(12) PATEN INDONESIA

(19) DIREKTORAT JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL

(11) IDS000005761 B

(45) 29 Maret 2023

(51) Klasifikasi IPC[8] : A 61K 9/00

(21) No. Permohonan Paten : S00202210127

(22) Tanggal Penerimaan: 20 September 2022

(30) Data Prioritas :

(43) Tanggal Pengumuman: 26 September 2022

(56) Dokumen Pembanding:
Santosa, Budi. "Turnitin IR-Bagendit Leaves Water Extract as Preventing Agent in Hematopoiesis, Degeneration and Necrosis in Kidney Tubulus of Lead-Exposed Rars." (2021).
Zulaikhah, Siti Thomas, and Joko Wahyu Wibowo. "Pengaruh Pemberian Air Kelapa Muda Terhadap Kadar Ureum Pada Tikus Galur Wistar Yang Terpapar Plumbum (Pb), 2 April 2020.*diacu dari penelusuran sendiri menggunakan basis data espacenet, google, google patent, google scholar, PDKI

(71) Nama dan Alamat yang Mengajukan Permohonan Paten :
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG (UNIMUS)
Jalan Kedungmundu Raya No. 18,
Semarang

(72) Nama Inventor :
Dr. Budi Santosa, M.Si.Med., ID
Dr. Sufiati Bintanah, M.Si., ID
Tulus Ariyadi, M.Si., ID

(74) Nama dan Alamat Konsultan Paten :

Pemeriksa Paten : Fauziah, S.Si.

Jumlah Klaim : 5

(54) Judul Invensi : KOMBINASI INFUSA AIR DAUN PADI IR BAGENDIT DENGAN AIR KELAPA MUDA SEBAGAI AGEN PENGKHELAT DAN ANTIOKSIDAN UNTUK PREVENSI KERUSAKAN SEL TUBULUS

(57) Abstrak :

Invensi ini mengenai kombinasi infusa air daun padi IR Bagendit dengan air kelapa muda sebagai bahan pengkhelat dan antioksidan dari paparan merkuri. Daun padi IR Bagendit dibuat infusa dan diperiksa kadar *metallothionein* sebagai bahan pengkhelat dan air kelapa muda sebagai bahan antioksidan.

Infusa air daun padi IR Bagendit memiliki kadar *metallothionein* tertinggi dari lokasi Blora diberikan dengan volume 0,2 ml, 0,4 ml, dan 0,8 ml, air kelapa muda dengan volume 4 ml/100 gr BB. Paparan Merkuri diberikan 20 mg/kg BB per hari.

Kombinasi infusa air daun padi dengan air kelapa muda di invensi ini mampu menurunkan *Reactive oxygen species(*ROS), *Malondialdehid* (MDA), meningkatkan *transforming growth factor* (TGF-β, menurunkan sel degeneratif, dan menurunkan sel nekrosis tubulus proksimal ginjal dari paparan Merkuri.

Deskripsi

KOMBINASI INFUSA AIR DAUN PADI IR BAGENDIT DENGAN AIR KELAPA MUDA SEBAGAI AGEN PENGKHELAT DAN ANTIOKSIDAN UNTUK PREVENSI KERUSAKAN SEL TUBULUS

Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berhubungan dengan kombinasi infusa air daun padi IR Bagendit dan air kelapa muda sebagai bahan herbal untuk prevensi kerusakan sel tubulus proksimal ginjal, khususnya setelah paparan merkuri.

Latar Belakang Invensi

Tubulus ginjal berfungsi untuk reabsorpsi zat-zat yang masih dibutuhkan oleh tubuh. Kerusakan sel-sel tublus ginjal dapat disebabkan karena paparan merkuri. Pengobatan akibat toksisitas merkuri menggunakan zat pengkhelat diberikan pada tahap awal pengobatan. Bahan pengkhelat tersebut berfungsi untuk mengikat Hg membentuk ikatan kompleks yang bersifat polar (*hidrofilik*) dan dikeluarkan dari tubuh melalui ginjal. Beberapa bahan pengkhelat yang biasa digunakan antara lain *dimerkaptosuksinat* (DMSA), *dimerkaprol* (BAL) ataupun d-*penisilamin* (DPCN). Bahan-bahan tersebut bersifat terapis dan memiliki efek samping diantaranya adalah mual-mual.

Pencarian bahan pengkhelat dan antioksidan dari bahan alam dan tumbuhan terus dilakukan sebagai prevensi kerusakan sel tubulus proksimal ginjal, selain mudah didapat juga harganya murah. Bahan alam yang berasal dari tumbuhan memiliki efek samping yang kecil sehingga relatif aman jika dibandingkan obat-obatan sintesis. Bahan alam yang berasal dari tumbuhan memeiliki potensi sebagai bahan pengkhelat dan kaya antioksidan sebagai dasar dalam *engemangan* obat-obatan.

Invensi yang berkaitan dengan bahan pengkhelat telah dilakukan pada ajuan paten sebelumnya dengan no pendaftaran S00201701232 tentang *Formulasi Konsorsium Bakteri Indigen Pengkelat Logam Berat kadmium (Cd) sebagai Starter Pengolahan Limbah Cair Industri Pengolahan Pangan*. Publikasi penelitian pada jurnal *Food Chem* 10(1):1616-1625 dengan judul *Uji Aktivitas Mengkelat Logam dari Ekstrak Etanol Bekatul Beras Hitam dengan Metode Ferrous Ion Chelating (FIC)*(Coky, N. W. C,*et al*). Ajuan paten dan penelitian sebelumnya tidak membahas bagaimana kandungan bahan alam yang mengandung protein *metallothionein* yang dikombinasikan dengan air kelapa. Invensi dan penelitian yang diajukan ini terkait aplikasi dari temuan terhadap kandungan protein *metallothionein* yang kadarnya tertinggi dari infusa daun padi IR Bagendit lokasi Blora dan air kelapa muda yang kaya antioksidan. Infusa air daun padi memiliki kandungan protein *metallothionein* sebagai bahan pengkhelat terhadap logam berat, air kelapa kaya kandungan antiokasidan. Protein *metallothionein* memiliki banyak gugus sulfhidril yang berfungsi mengikat merkuri. Paparan merkuri juga bersifat oksidan sehingga air kelapa yang kaya antioksidan bila dikombinasikan dengan infusa daun padi IR Bagendit berpotensi menjadi prevensi kerusakan sel-sel tubulus proksimal ginjal.

Invensi yang diajukan adalah kombinasi infusa air daun padi IR Bagendit dengan air kelapa muda sebagai bahan prevensi kerusakan sel-sel tubulus proksimal ginjal akibat paparan merkuri.

Uraian Singkat Invensi

Invensi ini terkait dengan kombinasi infusa air daun padi IR Bagendit dengan air kelapa muda untuk digunakan sebagai bahan preventif kerusakan sel-sel tubulus proksimal ginjal pada paparan merkuri. Tujuan dari invensi ini adalah untuk

mengatasi permasalahan yang telah ada sebelumnya khususnya mendapatkan bahan prevensi kerusakan sel-sel tubulus ginjal berupa bahan herbal dari daun padi IR Bagendi dan air kelapa. Invensi ini mengenai kombinasi infusa air daun padi IR Bagendit dengan volume 0,2 ml, 0,4ml, dan 0,8 ml dengan kelapa muda dosis 4 ml/100 Gram BB.

Uraian Lengkap Invensi

Sebagaimana yang telah dikemukakan pada latar belakang invensi bahwa kombinasi infusa daun padi IR Bagendit sebagai bahan pengkhelat dengan air kelapa muda sebagai antioksidan dapat digunakan sebagai bahan alternatif mencegah toksisitas merkuri khususnya sebagai prevensi kerusakan sel-sel tubulus proksimal ginjal. Hal ini sesuai dengan pengujian yang dilakukan pada tikus *Rattus nurvegicus* dipajan merkuri klorida dan diberi kombinasi infusa air daun padi IR Bagendit dengan air kelapa muda. infusa air daun padi IR Bagendit dengan volume 0,2 ml, 0,4ml, dan 0,8 ml dengan kelapa muda dosis 4 ml/100 Gram BB. Pajanan merkuri sebesar 20 mg/kg BB per hari selama 1 bulan.

Invensi ini berhubungan dengan kombinasi infusa air daun padi IR Bagendit dengan air kelapa muda sebagai bahan untuk prevensi kerusakan sel-sel tubulus proksimal ginjal melalui mekanisme khelating dan antiokasidan. Metode infusa daun padi dilakukan dengan cara 100 gram dalam 1 liter aquades dan dipanaskan pada suhu 80^0C. infusa yang diperoleh diperiksa kadar protein *metallothionein* dengan metode ELISA. Dalam 100 ul infusa diperoleh kandungan *metallothionein* 380,636 ng/L asal Blora, 252,189 ng/L asal Weleri, 121,748 ng/L asal Batang, 28,832 ng/L asal Boja. Secara molekular kandungan *metallothionein* sudah dibuktikan dengan melihat letak gen nya berdasarkan *National Center for Biotechnology Information* (NCBI. Posisi gen terletak pada kromosom 3 tepatnya pada 130432

bp/locus_tag=OSINBa0003G23.9”/note=”putative *stress-induce protein*. Notasi gen *metallothionein* pada padi hasil sekuensing locus_tag="OSJNBa0003G23.9" *similar to stress-inducible protein STI* GB:CAA56165 GI:872116 [Glycine max]. codon_start=1. Product="*putative stress-inducible protein.* Gen *metallothionein* terletak pada kromosom 3 yang memiliki fungsi sebagai protein yang terinduksi dengan adanya tekanan lingkungan seperti adanya cemaran logam.

Air kelapa muda banyak antioksidan yang berperan dalam menangkal radikal bebas, menurunkan stres oksidatif yang ditimbulkan oleh logam merkuri. Kombinasi air daun padi IR Bagendit dengan air kelapa muda dilakukan pengajuan keamanan secara toksisitas kronis menggunakan tikus dengan dosis infusa 0,2 ml, 0,4 ml, dan o,8 ml. parameter yang diamati adalah aktivitas motorik/perilaku ketoksikan. Hasil uji tidak menunjukkan tanda-tanda ketoksikan, yang artinya dosis tersebut aman.

Pengujian dilakukan pada tikus *Rattus nurvegicus* yang dibagi dalam 5 kelompok yang masing-masing 6 ekor tikus. Kelompok 1 merupakan kelompok kontrol negatif yang tidak diintervensi, kelompok 2 merupakan kelompok kontrol positif yang diintervensi dengan penambahan $HgCl_2$ dengan dosis 20 mg/kg BB per hari. Ekstrak air daun padi IR Bagendit lokasi Blora diberikan pada kelompok perlakuan 1 (T1), 2 (T2), dan 3(T3) secara berturut-turut sebanyak 0,2 ml, 0,4 ml, dan 0,8 ml dan dikombinasi dengan pemberian air kelapa masing-masing kelompok perlakuan sebanyak 4 ml/100 gr BB, pada semua kelompok perlakuan dipajan merkuri kloorida 20 mg/kg BB per hari. Kadar MDA, ROS, dan TGF-β diperiksa menggunakan metode ELISA, sel-sel tubulus menggunakan pengecatan *Hematoxilin Eosin*.

Hasil uji laboratorium menunjukkan sebelum dan sesudah perlakuan, data selisih BB kelompok perlakuan 1,perlakuan 2 dan perlakuan 3 lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol

positif dan hampir mendekati kelompok kontrol negatif. Kadar MDA dan ROS pada kelompok perlakuan 1 sampai 3 dan kelompok kontrol negatif lebih rendah bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan terdapat perbedaan yang siknifikan (p value:0,01). Kadar TGF-β memiliki rerata tertinggi pada kelompok perlakuan 3, disusul kelompok perlakuan 2, 1 dan terendah pada kelompok kontrol positif, terdapat perbedaan siknifikan (p *value* 0,01. Pada morfologi sel ginjal dapat diamati jumlah sel normal, degenerasi, dan nekrosis pada tubulus proksimal ginjal. Rerata sel normal terendah diperoleh pada kelompok kontrol positif dan tertinggi pada kelompok kontrol negatif, pada perlakuan 1, 2, dan 3 lebih tinggi bila dinading kelompok kontrol positif. Rerata sel degenerasi lebih tinggi pada kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol negatif. Rerata sel nekrosis ditemukan paling tinggi pada kelompok kontrol positif, menurun pada kelompok perlakuan 1, 2, 3, dan kelompok perlakuan negatif. Rerata kelompok kontrol maupun perakuan berbeda siknifikan dengan nilai p 0,001. Gambaran hasil histopatologi ginjal terlihat pada kelompok kontrol positif banyak dijumpai sel-sel degenerasi dan nekrosis, sel normal banyak dijumpai pada kelompok kontrol negatif dan perlakuan 1, 2, dan 3. Gambaran seluruh variabel (MDA, ROS, TGF-β, sel normal, degenerasi, nekrosis, ureum, kreatinin) menunjukkan keterkaitan pada kelompok kontrol negatif, positif, perlakuan 1, 2, dan 3. Rerata kadar ureum dan kreatinin tidak terdapat perbedaan, jika dilihat dari rerata tersebut angkanya relatif sama dan masih dalam batas normal.

Klaim

1. Kombinasi yang terdiri dari infusa air daun padi IR Bagendit dan air kelapa muda untuk digunakan sebagai bahan preventif kerusakan sel-sel tubulus proksimal ginjal.

2. Kombinasi menurut klaim 1, dimana kerusakan sel-sel tubulus proksimal ginjal terjadi akibat paparan merkuri.

3. Kombinasi menurut klaim 1, dimana kerusakan sel tubulus proksimal ginjal ditandai dengan terjadinya degenarasi sel dan nekrosis sel pada tobulus proksimal ginjal.

4. Kombinasi menurut klaim 1, dimana infusa air tersebut memiliki kadar *metallothionein* 380,636 ng/L.

5. Kombinasi menurut klaim 1, dimana infusa air tersebut dibuat dengan cara 100 gram dalam 1 liter aquades dan dipanaskan pada suhu 80^0C.

Abstrak

KOMBINASI INFUSA AIR DAUN PADI IR BAGENDIT DENGAN AIR KELAPA MUDA SEBAGAI AGEN PENGKHELAT DAN ANTIOKSIDAN UNTUK PREVENSI KERUSAKAN SEL TUBULUS

Invensi ini mengenai kombinasi infusa air daun padi IR Bagendit dengan air kelapa muda sebagai bahan pengkhelat dan antioksidan dari paparan merkuri. Daun padi IR Bagendit dibuat infusa dan diperiksa kadar m*etallothionein* sebagai bahan pengkhelat dan air kelapa muda sebagai bahan antioksidan.

Infusa air daun padi IR Bagendit memiliki kadar *metallothionein* tertinggi dari lokasi Blora diberikan dengan volume 0,2 ml, 0,4 ml, dan 0,8 ml, air kelapa muda dengan volume 4 ml/100 gr BB. Paparan Merkuri diberikan 20 mg/kg BB per hari.

Kombinasi infusa air daun padi dengan air kelapa muda di invensi ini mampu menurunkan *Reactive oxygen species*(ROS), *Malondialdehid* (MDA), meningkatkan *transforming growth factor* (TGF-β, menurunkan sel degeneratif, dan menurunkan sel nekrosis tubulus proksimal ginjal dari paparan Merkuri.