulangan. Perlakuan yang diberikan terdiri atas P1 (Kontrol negatif/larutan PDB 0,5 ml/g BB tikus); P2 (Kontrol positif/ $CCl_4$  dosis 0,14 ml/g BB tikus); P3 (Gelatin Hidrolisat dosis 0,25 +  $CCl_4$  dosis 0,14 ml/g BB tikus); P4 (Gelatin Hidrolisat dosis 0,5 +  $CCl_4$  dosis 0,14 ml/g BB tikus); P5 (Gelatin Hidrolisat dosis 0,75 +  $CCl_4$  dosis 0,14 ml/g BB tikus)

Parameter yang diamati meliputi struktur histologis hati dan ginjal tikus. Pengamatan struktur hati mencakup persentase nekrosis hepatosit dan diameter vena sentralis, sedangkan pada ginjal mencakup diameter glomerulus, diameter kapsula bowman, dan persentase nekrosis tubulus proksimal. Gelatin hidrolisat shank ayam kampung (*G. gallus domesticus*) dalam bentuk bentuk kering beku (*Freeze Dry*) diberikan setiap hari selama 14 hari pada tikus. Tikus diinduksi osteoporosis oleh  $CCl_4$  selang sehari selama 7 hari. Kriteria eksklusi meliputi tikus menunjukkan sakit (gerakan inaktif, tidak mau makan, rambut kusam atau rontok).

Dosis  $CCl_4$  yang diberikan pada tikus merupakan hasil konversi dari penelitian Campo *et al.* (2008), yaitu 1 mL/kg BB sebagai dosis hepatotoksik pada mencit. Dosis tersebut dikonversi menjadi 0,14 mL/g BB bobot badan tikus. Dosis gelatin hidrolisat merupakan dosis yang telah dikonversi dari penelitian Oesser *et al.* (1999), yaitu 10 mL/g BB manusia sebagai dosis aman yang diberikan dalam jangka panjang ( $\pm$ 3 bulan). Dosis ini dikonversi menjadi 0,2 mL/g BB tikus dan dikembangkan menjadi 3 dosis, yaitu 0,25; 0,5; dan 0,75 mL/g BB tikus.

Hasil pengamatan dibahas secara deskriptif dan dianalisis menggunakan *One-way* ANOVA serta Uji *Duncan* dengan tingkat kepercayaan 95% (Gomez K. A. dan Gomez, 1995).

Lokasi penelitian dilakukan di Rumah Sakit Dr. Hasan Sadikin, Jalan Pasteur nomor 38 Bandung 40161 dan di Laboratorium Histopatologi Balai Veteriner Subang, Jalan Terusan Garuda Subang 41212. Subjek Hewan coba tikus (*R. norvegicus*) telah mendapatkan surat persetujuan dari Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran dengan nomor registrasi: 0119121274.

## HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

### 1. Pengamatan Eksklusif Tikus (*R. norvegicus*) setelah pemberian Perlakuan

Penampilan tikus setelah pemberian perlakuan memperlihatkan kondisi tubuh yang membungkuk, rambut yang kusam, rontok dan Gerakan mobilitas yang kurang aktif. Tikus perlakuan mengalami penurunan bobot badan, tampak tremor dan tidak nafsu makan. Gambar 1 di bawah ini adalah kondisi tikus setelah diberi perlakuan.



Gambar 1. Kondisi Tikus setelah diberi perlakuan. Ket A. Tikus kontrol; B. Tikus hasil perlakuan CCl<sub>4</sub>; C. Tikus yang diberi perlakuan Gelatin hidrolisat dan CCl<sub>4</sub>

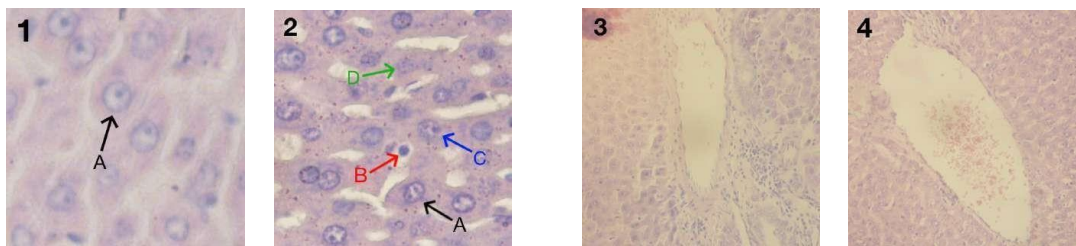
Penurunan bobot badan dipengaruhi oleh berkurangnya kepadatan tulang. Hal ini sejalan dengan pendapat Chen, *et al.* (2017), bahwa penurunan berat badan dapat menggambarkan kepadatan massa tulang yang telah atau akan segera berkurang. Kondisi Stres oksidatif dapat memicu kerusakan sel  $\beta$  pankreas sehingga terjadi penurunan produksi insulin serta resistensi insulin sehingga kadar glukosa dalam darah meningkat. Kondisi demikian dapat mengganggu penggunaan glukosa pada jaringan perifer seperti otot rangka dan jaringan adiposit. Gangguan metabolisme gula akan menyebabkan kelemahan pada tubuh. Ketika energi tidak bisa didapatkan dari gula, maka tubuh akan memetabolisme lemak atau protein. Penggunaan protein atau lemak akan menyebabkan penurunan berat badan (Santi, 2013; Rojas, *et al.*, 2015; Rias dan Ekawati, 2017).

Bobot badan serta aktivitas tikus berangsur meningkat seiring peningkatan dosis perlakuan gelatin. Dalam penelitian Zdzieblik, *et al.* (2021), telah terbukti bahwa asupan peptida kolagen mampu meningkatkan sintesis protein otot pada pria usia 30-60 tahun yang terlihat dari peningkatan massa tubuh bebas lemak jika dibandingkan dengan kelompok plasebo. Menurut Setiowati dan Hadi (2013), penambahan asupan protein akan meningkatkan sintesis protein. Hal tersebut memicu peningkatan massa otot berikut berat badan.

### 2. Struktur Histologis Hati Tikus (*R. norvegicus*) setelah Pemberian Perlakuan

Hasil pengamatan mikroskopik pada histologis hati t i k u s p e r l a k u a n menunjukkan bahwa sel hepatosit mengalami nekrosis. Berdasarkan kondisi inti selnya terdapat tiga jenis nekrosis yaitu piknosis, karioreksis, dan kariolisis. Struktur histologis

hati tikus kelompok P2-P5 menunjukkan nekrosis dalam jumlah yang besar. Vena sentralis pada tikus kelompok P2-P5 menunjukkan tanda-tanda kongesti darah. Kongesti merupakan gejala patologis pertama dari kerusakan jaringan. Tanda kongesti berupa gumpalan warna merah yang terdiri dari kumpulan eritrosit di dalam saluran pembuluh darah. Kongesti dapat dikaitkan dengan keberadaan zat toksik dalam organ seperti CCl<sub>4</sub> (Andayani *et al.*, 2018; Meutia, 2018). Gambaran selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 2 di bawah ini.



Gambar 2. Histopatologis Hati Tikus dengan Mikroskop cahaya, Pewarna HE. Ket (1)hepatosit tikus kontrol [P; 400x]; (2) hepatosit yang mengalami nekrosis, A: sel normal, B: piknosis, C: karioreksis, dan D: kariolisis [P; 400x]; (3) Vena sentralis normal [P; 200x]; (4) Vena sentralis yang mengalami pelebaran dan kongesti [P; 200x]

Berdasarkan hasil *One-way* ANOVA, menunjukkan bahwa pemberian perlakuan berpengaruh nyata ( $\alpha < 0,05$ ) terhadap persentase nekrosis hepatosit dan diameter vena sentralis selanjutnya hasil uji *Duncan* tampak pada table 1 di bawah ini.

Tabel 1. Persentase Nekrosis Hepatosit dan Diameter Vena Sentralis Tikus (*R.novergicus*) setelah Pemberian Perlakuan

Perlakuan	Rata-rata % nekrosis*	Rata-rata ( $\mu\text{m}$ ) diameter vena sentralis*
P1(Kontrol negatif larutan PDB 0,5 mL/g BB)	28,7 <sup>a</sup>	55,48 <sup>a</sup>
P2 (Kontrol positif CCl <sub>4</sub> 0,14 mL/g BB)	57,1 <sup>b</sup>	126,61 <sup>b</sup>
P3 (Gelatin hidrolisat 0,25 mL/g BB)	55,6 <sup>b</sup>	57,48 <sup>a</sup>
P4 (Gelatin hidrolisat 0,5 mL/g BB)	59,4 <sup>b</sup>	90,23 <sup>a</sup>
P5 (Gelatin hidrolisat 0,75 mL/g BB)	58,1 <sup>b</sup>	70,97 <sup>a</sup>

Keterangan: \* = Huruf yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan signifikansi yang berbeda nyata ( $\alpha$  0,05) berdasarkan uji *Duncan*

Rata % nekrosis sel hepatosit kelompok P1 berbeda nyata dengan kelompok P2, P3, P4, dan P5, namun P2-P5 tidak berbeda nyata antar satu sama lain. Hal tersebut karena pemberian CCl<sub>4</sub> mengakibatkan tingkat nekrosis yang tinggi pada hati. Efek toksik CCl<sub>4</sub> pada hati disebabkan oleh konversi radikal bebas. Konversi ini dipengaruhi oleh aktivitas metabolik CCl<sub>4</sub> yang berlangsung dalam retikulum endoplasma (RE) hepatosit lewat interaksi transfer elektron NADPH-sitokrom P450. Aktivasi CCl<sub>4</sub> menghasilkan radikal bebas triklorometil atau CCl<sub>3</sub>. Triklorometil (CCl<sub>3</sub>) akan bereaksi dengan oksigen membentuk triklorometil peroksil (CCl<sub>3</sub>O<sub>2</sub>) yang bersifat lebih reaktif. Triklorometil peroksil (CCl<sub>3</sub>O<sub>2</sub>) akan memisahkan atom hidrogen dari membran lipid yang kaya akan sumber *poly unsaturated fatty acid* (PUFA) sehingga memulai reaksi berantai peroksidasi lipid. Reaksi ini mengakibatkan dekomposisi oksidatif lemak dan peroksida organik

setelah bereaksi dengan oksigen. Reaksi ini bersifat autokatalitik, sehingga dekomposisi lemak dapat merusak struktur dan fungsi sel secara cepat. Nekrosis hepatosit akibat  $\text{CCl}_4$  memiliki efek yang lebih parah dalam waktu yang singkat. Nekrosis hepatosit yang diakibatkan oleh  $\text{CCl}_4$  bersifat merata pada seluruh lobulus hati (Kumar *et al.*, 2009; Maulina, 2019).

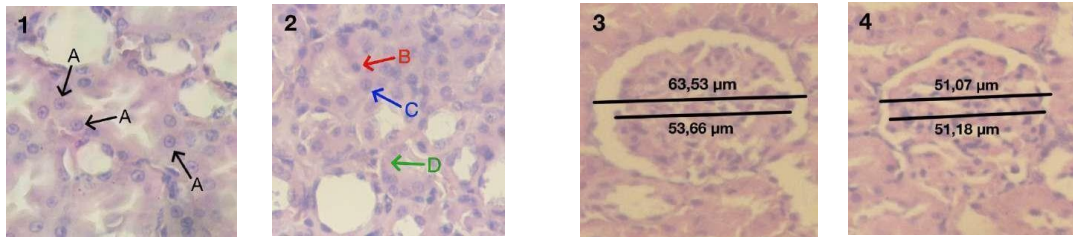
Nekrosis yang tampak pada kelompok perlakuan P2, P3, P4, dan P5 adalah piknosis, karioreksis, dan kariolisis. Efek yang disebabkan oleh  $\text{CCl}_4$  berlangsung terlalu cepat di dalam hati dibandingkan dengan efek glisin dari gelatin hidrolisat dalam menghambat cedera hati. Glisin melindungi struktur membran sel hepatosit dengan mencegah degradasi struktur fosfolipid membran. Hal ini terjadi karena glisin menekan produksi  $\text{TNF-}\alpha$  yang menginduksi nekrosis pada sel. Cara kerja  $\text{TNF-}\alpha$  dalam menginduksi nekrosis dimulai dari penguncian terhadap reseptor di permukaan membran sel dan diikuti aktivasi protein sekunder yang membuat sel mengalami kematian seperti apoptosis atau nekrosis. Sel kupffer adalah sel yang memproduksi  $\text{TNF-}\alpha$ . Glisin dari gelatin hidrolisat menghambat aktivasi sel kupffer saat terjadi kerusakan oleh zat toksik (Rose *et al.*, 1997; Stachlewitz *et al.*, 1999; Idriss dan Naismith, 2000; Senthilkumar *et al.*, 2003). Karbon tetraklorida ( $\text{CCl}_4$ ) dapat menyebabkan penurunan sintesis protein hati dalam waktu kurang dari 30 menit, serta menyebabkan pembengkakan pada RE halus dan pelepasan ribosom pada RE kasar dalam waktu dua jam (Kumar *et al.*, 2009). Menurut Campo *et al.* (2008), dosis  $\text{CCl}_4$  yang diberikan dalam penelitian ini adalah dosis hepatotoksik.

Dimater vena sentralis hati tikus setelah perlakuan menunjukkan bahwa kelompok P2 berbeda nyata dengan kelompok P1, P3, P4, dan P5. Kelompok P2 merupakan kontrol positif yang diberikan  $\text{CCl}_4$ , zat ini bersifat toksik sehingga vena sentralis dari kelompok P2 mengalami pelebaran. Pelebaran ini disebabkan oleh kongesti darah dalam vena centralis yang mengakibatkan dilatasi vena centralis (Wicaksono *et al.*, 2015). Darah datang dari sinusoid yang mengalami pelebaran akibat kerusakan hepatosit. Tingginya kadar  $\text{CCl}_4$  menyebabkan peningkatan penampungan darah pada sinusoid yang mengakibatkan kongesti pada vena sentralis (Madihah *et al.*, 2017; Putri *et al.*, 2019). Vena sentralis pada kelompok P3, P4, dan P5 mengalami pelebaran sama seperti kelompok P2, namun tidak melebihi kelompok P2. Hal ini disebabkan oleh kandungan glisin pada gelatin yang menghambat cedera anoksik dan memperlancar aliran darah dalam hati (Senthilkumar *et al.*, 2003; Sheth *et al.*, 2011).

### **3. Struktur Histologis Ginjal Tikus (*R. norvegicus*) setelah Pemberian Perlakuan**

Hasil pengamatan mikroskopik pada histologis ginjal tikus perlakuan menunjukkan bahwa terdapat nekrosis pada sel tubulus proksimal. Tubulus proksimal merupakan bagian ginjal yang paling rentan terhadap paparan zat toksik (Wahyuningsih *et al.*, 2016). Hal tersebut karena bagian ini menyalurkan darah yang belum difiltrasi oleh glomerulus. Tiga jenis nekrosis ditemukan pada semua perlakuan, yaitu piknosis, karioreksis, dan kariolisis. Adanya nekrosis disebabkan oleh  $\text{CCl}_4$  yang diberikan pada tikus (Panjaitan *et al.*, 2007) sedangkan pada diameter kapsula bowman tidak terdapat perbedaan nyata antar perlakuan. Berdasarkan penelitian Baraghithy *et al.* (2021), sel-sel pada tubulus proksimal memiliki reseptor  $\text{CB}_1\text{R}$  (*cannabinoid-1 receptor*) yang berfungsi mengatur proses remodeling tulang. Berdasarkan hal tersebut adanya nekrosis pada sel tubulus proksimal menyebabkan penurunan  $\text{CB}_1\text{R}$  sehingga

menyebabkan ketidakseimbangan homeostasis jaringan tulang khususnya ketidakseimbangan antara sel osteoklast dan sel osteoblast. Gambaran selengkapnya dapat dilihat di bawah ini.



Gambar 3. Histopatologis Ginjal Tikus dengan Mikroskop Cahaya Pewarna HE; (1) tubulus proksimal pada tikus kontrol A: sel tubulus proksimal normal [P; 400x]; (2) tubulus proksimal yang mengalami nekrosis B: piknosis, C: karioreksis, dan D: kariolisis [P; 400x]. (3) Glomerulus pada tikus kontrol [P; 200x]; (4) Glomerulus yang mengalami penyempitan [P; 200x].

Berdasarkan Hasil *One-way* ANOVA menunjukkan bahwa pemberian perlakuan berpengaruh nyata ( $\alpha < 0,05$ ) terhadap persentase nekrosis sel tubulus proksimal sebaliknya pada diameter kapsula bowman tidak berpengaruh. Hasil uji *Duncan* tampak pada table 2 di bawah ini.

Tabel 2. Persentase Nekrosis Sel Tubulus Proksimal dan Diameter kapsula bowman Ginjal Tikus (*R. novvergicus*) setelah Pemberian Perlakuan.

Perlakuan	Rata-rata % nekrosis*	Rata-rata (μm) diameter kapsula bowman*
P1 (Kontrol negatif larutan PDB 0,5 mL/g BB)	23,4 <sup>a</sup>	8,22
P2 (Kontrol positif CCl <sub>4</sub> 0,14 mL/g BB)	85,3 <sup>b</sup>	5,93
P3 (Gelatin hidrolisat 0,25 mL/g BB)	70,8 <sup>b</sup>	7,60
P4 (Gelatin hidrolisat 0,5 mL/g BB)	75,6 <sup>b</sup>	8,81
P5 (Gelatin hidrolisat 0,75 mL/g BB)	81,2 <sup>b</sup>	9,61

Keterangan: \* = Huruf yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan signifikansi yang berbeda nyata ( $\alpha 0,05$ ) berdasarkan uji *Duncan*

Hasil Uji *Duncan* menunjukkan bahwa kelompok P1 berbeda nyata dengan kelompok P2, P3, P4, dan P5, namun P2-P5 tidak berbeda nyata antar satu sama lain. Hal ini karena CCl<sub>4</sub> bersifat nefrotoksik. Induksi CCl<sub>4</sub> menyebabkan stress oksidatif terhadap ginjal lewat peroksidasi lipid dan protein. Peroksidasi lipid mengubah DNA mitokondria, mengganggu kestabilan membran sel, propagasi siklus stress oksidatif secara besar-besaran yang diikuti oleh peradangan. Proses metabolisme CCl<sub>4</sub> telah menyebabkan nekrosis pada ginjal. Karbon tetraklorida (CCl<sub>4</sub>) diubah oleh enzim sitokrom P450 menjadi CCl<sub>3</sub> atau triklorometil yang merupakan radikal bebas. Triklorometil (CCl<sub>3</sub>) bereaksi dengan oksigen dan menghasilkan triklorometil peroksil (CCl<sub>3</sub>O<sub>2</sub>) yang melepas atom hidrogen dari membran lipid yang kaya akan sumber *poly unsaturated fatty acid* (PUFA). Hal tersebut mengakibatkan reaksi berantai peroksidasi lipid yang menyebabkan dekomposisi oksidatif lemak dan peroksida organik setelah bereaksi dengan oksigen. Reaksi tersebut bersifat autokatalitik, sehingga kerusakan sel terjadi secara cepat. (Maulina, 2019; Sumbayak *et al.*, 2019).

Nekrosis yang terjadi merupakan nekrosis tubuler akut. Terdapat sel tubulus ginjal

yang mengalami piknosis, karioreksis, dan kariolisis. Profil nekrosis tubuler akut memperlihatkan adanya nekrosis segmen-segmen pendek tubulus, terutama pada tubulus proksimal. Hal ini karena sel tubulus sangat rentan terhadap anoksia (Sumbayak *et al.*, 2019). Kondisi tersebut, membutuhkan glisin (dapat diperoleh dari shank ayam kampung) untuk memberikan efek perlindungan terhadap sel tubulus proksimal. Glisin memiliki sifat sitoprotektif yang mampu memblokir jalur zat toksik terhadap membran sel (Miller *et al.*, 1994). Glisin memiliki efek kerja selama tiga jam pada tubulus proksimal sementara karbon tetraklorida (CCl<sub>4</sub>) menyebabkan pembengkakan pada RE halus dan pelepasan ribosom pada RE kasar dalam waktu dua jam (Miller *et al.*, 1994; Senthilkumar *et al.*, 2003; Kumar *et al.*, 2009).

Hasil *One-way* ANOVA menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan nyata antar kelompok perlakuan terhadap diameter kapsula bowman. Menurut Rohman *et al.* (2021) ukuran normal diameter kapsula bowman tikus antara 8-9  $\mu$ m. Pembengkakan sel glomerulus terjadi sebagai bentuk adaptasi seluler terhadap CCl<sub>4</sub> (Septiva *et al.*, 2019). Glisin mampu meningkatkan tingkat filtrasi glomerulus dengan cara vasodilatasi renal dan hiperfiltrasi. Faktor yang mempengaruhi kedua hal tersebut diduga berasal dari faktor humoral hati berupa cAMP (*Cyclic Adenosine Monophosphate*). Selain itu, metabolisme glisin oleh glomerulus juga diatur oleh beberapa zat dan hormon lainnya seperti nitrogen oksida, angiotensin II, dan endothelin-1. Peningkatan vasodilatasi renal dan hiperfiltrasi meningkatkan proses ekskresi, sehingga lebih banyak zat toksik yang terbuang secara cepattanpa meninggalkan kerusakan pada glomerulus (Thomsenet *et al.*, 2002).

## **PENUTUP**

Gelatin hidrolisat shank ayam kampung tidak menyebabkan kerusakan histologis hati dan ginjal tikus, akan tetapi gelatin hidrolisat mampu menghambat kerusakan histologis hati dan ginjal oleh zat toksik seperti CCl<sub>4</sub>. Pada penelitian ini Dosis 0,25 ml/g BB tikus menunjukkan hasil paling baik terhadap histologis hati dan ginjal tikus yang terdedah CCl<sub>4</sub>. Tidak terdapat efek akut dari gelatin shank ayam kampung. Hal ini terlihat dari perbedaan jumlah nekrosis dan diameter antara kelompok perlakuan CCl<sub>4</sub> dengan kelompok perlakuan gelatin hidrolisat.

Saran bagi penelitian selanjutnya adalah perlunya memperpanjang waktu pemberian gelatin hidrolisat shank ayam kampung sehingga efeknya terlihat terhadap hati dan ginjal tikus dalam jangka panjang karena CCl<sub>4</sub> bereaksi dalam jaringan hati dan ginjal lebih cepat dibandingkan dengan gelatin hidrolisat shank ayam.

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Hibah Riset Unpad yang telah mendanai penelitian ini.

## **REFERENSI**

- Almeida, P. F., Silva Lannes, S. C., Calarge, F. A., Brito Farias, T. M., & Santana, J. C. C. (2012). FTIR characterization of gelatin from chicken feet. *Journal of chemistry and chemical engineering*, 6(11): 1029- 1035.
- Amertaning, D., & Bachrudin, Z. J., Chin, KB, Erwanto, Y., 2019. Characteristics of gelatin extracted from indonesian local cattle hides using acid and base curing. *Pakistan J. Nutr*, 18: 443-454.



Andayani, S., Heny, S., & Ifatul, M. (2018). Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Kulit Buah Naga (*Hylocereus costaricensis*) terhadap Histopatologi Hati Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Terinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *J. Fisheries and Marine Research*, 3(2): 149-159

Baraghithy, S., Soae, Y., Assaf, D., Hinden, L., Udi, S., Drori, A. & Tam, J. (2021). Renal Proximal Tubule Cell Cannabinoid-1 Receptor Regulates Bone Remodeling and Mass via a Kidney-to-Bone Axis. *Cells*, 10(2): 414 - 419

Bonewald, L. F. (2004). Osteocyte biology: its implications for osteoporosis. *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions*, 4(1): 101- 105

Campo, G. M., Avenoso, A., Campo, S., Nastasi, G., Traina, P., D'ascola, A. & Calatroni, A. (2008). The antioxidant activity of chondroitin-4-sulphate, in carbon tetrachloride-induced acute hepatitis in mice, involves NF- $\kappa$ B and caspase activation. *British journal of pharmacology*, 155(6): 945-956

Chen, Y.L.H., Zhu, J. and Wu, K. 2017. Effects of Short-term Glucocorticoid Administration on Bone Mineral Density, Biomechanics and Microstructure in Rats Femur. *Hum Exp Toxicol* 36(3): 287-294

Ditjen Peternakan dan Kesehatan Hewan (DPKH) 2020 *Buku Statistik Peternakan dan Kesehatan Hewan*. Jakarta: DPKH. ISBN 978-9-796-28034-6.

FAO. 2020. *FAOSTAT DATABASE*. <http://www.fao.org/faostat/en/#home>. Diakses pada tanggal 8 Juni 2021.

Gómez-Guillén, M. C., Giménez, B., López-Caballero, M. A., & Montero, M. P. (2011). Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food hydrocolloids*, 25(8): 1813-1827

Gomez, K. A., & Gomez, A. A. (1995). *Prosedur Statistika untuk Penelitian Pertanian* edisi II (Penerjemah: Tohari dan Soedharoedjian). ISBN: 9794561398.

Herawati, F. 2013. Farmakologis Osteoporosis. *Buletin Rasional* 10(4): 30-33

Idriss, H. T., & Naismith, J. H. (2000). TNF $\alpha$  and the TNF receptor superfamily: Structure-function relationship (s). *Microscopy research and technique*, 50(3): 184-195

Ismail, H. (2020). *Potensi Gelatin Ceker Ayam Kampung (Gallus gallus domesticus) Sebagai Biomaterial Dalam Mencegah Osteoporosis*. Diambil dari: <https://repository.unpad.ac.id/frontdoor/index/index/year/2020/docId/9566>.

Kristiningrum, E. 2020. Farmakoterapi untuk Osteoporosis. *Cermin Dunia Kedokteran*.47 (5): 41-48.

Kumar, V., Abbas, AK., Fausto, N. 2009. *Adaptasi, cedera dan kematian sel, dalam Robbins and Cotran: dasar patologi penyakit*, 7<sup>th</sup> Ed, trans. BU Pendit, EGC, Jakarta

Kuntana, Y. P., Balia, R., & Hidayat, Y. A. (2016). The effects of carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) in inducing osteoporosis to white rats (*Rattus norvegicus*) judging

from the musculoskeletal tissue damage. *Lucrări Științifice-Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară, Seria Zootehnie*, 66: 161-165.

Madihah, M., Ratningsih, N., Malini, D. M., Faiza, A. H., & Iskandar, J. (2017, February). Acute toxicity test of ethanol extract of djenkols (*Archidendron pauciflorum*) fruit peel against female Wistar rat. In *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia* 3(1): 33-38

Maulina, M. (2019). *Pengaruh Pemberian Xanthone Terhadap Gambaran Nekrosis Sel Hepar Tikus Putih (Rattus norvegicus) Jantan Yang Diinduksi Karbon Tetraklorida (CCL4)*. Diambil dari: <http://ejournal.litbang.depkes.go.id/index.php/sel/article/view/4676>.

Meutia, M. (2018). *Zat Zat yang Mempengaruhi Histopatologi Hepar*. ISBN: 978-602-464-042-2.

Miller, G. W., Lock, E. A., & Schnellmann, R. G. (1994). Strychnine and glycine protect renal proximal tubules from various nephrotoxicants and act in the late phase of necrotic cell injury. *Toxicology and applied pharmacology*, 125(2): 192-197

Morovvati, H. and Armand, N. 2019. Assessment of Changes in Serum Concentrations of Liver Function (ALT, ALP, AST, LDH, GGT) after The Intake of Narcissus Bulbs. *JABS* 9(4): 1736- 1742

Oesser, S., Adam, M., Babel, W., & Seifert, J. (1999). Oral administration of <sup>14</sup>C labeled gelatin hydrolysate leads to an accumulation of radioactivity in cartilage of mice (C57/BL). *The Journal of nutrition*, 129(10): 1891-1895.

Pan, J.M., Wu, L.G., Cai, J.W., Wu, L.T. and Liang, M. 2019. Dexamethasone Suppresses Osteogenesis of Osteoblasts via The PI3K/Akt Signaling Pathway in vitro and in vivo. *Journal of Receptors and Signal Transduction* 39(1): 80-86

Panjaitan, R. G. P., Handharyani, E., Chairul, M., Zakiah, Z., & Manalu, W. (2007). Pengaruh pemberian karbon tetraklorida terhadap fungsi hati dan ginjal tikus. *Makara Kesehatan*, 11(1): 11-16.

Putri, R. P., Rousdy, D. W., Yanti, A. H., & Wardoyo, E. R. P. (2019). Aktivitas Hepatoprotektif Ekstrak Metanol Buah Lakum [*Cayratia trifolia* (L.) Domin] terhadap Hepatosit Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) yang Diinduksi Parasetamol. *Majalah Ilmiah Biologi BIOSFERA: A Scientific Journal*, 36(2): 71-78

Rias, Y.A. dan Sutikno, E. 2017. Hubungan antara Berat Badan dengan Kadar Gula Darah Acak pada Tikus Diabetes Mellitus. *Jurnal Wiyata* 4(1): 72-77

Rohman, J. H. F., Sunarno, S., Isdadiyanto, S., & Mardiaty, S. M. (2021). Efek Minuman Berenergi Terhadap Histopatologis Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Media Bina Ilmiah*, 15(7): 4835-4848.

Rojas, J., Castillo, M.C., Cabrera, M. and Bermudez, V. 2015. Glucocorticoid-induced Death of Pancreatic Beta Cells: An Organized Chaos. *JOP. J. Pancreas (on line)* 16(1): 11-19

Rose, M. L., Germolec, D., Arteel, G. E., Schoonhoven, R., & Thurman, R. G. (1997). Dietary glycine prevents increases in hepatocyte proliferation caused by the peroxisome proliferator WY-14,643. *Chemical research in toxicology*, 10(10): 1198-1204

Schrieber, R. and H. Gareis. 2007. *Gelatine Handbook Theory and Industrial Practice*. Weinheim. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA

Senthilkumar, R., Viswanathan, P., & Nalini, N. (2003). Glycine modulates hepatic lipid accumulation in alcohol-induced liver injury. *Pol J Pharmacol*, 55(4): 603-611.

Septiva, E.B., Sitaswi, A.J dan Isdadiyanto, S. 2019. Struktur mikroanatomi ginjal mencit (*Mus musculus* L.) betina setelah paparan ekstrak etanoldan mimba (*Azadirachta indica* A.juss). *Jurnal Pro-Life*. 6(2): 180-190.

Setiowati Anies dan Hadi. 2013. Pengaruh Suplementasi Protein terhadap Komposisi Tubuh pada Atlet. *Jurnal Media Ilmu Keolahragaan Indonesia* 3(2): 67-71

Shandra, R. C. (2016). *Dekolagenasi Limbah Tulang Paha Ayam Kampung (Gallus gallus domesticus) Oleh Natrium Hidroksida (NaOH) Untuk Penentuan Kadar Kalsium (Ca) dan Fosfat (PO4)* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar). Diambil dari <http://repositori.uin-alauddin.ac.id>

Sheth, H., Hafez, T., Glantzounis, G. K., Seifalian, A. M., Fuller, B., & Davidson, B. R. (2011). Glycine maintains mitochondrial activity and bile composition following warm liver ischemia-reperfusion injury. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 26(1): 194-200

Srilakshmi, V.S., Vijayan, P., Raj, P.V., Dhanaraj, S.A. and Chandrashekhar, H.R. 2010. Hepatoprotective Properties of *Caesalpinia sappan* Linn. Heartwood on Carbon Tetrachloride Induced Toxicity. *Indian Journal of Experimental Biology* 48(9): 905-910

Stachlewitz, R. F., Seabra, V., Bradford, B., Bradham, C. A., Rusyn, I., Germolec, D., & Thurman, R. G. (1999). Glycine and uridine prevent d- galactosamine hepatotoxicity in the rat: Role of kupffer cells. *Hepatology* 29(3): 737-745

Sumbayak, E. M., & Vebriyani, N. (2019). Pengaruh Pemberian Infusa Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) terhadap Gambaran Mikroskopik Ginjal Mencit yang Diinduksi CCl<sub>4</sub> (Karbon Tetraklorida). *Jurnal Kedokteran Meditek*, 25(1): 1-10.

Thomsen, K., Nielsen, C. B., & Flyvbjerg, A. (2002). Effects of glycine on glomerular filtration rate and segmental tubular handling of sodium in conscious rats. *Clinical and experimental pharmacology and physiology*, 29(5-6): 449-454.

Zdzieblik D., Jendricke P., Oesser S., Gollhofer A. and Konig D. 2021. The Influence of Specific Bioactive Collagen Peptides on Body Composition and Muscle Strength in Middle-aged, Untrained Men: A Randomized Controlled Trial.

*International Journal of Environmental Research and Public Health* 18 (4337): 1-15

Zhou, C., Li, Y., Yu, X., Yang, H., Ma, H., Yagoub, A. E. A. & Otu, P. N. Y.  
(2016). Extraction and characterization of chicken feet soluble collagen. *LWT*, 74.